

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review

Научно-практический журнал

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



№ 6 (165), 2020

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Х.Х. Хамидулина СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА	2
М.П. Сутункова, С.Н. Соловьёва, И.Н. Чернышов, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина, И.В. Зубарев, Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон ПРОЯВЛЕНИЯ ПОДОСТРОЙ СИСТЕМНОЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА СВИНЦА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ КРЫС	3
Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Г.В. Тимашева, Н.Ю. Хуснутдинова, Л.А. Мусина, А.Р. Гимадиева, С.С. Байгильдин, Д.А. Смолянкин, Я.В. Валова ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА В КОМБИНАЦИИ С ИЗВЕСТНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ (МЕКСИДОЛ, ТОНАРОЛ, АЦЕТИЛЦИСТЕИН)	14
Х.Х. Хамидулина, А.С. Радилов, С.А. Дулов, А.В. Земляной, П.П. Бельтюков, Е.В. Вивуланец, С.А. Кучерской, М.Ф. Шишонок, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина, А.Р. Егязарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева, Е.А. Ринчиндоржиева, Д.Н. Рабикова, С.А. Швыкина ПЕРЕСМОТР ПДК В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ	21
М.М. Зиатдинова, Т.Г. Якупова, Я.В. Валова, Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, Л.Ш. Назарова, Д.А. Смолянкин АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ MT2A И MT3 В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС В ОТВЕТ НА ОТРАВЛЕНИЕ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ	38
Ю.Ю. Бяловский, И.С. Ракитина РОЛЬ ЧАСТОТЫ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ В ПЕРЕНОСИМОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ	43
□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ	
А.Н. Стуков, С.Ф. Вершинина, Н.Н. Харитоновна, Л.В. Филатова, Д.Х. Латипова, М.Л. Тындык, Ю.Г. Змитриченко, А.Л. Семенов, В.Г. Беспалов, Т.Ю. Семиглазова ОТЕЧЕСТВЕННОЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СОЕДИНЕНИЕ 2-[3-(2-ХЛОРЕТИЛ)-3-НИТРОЗОУРЕИДО]-1,3-ПРОПАДИОЛ (ХЛОНИЗОЛ). ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ	49
М.И. Голубева, М.В. Бидевкина, И.А. Бобринева, И.Н. Разумная, Э.А. Федорова, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, И.А. Пожарнов ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ КВЕТИАПИНА ФУМАРАТА	54
К.Т. Еримбетов, Р.А. Земляной, Е.В. Бондаренко, А.Я. Гончарова ТОКСИЧНОСТЬ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ АКТИВНОГО КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 3-(2- ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С β-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ	59
□ Перечень публикаций, помещенных в журнале «Токсикологический вестник» в 2020 году	63

Kh.Kh. Khamidulina FROM THE EDITOR-IN-CHIEF	2
M.P. Sutunkova, S.N. Solovyeva, I.N. Chernyshov, S.V. Klinova, V.B. Gurvich, V.Ya. Shur, E.V. Shishkina, I.V. Zubarev, L.I. Privalova, B.A. Katsnelson MANIFESTATIONS OF SUBACUTE SYSTEMIC TOXICITY OF LEAD OXIDE NANOPARTICLES IN RATS AFTER AN INHALATION EXPOSURE	3
E.F. Repina, D.O. Karimov, G.V. Timasheva, N.Yu. Khusnutdinova, L.A. Musina, A.R. Gimadieva, S.S. Baigildin, D.A. Smolyankin, Ya.V.Valova EXPERIMENTAL EVALUATION OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF OXYMETHYLURACIL IN COMBINATION WITH KNOWN MEDICINES (MEXIDOL, TONAROL, ACETYLCYSTEINE)	14
Kh.Kh. Khamidulina, A.S. Radilov, S.A. Dulov, A.V. Zemlyanoy, P.P. Beltyukov, E.V. Vivulanets, S.A. Kucherskoy, M.F. Shishonok, E.V. Tarasova, A.S. Proskurina, A.R. Egiazaryan, I.V. Zamkova, E.V. Dorofeeva, E.A. Rinchindorzhiyeva, D.N. Rabikova, S.A. Shvykina REVISION OF MAC IN THE AIR OF THE WORKING AREA OF TEREPHTHALIC ACID	21
M.M. Ziatdinova, T.G. Yakupova, Ya.V. Valova, G.F. Mukhammadieva, D.O. Karimov, L.Sh. Nazarova, D.A. Smolyankin ANALYSIS OF MT2A AND MT3 GENE EXPRESSION IN RAT'S LIVER AND KIDNEY IN RESPONSE TO CADMIUM CHLORIDE POISONING	38
Yu.Yu. Byalovsky, I.S. Rakitina ROLE OF RESPIRATORY RATE IN THE TOLERABILITY OF PERSONAL RESPIRATORY PROTECTION EQUIPMENT	43
□ News on toxicity and hazard of chemical and biological substances	
A.N. Stukov, S.F. Vershinina, N.N. Kharitonova, L.V. Filatova, D.Kh. Latipova, M.L. Tyndyk, Yu.G. Zmitrichenko, A.L. Semenov, V.G. Bepalov, T.Yu. Semiglazova DOMESTIC ANTITUMOR COMPOUND 2-[3-(2-CHLOROETHYL)- 3-NITROZOUREIDO]-1,3-PROPANEDIOL (CHLONISOL). ACUTE TOXICITY	49
M.I. Golubeva, M.V. Bidevkina, I.A. Bobrineva, I.N. Razumnaya, E.A. Fedorova, A.Yu. Savchenko, G.V. Ramenskaya, I.A. Pozharnov EXPERIMENTAL STUDY OF THE TOXICITY AND HAZARD OF QUETIAPINE FUMARATE	54
K.T. Erimbetov, R.A. Zemlyanoy, E.K. Bondarenko, A.Ya. Goncharova TOXICITY UNDER A SINGLE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF THE ACTIVE CLATHRATE COMPLEX OF β-CYCLODEXTRIN WITH 3-(2-PHENYLETHYL)-2-THIOXO-1,3-THIAZOLIDIN- 4-ONE	59
□ List of writing published in «Toxicological Review» in 2020	63

Дорогие коллеги!

*Не простым сложился 2020 год для мира,
для медицины, для каждого из нас.*

*С радостью его провотая, надеемся,
что Новый 2021 год будет удачным,
принесет надежду, счастье в каждый дом.*

*Желаем Вам и Вашим близким здоровья,
оптимизма, любви, успехов во всех сферах:
личной жизни, творчестве, науке!*

С Новым годом!

*Редакция журнала
«Токсикологический вестник»*



УДК 546.817-31:615.099

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-3-13

ПРОЯВЛЕНИЯ ПОДОСТРОЙ СИСТЕМНОЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА СВИНЦА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ КРЫС

М.П. Сутункова¹, С.Н. Соловьёва¹,
И.Н. Чернышов¹, С.В. Клинова¹,
В.Б. Гурвич¹, В.Я. Шур², Е.В. Шишкина²,
И.В. Зубарев², Л.И. Привалова¹,
Б.А. Кацнельсон¹

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

²Институт естественных наук и математики, ФГАОУ ВО «Уральский Федеральный Университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, Екатеринбург, Российская Федерация

Белые аутбредные крысы-самки подвергались воздействию аэрозоля наночастиц оксида свинца в ингаляционной установке типа «только нос» при средней концентрации $1,30 \pm 0,10$ мг / м³ на протяжении 5 дней по 4 часа в день. Контрольную группу крыс параллельно подвергали псевдо-экспозиции в аналогичных условиях. Была обнаружена задержка наночастиц в легких и обонятельных луковицах головного мозга, продемонстрированная с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Был выявлен ряд нарушений состояния организма в группе, подвергшейся воздействию, некоторые из которых можно считать показателями токсического действия, специфичными для свинца (увеличение доли ретикулоцитов, экскреции мочи с δ -аминолевулиновой кислотой), а другие – результатом проникновения наночастиц в мозг минуя гематоэнцефалический барьер (демиелинизация аксонов, вакуолизация цитоплазмы нейронов).

Ключевые слова: наночастицы, оксид свинца, ингаляционная экспозиция, токсичность.

Цит: М.П. Сутункова, С.Н. Соловьёва, И.Н. Чернышов, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина, И.В. Зубарев, Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон. Проявления подострой системной токсичности наночастиц оксида свинца при ингаляционной экспозиции крыс. Токсикологический вестник. 2020; 6:3-13

Введение. Специально производимые (engineered) наночастицы оксида свинца (PbO-НЧ) широко используются в различных технических целях. Однако с точки зрения оценки риска для здоровья человека ещё более важным является

загрязнение рабочей зоны и атмосферного воздуха субмикронными аэрозолями конденсации свинецсодержащих частиц, в том числе, наноразмерных, на предприятиях свинцового и медеплавильного производства и при других технологи-

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), доктор медицинских наук, директор ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, marinasutunkova@yandex.ru

Соловьёва Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolaevna), научный сотрудник лаборатории токсикологии среды обитания ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, solovyevasn@ymrc.ru

Чернышов Иван Николаевич (Chernyshov Ivan Nikolaevich), младший научный сотрудник лаборатории токсикологии среды обитания ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, chernyshov@ymrc.ru

Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna), научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, klinova.svetlana@gmail.com

Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), доктор медицинских наук, научный руководитель центра ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, gurvich@ymrc.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», vladimir.shur@urfu.ru

Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna), кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

Зубарев Илья Владимирович (Zubarev Ilya Vladimirovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», ilyamitozubarev@gmail.com

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией научных основ биологической профилактики отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, Privalova@ymrc.ru

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Alexandrovich), доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, и.о. зав. отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, bkaznelson@etel.ru

ческих процессах, связанных с расплавленным свинцом или его сплавами [1].

Это делает необходимым экспериментальную оценку токсичности PbO-НЧ при ингаляционных экспозициях. Однако нам известно только одно подобное исследование, которое было опубликовано в 2017 году группой чешских исследователей [2]. Оно было проведено на белых лабораторных мышах линии ICR в ингаляционной камере типа «всё тело». Аэрозоль оксида свинца, который генерировался в ходе экспозиции, имел средний размер частиц 25,9 нм (в диапазоне 8-230 нм) при средней концентрации 121,7 мкм/м³. После завершения 6-недельной экспозиции было измерено содержания свинца в органах и тканях с визуализацией отложения НЧ и описаны патологические изменения в них, на основании был сделан вывод, что «субхроническое воздействие наночастиц оксида свинца оказывает глубокое негативное воздействие как на клеточном, так и на тканевом уровнях». Особо были отмечены изменения в гиппокампе, связанные с проникновением НЧ в мозг из носа, как одного из основных мест их отложения при ингаляции. Такое воздействие различных наночастиц на мозг было обнаружено в ряде других исследований [3-5], в том числе, и наших собственных [6-8].

Однако хорошо известно, что при ингаляционных экспериментах с камерами типа «всё тело» частицы попадают также на шерсть животных и при терморегуляторном самооблизывании оказываются в желудочно-кишечном тракте. Поэтому при подобной экспозиции нет уверенности в том, что те или иные изменения в организме произошли именно в результате ингаляции. Следует также отметить, что чешские исследователи в своём эксперименте не рассматривали какие-либо функциональные или биохимические показатели токсичности.

Нет сомнений, что токсичность PbO-НЧ проявляется на всех биологических уровнях – от субклеточного до системного. Это было продемонстрировано в частности *in vivo* при субхронической интоксикации, вызванной многократными внутрибрюшинными введениями наносuspензии PbO [9], и *in vitro* при добавлении этой наносuspензии в инкубационную среду культуры фибробластоподобных клеток [10]. Однако риск ингаляционного отравления свинцом настолько важен для медицины труда в вышеозначенных промышленных условиях, что он должен быть решен с помощью адекватного экспериментального изучения, а не умозрительно.

Первым нашим шагом в этом направлении стал эксперимент, в котором крысы подвергались воздействию аэрозоля НЧ оксида свинца в концентрации примерно в 10 раз выше, чем в упомянутом эксперименте [2]. В отличие от послед-

него, наш эксперимент имел продолжительность всего пять дней с ежедневным воздействием, которое было относительно коротким, поскольку животные размещались в так называемых рестрейнерах (пеналах, ограничивающих подвижность) ингаляционной установки типа «только нос» (рис. 1). Этот недостаток компенсируется тем преимуществом таких установок, что они исключают возможность проникновения наночастиц в организм другими путями, кроме ингаляционного, и связанную с этим неопределённость причинно-следственных связей между собственно ингаляционной экспозицией и токсическими эффектами.

Цель работы – оценить развитие признаков свинцовой интоксикации в эксперименте при низких и кратковременных ингаляционных воздействиях наночастиц PbO.

Материалы и методы исследования. Наноаэрозоль оксида свинца был получен с помощью генератора наночастиц DNP-3000 (PALAS, Германия), принцип работы которого заключается в прохождении искрового разряда в среде азота между двумя стержнями из химически чистого (99,9999%) свинца (производство ООО «Гирмет», Москва). Далее поток азота с наночастицами свинца смешивается с воздухом, а результате чего охлаждается с окислением до PbO. Такой аэрозоль и подавался в «башню» ингаляционной установки типа «только нос» (CH Technologies, USA), где крысы размещались в индивидуальных рестрейнерах.

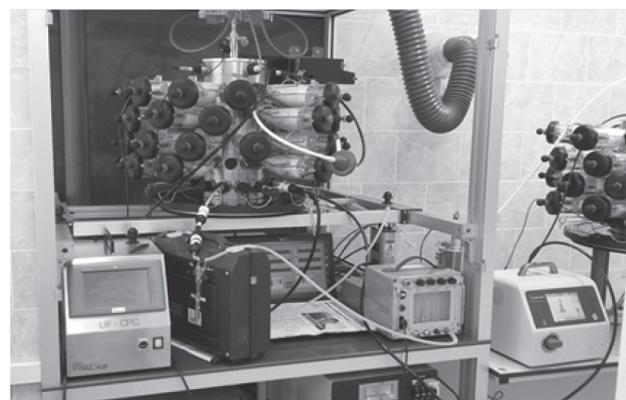


Рис. 1. Ингаляционная установка системы «только нос». Фото со снятыми дверцами. Справа – «башня» для псевдо-экспозиции контрольной группы.

Аналогичная «башня», но с подачей только воздуха, была использована для помещения в аналогичные рестрейнеры крысы контрольной группы (псевдо-экспозиция).

Частицы, собранные на фильтры в зоне дыхания крыс и исследованные методом сканиру-

ющей электронной микроскопии, имели сферическую форму, представляя собой отдельные частицы, либо небольшие агрегаты (рис. 2). Последние, если они были компактные, измерялись как одна частица.

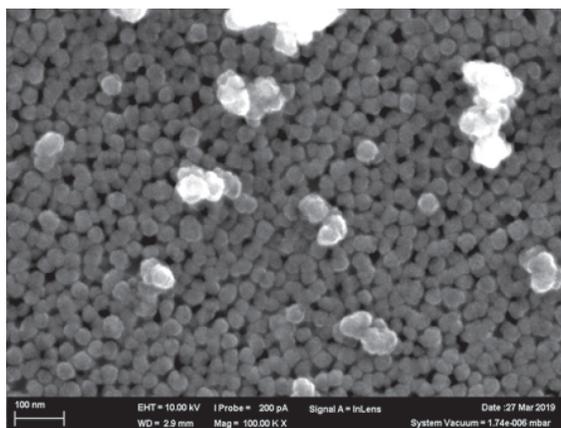


Рис. 2. Наночастицы, отобранные в ингаляционной камере на мембранный фильтр с диаметром ячеек 20 нм. Сканирующая электронная микроскопия, увеличение $\times 100\,000$.

По результатам измерения распределение частиц по размерам было ограничено нанометровым диапазоном со средним диаметром 36 ± 4 нм (рис. 3).

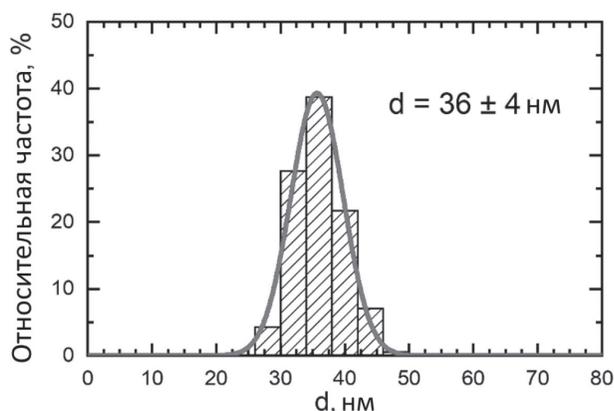


Рис. 3. Функция распределения размеров частиц и их агрегатов, полученная после статистической обработки 360 микроснимков фильтров, располагавшихся в зоне дыхания крыс.

Химический состав частиц, отобранных на один из фильтров, был исследован методом Рамановской спектроскопии, и показал два пика волн: 82 и 147 см^{-1} , которые, согласно [11] соответствуют оксиду свинца.

Эксперимент был проведен на 28 аутбредных белых крысах-самках собственного разведения с исходной массой тела $251,79 \pm 1,54$ г в экспониро-

ванной и $251,43 \pm 2,19$ г в контрольной группе (начальный возраст около 5 мес.), содержащихся в отдельном виварии при температуре воздуха $20\text{--}22^\circ\text{C}$, относительной влажности $50\text{--}60\%$ и естественном световом режиме и получавших стандартный сбалансированный корм и чистую воду. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «International guiding principles for biomedical research involving animals», разработанными the Council for International Organizations of Medical Sciences, 1985), с одобрения биоэтической комиссии ФБУН ЕМНЦ ПО-ЗРПП.

После предварительной тренировки крысы были подвергнуты ингаляционной экспозиции в течение 5 дней, по 4 часа каждый день. В течение каждого дня экспозиции из ингаляционной камеры отбирались пробы аэрозоля НЧ на фильтры. Отбор проб проводился в течение 4 часов параллельно с экспонированием крыс. Массовая доля свинца определялась с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии и пересчитывалась в концентрацию в $\text{мг}/\text{м}^3$. Средняя концентрация РbО-НЧ в зоне дыхания крысы составила $1,30 \pm 0,10$ $\text{мг}/\text{м}^3$.

После завершающей экспозиции исследовались поведенческие реакции: суммационный пороговый показатель, число перемещений и заглядываний в «норки» на «открытом поле»; а также исследования сердечно-сосудистой системы: произведены регистрация электрокардиограммы (ecgTUNNEL system «emka TECHNOLOGIES», Франция) и измерение параметров артериального давления у крыс (Blood pressure system CODA-NT8, «Kent Scientific», США).

Перед выведением из эксперимента крысы были помещены в метаболические клетки для сбора мочи и определения суточного диуреза.

7 из 14 крыс в каждой группе были отобраны для получения жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) под гексеналовым наркозом. Аликвотные пробы БАЛЖ были отобраны для определения общей клеточности меланжерным способом. После центрифугирования из клеточного осадка БАЛЖ были приготовлены наливные мазки, которые высушивались и окрашивались для последующего микроскопирования и определения клеточного состава, а из супернатанта (надосадочной жидкости, НОЖ), были отобраны образцы для биохимического анализа на общий белок, щелочную фосфатазу, аминотрансферазы (АСТ, АЛТ), глутамин-транспептидазу, амилазу, глюкозу, лактатдегидрогеназу, общий кальций.

Оставшиеся 7 крыс из каждой группы были умерщвлены методом цервикальной дислокации, перед которой был произведен сбор крови из хво-

стовой вены для проведения общего клинического анализа крови, а также определения содержания в ней глюкозы, общего белка и его фракций, щелочной фосфатазы, аминотрансфераз (АСТ, АЛТ), глутаминтранспептидазы, амилазы, лактатдегидрогеназы, кальция и ряда кардиомаркеров (миоглобина, тропонина, натрийуретического пептида, эндотелина и фактора роста сосудистого эндотелия). Были приготовлены также мазки костного мозга для подсчёта микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга.

Образцы обонятельных луковиц головного мозга и лёгочной ткани были отобраны на электронную микроскопию.

Результаты и обсуждение. Ранее в наших экспериментах было продемонстрировано, что отложение наночастиц в легких в результате интратрахеального введения [12–15] или ингаляционного воздействия [6–8] вызывает реакцию глубоких дыхательных путей, которая по существу аналогична, но намного более интенсивна, чем вызванная аналогичным воздействием малорастворимых микрометровых частиц с высокой цитотоксичностью, например, кварцевой пыли [16, 17]. Этот ответ проявляется в увеличении клеточности БАЛЖ, главным образом, за счет нейтрофильных лейкоцитов (НЛ). Увеличение содержания белка, некоторых ферментов (особенно лизосомального или частично лизосомального происхождения) и ряда других биохимических компонентов внеклеточной фракции БАЛЖ также свидетельствует о легочной токсичности частиц.

Как следует из результатов, представленных в таблицах 1 и 2, всё это в той или иной степени наблюдается и в данном эксперименте. Хотя отличия от соответствующих показателей БАЛЖ в контрольной группе, не были статистически значимыми, согласованность сдвига разных показателей позволяет считать его реальным эффектом ингаляционного воздействия наночастиц.

Нарушение порфиринового метаболизма, характерное для токсикодинамики свинца, проявилось более чем двукратным и статистически значимым увеличением концентрации дельта-аминолевулиновой кислоты в моче, что является одним из первых признаков свинцовой интоксикации. Таким же свинецспецифичным признаком является и отмеченное повышение концентрации копропорфирина в моче, хотя оно в этом эксперименте и не было статистически значимым. Как известно, такие нарушения являются механизмом подавления свинцом синтеза гема, однако в этом эксперименте оно, видимо, не достигло определяемого уровня, поскольку содержание гемоглобина не изменилось ни в цельной крови, ни в эритроцитах. Не было выявлено так-

же снижение числа эритроцитов, однако уже наблюдалось компенсаторное усиление эритропоэза, проявлением которого является увеличение доли ретикулоцитов, то есть ещё один общеизвестный важный показатель свинцового отравления.

Следует особо отметить увеличение числа микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга. Хотя этот сдвиг и не был статистически значимым, он примечателен тем, что при воздействии металло-оксидных наночастиц мы практически всегда обнаруживаем системный генотоксический эффект, выраженный в увеличении коэффициента фрагментации ДНК, являющегося ещё одним информативным показателем генотоксичности. В частности, этот показатель значительно увеличился при субхронической интоксикации, вызванной повторными внутрибрюшинными инъекциями суспензии РbО-НЧ [9].

Только некоторые из показателей белой крови выявили заметные, хотя и незначимые статистически сдвиги. Эти сдвиги также заслуживают внимания, поскольку они типичны для экспериментальных свинцовых интоксикаций, причём в некоторых исследованиях были статистически значимыми и более существенными, чем в настоящем [18–22].

Переходя к показателям состояния сыворотки крови, отметим, что общий белок и белковые фракции в ней не отличались от контрольных значений. В то же время, изменения некоторых других биохимических показателей указывают на повреждение гепатоцитов, которое, как известно, может проявляться не только как ингибирование биосинтеза ферментов (что проявляется статистически значимым снижением сывороточной активности γ -глутамилтранспептидазы и незначительным снижением активности щелочной фосфатазы), но и как усиление релиза ферментов (что привело к повышению сывороточной активности аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы и амилазы). Как видно из таблицы 3, некоторые из этих сдвигов являются статистически значимыми.

Небольшое повышение массы почек, даже статистически незначимое, предположительно можно связать с нефротоксичностью, являющейся ещё одной характерной особенностью токсического действия свинца [23–25]. Таким же образом можно интерпретировать как повышение содержания белка в моче, так и статистически значимое снижение удельной плотности мочи даже при меньшем объёме диуреза. На нефротоксичность свинца может указывать и значимо повышенное содержание креатинина в моче, в то время как содержание креатинина в сыворотке крови не было изменено. Отметим, что свинцовое повреждение

Таблица 1

Показатели клеточности бронхоальвеолярного лаважа крыс после ингаляции наночастиц оксида свинца ($x \pm s.e.$)

Группа крыс	Общая клеточность, на 10^6	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ) на 10^6	Альвеолярные макрофаги (АМ) на 10^6
Контрольная	$3,29 \pm 0,67$	$0,35 \pm 0,13$	$2,94 \pm 0,64$
Экспонированная	$5,29 \pm 1,33$	$0,62 \pm 0,12$	$4,66 \pm 1,24$

Таблица 2.

Биохимические показатели надосадочной жидкости крыс, после ингаляции НЧ оксида свинца ($x \pm s.e.$).

Показатели:	Группа крыс	
	Контрольная	Экспонированная
Щелочная фосфатаза, Е/л	$13,62 \pm 2,85$	$45,16 \pm 5,17 *$
Аспартат-аминотрансфераза (АСТ), Е/л	$5,52 \pm 0,80$	$7,64 \pm 0,58$
Аланин-аминотрансфераза (АЛТ), Е/л	$1,96 \pm 0,16$	$1,42 \pm 0,21$
Коэф. Де Ритиса (АСТ/АЛТ)	$2,77 \pm 0,31$	$5,92 \pm 1,00 *$
Амилаза, Е/л	$1,56 \pm 0,30$	$1,34 \pm 0,37$
γ -глутамилтранспептидаза, Е/л	$0,46 \pm 0,16$	$7,26 \pm 1,07 *$
Глюкоза, ммоль/л	$0,00 \pm 0,00$	$0,02 \pm 0,02$
Лактатдегидрогеназа, Е/л	$29,50 \pm 5,72$	$38,20 \pm 5,64$
Мочевина, ммоль/л	$0,22 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,07$
Общий кальций, ммоль/л	$0,04 \pm 0,00$	$0,04 \pm 0,01$
Общий белок, мг/л	$81,68 \pm 6,19$	$133,38 \pm 31,52$

Примечание: знаком «*» отмечены показатели, имеющие статистически значимое различие с контрольной группой (по t-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$)

как канальцевого эпителия, так и Мальпигиевых клубочков было показано морфоморфологически в субхроническом эксперименте с внутрибрюшинным введением суспензий РbО- НЧ [9].

Показатели содержания кальция, миоглобина, тропонина, натрийуретического пептида, эндотелина и фактора роста сосудистого эндотелия являются маркерами вазо-кардиотоксического эффекта свинцовой интоксикации, обсуждаемо-

го ниже, но ни один из них не показал каких-то существенных сдвигов.

Между тем, как видно из таблицы 4, все показатели артериального давления – систолическое, диастолическое и среднее – были хотя и не значимо статистически, но согласованно повышены по сравнению с контрольными значениями. Естественное предположение, что эта артериальная гипертензия была вызвана повышенным

Таблица 3

Некоторые показатели состояния организма крыс, подвергшихся ингаляционной затравке аэрозолем наночастиц оксида свинца ($x \pm s.e.$)

Показатели	Группа крыс	
	Контрольная	Экспонированная
Масса тела до затравки, г	251,43 ± 2,19	251,79 ± 1,54
Масса тела после затравки, г	247,50 ± 2,71	250,71 ± 2,82
Прирост массы тела, %	-1,56 ± 0,70	-0,43 ± 0,92
Масса сердца, г	0,77 ± 0,03	0,83 ± 0,03
Масса лёгких, г	1,67 ± 0,09	1,89 ± 0,10
Масса печени, г	9,03 ± 0,46	9,09 ± 0,42
Масса почек, г	1,67 ± 0,05	1,75 ± 0,06
Масса селезёнки, г	0,54 ± 0,02	0,56 ± 0,02
Масса мозга, г	1,96 ± 0,04	1,90 ± 0,04
Масса сердца, г/100 г массы тела	0,31 ± 0,01	0,33 ± 0,01
Масса лёгких, г/100 г массы тела	0,68 ± 0,04	0,75 ± 0,03
Масса печени, г/100 г массы тела	3,65 ± 0,16	3,61 ± 0,12
Масса почек, г/100 г массы тела	0,68 ± 0,02	0,70 ± 0,02
Масса селезёнки, г/100 г массы тела	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,01
Масса мозга, г/100 г массы тела	0,79 ± 0,01	0,76 ± 0,03
Число заглядываний в «норки» на «открытом поле», за 3 мин	13,86 ± 1,46	15,07 ± 1,51
Число пересечённых квадратов на «открытом поле», за 3 мин	31,64 ± 2,17	32,21 ± 2,27
Общее количество движений на «открытом поле» за 3 мин	51,21 ± 3,90	56,36 ± 4,54
Суммационно-пороговый показатель, с	10,24 ± 0,29	13,11 ± 0,20 *
Гемоглобин, г/л	140,33 ± 2,16	142,57 ± 2,13
Гематокрит, %	21,05 ± 0,27	21,54 ± 0,41
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,83 ± 0,17	6,86 ± 0,23
Средний объём эритроцита, мкм ³	61,77 ± 0,76	62,99 ± 1,34
Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, 10 ⁻¹² г	20,60 ± 0,24	20,86 ± 0,48
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	333,33 ± 2,50	331,14 ± 1,68
Ширина распределения эритроцитов, %	12,50 ± 0,32	13,40 ± 0,38
Ретикулоциты, ‰	26,44 ± 4,57	71,80 ± 7,87 *
Число полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге, ‰	0,25 ± 0,25	0,40 ± 0,24
Тромбоциты, 10 ⁶ /мл	705,00 ± 63,71	813,71 ± 42,92
Тромбокрит, %	0,20 ± 0,01	0,22 ± 0,01
Средний объём тромбоцита, мкм ³	5,27 ± 0,13	5,33 ± 0,10
Лейкоциты, 10 ⁶ /мл	6,40 ± 0,34	6,94 ± 0,52
Палочкоядерные нейтрофилы, 10 ⁶ /мл	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01
Сегментоядерные нейтрофилы, 10 ⁶ /мл	1,48 ± 0,12	1,68 ± 0,19
Базофилы, 10 ⁶ /мл	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Эозинофилы, 10 ⁶ /мл	0,37 ± 0,12	0,28 ± 0,07

Лимфоциты, 10 ⁶ /мл	4,12 ± 0,27	4,45 ± 0,28
Моноциты, 10 ⁶ /мл	0,37 ± 0,03	
Общий белок в сыворотке крови, г/л	81,33 ± 1,21	81,50 ± 1,05
Альбумин, г/л	49,56 ± 0,75	50,94 ± 0,95
Глобулины, г/л	31,77 ± 1,05	30,56 ± 0,62
А/Г индекс	1,57 ± 0,05	1,67 ± 0,05
Аланин-аминотрансфераза (АЛТ), Е/л	54,07 ± 2,62	56,91 ± 2,55
Аспартат-аминотрансфераза (АСТ), Е/л	226,70 ± 10,22	265,60 ± 14,03 *
Коэффициент Де Ритиса (АСТ/АЛТ)	4,22 ± 0,20	4,72 ± 0,31
Общий билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	1,46 ± 0,14	1,21 ± 0,11
Глюкоза, ммоль/л	0,39 ± 0,22	0,54 ± 0,16
SH-группы, ммоль/л	0,37 ± 0,02	0,37 ± 0,02
γ-глутамилтранспептидаза сыворотки крови, Е/л	4,83 ± 0,25	3,97 ± 0,19 *
Мочевина в сыворотке крови, ммоль/л	7,27 ± 0,49	6,91 ± 0,45
Мочевая кислота в сыворотке крови, мкмоль/л	92,57 ± 5,97	91,57 ± 6,52
Щелочная фосфатаза, Е/л	198,80 ± 23,43	190,00 ± 20,32
Каталаза в сыворотке крови, мкмоль/л	0,67 ± 0,01	0,65 ± 0,01
Восстановленный глутатион в гемолизате крови, мкмоль/л	35,33 ± 3,11	33,41 ± 3,47
Церулоплазмин, мг/%	123,03 ± 7,22	127,58 ± 6,06
Малоновый диальдегид (МДА), мкмоль/л	3,71 ± 0,14	3,98 ± 0,18
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), Е/л	2590,00 ± 177,21	3171,43 ± 129,31 *
Амилаза, Е/л	3443,71 ± 218,91	4148,83 ± 362,11
Общий кальций в сыворотке крови, ммоль/л	2,75 ± 0,02	2,75 ± 0,03
Эндотелин-1, пг/мл	26,11 ± 2,72	25,62 ± 1,15
Миоглобин, нг/мл	67,35 ± 9,02	35,51 ± 16,39
Тропонин, нг/мл	0,059 ± 0,052	0,105 ± 0,103
Натрийуретический пептид, пг/мл	1,09 ± 0,08	1,24 ± 0,15
Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), 10 ⁶ Е/мл	3,64 ± 0,69	5,51 ± 2,29
Суточный объем мочи, мл	40,36 ± 2,29	38,17 ± 2,77
Удельная плотность мочи, г/мл	1,012 ± 0,001	1,010 ± 0,000 *
pH мочи	6,91 ± 0,06	6,63 ± 0,11 *
Белок в моче, г/л	104,43 ± 5,31	123,63 ± 12,36
Общий копропорфирин в моче, мкмоль/л	71,28 ± 27,58	120,86 ± 49,59
δ-аминолевулиновая кислота (δ-АЛК) в моче, мкг/мл	5,65 ± 0,86	13,97 ± 1,25 *
Мочевина в моче, ммоль/л	115,19 ± 6,63	132,53 ± 7,37
Мочевая кислота в моче, мкмоль/л	1,55 ± 0,88	9,17 ± 4,93
Креатинин в сыворотке крови, мкмоль/л	58,60 ± 1,84	56,87 ± 2,98
Креатинин в моче, мкмоль/л	0,71 ± 0,03	0,93 ± 0,10 *
Клиренс эндогенного креатинина	0,50 ± 0,04	0,59 ± 0,04

Примечание: знаком «*» отмечены показатели, имеющие статистически значимое различие с контрольной группой (по t-критерию Стьюдента при p≤0,05)

Таблица 4

Некоторые гемодинамические показатели крыс после ингаляции НЧ оксида свинца ($x \pm s.e.$)

Показатели:	Группа крыс	
	Контрольная	Экспонированная
Систолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	128,32 ± 3,38	135,26 ± 6,09
Диастолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	91,20 ± 2,63	98,31 ± 4,86
Среднее артериальное давление, мм.рт.ст.	103,19 ± 2,86	110,25 ± 5,22
Частота сердечных сокращений, уд/мин.	335,77 ± 7,15	338,85 ± 7,80
Скорость кровотока в хвосте, мкл/мин.	32,70 ± 3,07	29,27 ± 1,84
Объём крови в хвосте, мкл.	122,90 ± 12,12	108,60 ± 7,97

системным сопротивлением кровотоку, согласуется с его замедлением и уменьшением объема крови в хвосте крыс. Важно отметить, что все эти сдвиги были отмечены нами и при субхронической интоксикации после внутрибрюшинных инъекций ацетата свинца [22], но, насколько нам известно, никто ранее не оценивал гемодинамические параметры при любого рода воздействии НЧ оксида свинца.

Следует отметить, что многие эпидемиологические исследования подтвердили причинно-следственную связь между воздействием свинца на человека и распространённостью артериальной гипертензии [26-30]. Проводились также эксперименты на животных, направленные на выявление возможных механизмов связи гипертензии и отравления свинцом [31-35]. Однако автор сравнительно недавнего обзора [36] пришел к выводу, что «в профессиональной среде влияние воздействия свинца на артериальное давление остается противоречивым». В этом контексте следует напомнить, что воздух, вдыхаемый работниками металлургии, загрязнен свинцом в форме аэрозоля, содержащего значительную долю наночастиц. Таким образом, не могут быть проигнорированы впервые полученные нами данные, свидетельствующие о том, что даже очень умеренная интоксикация, вызванная воздействием наноаэрозоля РbО, провоцирует сдвиги гипертензионного типа.

В таблице 5 представлены результаты анализа ЭКГ, в двух стандартных отведениях, и их целесообразно сравнить с данными нашего исследования ЭКГ при субхронической интоксикации ацетатом свинца [22]. В то время как в послед-

нем случае мы наблюдали удлинение большинства межволновых интервалов, согласованное с замедлением сердечного ритма, в ингаляционном эксперименте с РbО-НЧ брадикардии отмечено не было, а единственным статистическим сдвигом являлось сокращение интервала QRS. Статистически значимое увеличение амплитуд Р и Т, обнаруженное в обоих отведениях ЭКГ в этом эксперименте, не наблюдалось в предыдущем эксперименте с ацетатом свинца. В то же время, в обоих исследованиях была общая черта – пониженная изоэлектрическая линия ЭКГ во втором отведении, что может указывать на дегенеративные изменения миокарда или, по крайней мере, метаболические нарушения в нем. Такие нарушения действительно были выявлены в миокарде сердце крыс при субхронической свинцовой интоксикацией [21-22].

Трансмиссионная электронная микроскопия лёгочной ткани выявила наночастицы в цитоплазме альвеолоцитов как 1, так и 2 типа. (рис. 4 и 5).

При электронной микроскопии обонятельных луковиц головного мозга отмечена вакуолизация цитоплазмы нейронов, наличие наночастиц в теле нейронов (рис.6) и демиелинизация мембраны аксонов (рис.7)

Механизм проникновения наночастиц в нейроны обонятельной области головного мозга упомянут во Введении. Мы хотим подчеркнуть, что подобное проникновение сопровождается ультраструктурными изменениями в тканях головного мозга. Можно предположить, что отмеченные выше изменения в функциональном состоянии ЦНС и поведенческих ре-

Таблица 5

Электрокардиограмма крыс после ингаляции НЧ оксида свинца ($x \pm s.e.$)

Показатели	Группы животных			
	Контрольная		Экспонированная	
	ЭКГ I отведение	ЭКГ II отведение	ЭКГ I отведение	ЭКГ II отведение
Интервалы, мс				
RR	161,25 ± 3,75	166,22 ± 3,54	167,27 ± 3,82	162,31 ± 3,71
PQ	45,33 ± 1,56	45,23 ± 1,01	45,20 ± 1,07	46,70 ± 1,10
QRS	33,31 ± 3,02	22,83 ± 0,88	25,58 ± 0,80 *	21,75 ± 0,62
QT	61,12 ± 1,70	70,88 ± 1,70	65,48 ± 2,38	72,56 ± 1,70
QT скорректированный по Базетту	152,49 ± 2,86	174,46 ± 3,72	161,29 ± 6,82	180,63 ± 4,30
QT скорректированный по Фредерике	112,41 ± 2,41	129,18 ± 2,79	119,36 ± 4,77	133,26 ± 3,08
Длительность интервала P	15,55 ± 0,29	15,89 ± 0,76	15,98 ± 0,41	17,19 ± 1,33
Амплитуды, мВ				
Изоэлектрическая линия	-0,02 ± 0,00	-0,06 ± 0,00	-0,03 ± 0,00	-0,08 ± 0,00 *
P	0,03 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0,01 *	0,11 ± 0,01 *
Q	-0,0005 ± 0,0006	-0,0008 ± 0,0006	-0,0003 ± 0,0004	-0,0035 ± 0,0016
R	0,27 ± 0,06	0,44 ± 0,03	0,28 ± 0,05	0,50 ± 0,06
S	-0,05 ± 0,02	-0,05 ± 0,03	-0,03 ± 0,01	-0,09 ± 0,03
QRS	0,22 ± 0,06	0,39 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,41 ± 0,06
T	0,03 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,08 ± 0,01 *	0,21 ± 0,02 *

Примечание: знаком «*» отмечены показатели, имеющие статистически значимое различие с контрольной группой (по t-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$)

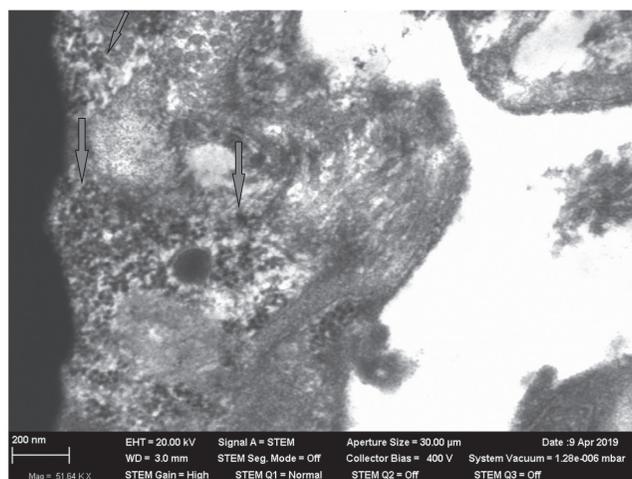


Рис. 4. Наночастицы (отмечены стрелками) в альвеоцитах 1 типа в лёгочной ткани крыс после ингаляции НЧ оксида свинца. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 51640$.

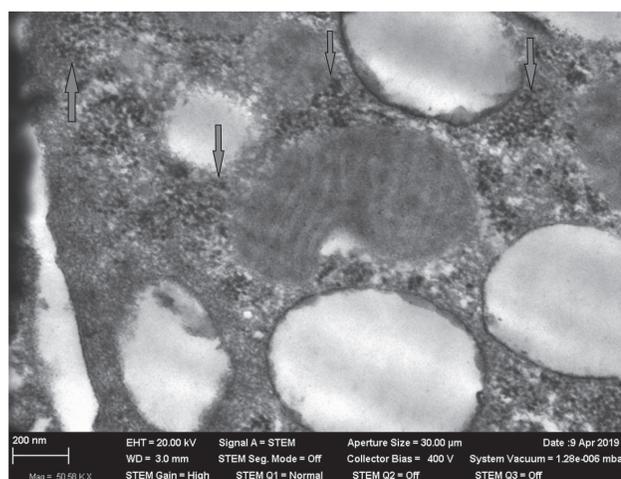


Рис. 5. Наночастицы (отмечены стрелками) в альвеоцитах 2 типа лёгочной ткани крыс после ингаляции НЧ оксида свинца. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 50580$.



Рис. 6. Наночастицы (отмечены стрелками) и вакуолизация цитоплазмы (отмечено звёздочкой) в нейронах обонятельных луковок головного мозга крыс, подвергнутых ингаляции НЧ оксида свинца. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 41950$.

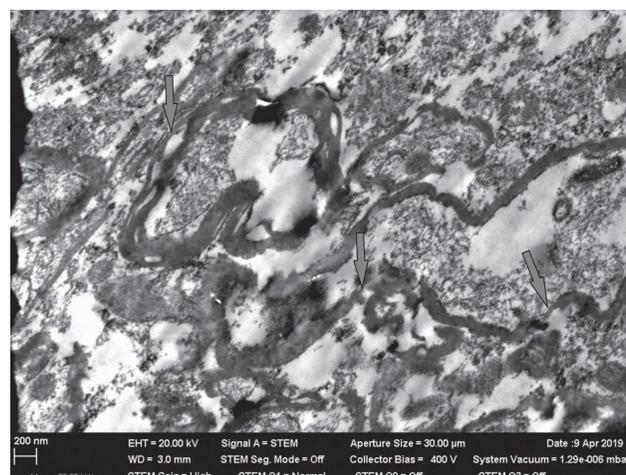


Рис. 7. Аксоны с демиелинизацией мембраны (участки демиелинизации отмечены стрелками) обонятельных луковок головного мозга крыс, подвергнутых ингаляции НЧ оксида свинца. Трансмиссионная электронная микроскопия, увеличение $\times 20050$.

акциях крыс могут быть связаны не только с системным токсическим действием свинца, но и с учетом ключевой роли обоняния в системе контроля поведения у млекопитающих, непосредственным проникновением наночастиц в структуры мозга.

Заключение. Полученные нами экспериментальные результаты и их обсуждение с привлече-

нием релевантных литературных данных позволяют полагать, что ингаляционное воздействие свинцово-оксидных наночастиц, сопровождающееся их задержкой в организме, приводит (даже в случае не очень высокого уровня экспозиции и короткой продолжительности её) к развитию нарушений в организме, некоторые из которых специфичны для свинцовой интоксикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

- Katsnelson, B.A.; Privalova, L.I.; Sutunkova, M.P.; Minigalieva, I.A.; Gurvich, V.B.; Shur, V.Ya.; Shishkina, E.V.; Makeyev, O.H.; Valamina, I.E.; Varaksin, A.N.; et al. Experimental research into metallic and metal oxide nanoparticle toxicity in vivo. In *Bioactivity of Engineered Nanoparticles*; Yan, B., Zhou, H., Gardea-Torresdey, J., Eds.; Springer: Springer Nature Switzerland AG, 2017; Chapter 11, pp. 259–319.
- Dumková, J.; Smutná, T.; Vříčková, L.; Le Coustumer, P.; Večeřa, Z.; Dočekal, B.; Mikuška, P.; Čapka, L.; Fictum, P.; Hampl, A.; et al. Sub-chronic inhalation of lead oxide nanoparticles revealed their broad distribution and tissue-specific subcellular localization in target organs. *Part. Fibre Toxicol.* 2017, 14, 55.
- Oberdörster, G.; Sharp, Z.; Atudore, V.; Elder, A.; Gelein, R.; Kreylin, W. Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 2004, 16, 437–445.
- Elder, A.; Gelein, R.; Silva, V.; Feikert, T.; Opanashuk, L.; Carter, J.; Potter, R.; Maynard, A.; Ito, Y.; Finkelstein, J.; et al. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environ. Health Perspect.* 2006, 114, 1172–1178.
- Kao, Y.-Y.; Cheng, T.-J.; Yang, D.-M.; Liu, P.-S. Demonstration of an olfactory bulb–brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent cells in vitro and in vivo. *J. Mol. Neurosci.* 2012, 48, 464–471.
- Sutunkova, M.P.; Katsnelson, B.A.; Privalova, L.I.; Gurvich, V.B.; Konyshcheva, L.K.; Shur, V.Y.; Shishkina, E.V.; Minigalieva, I.A.; Solovjeva, S.N.; Grebenkina, S.V.; 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. *Toxicology* 2016, 363–364, 19–28.
- Sutunkova, M.P.; Solovjeva, S.N.; Katsnelson, B.A.; Gurvich, V.B.; Privalova, L.I.; Minigalieva, I.A.; Slyshkina, T.V.; Valamina, I.E.; Shur, V.Y.; Zubarev, I.V.; et al. A paradoxical rat organism's response to a long-term inhalation of silica-containing submicron (predominantly, nanoscale) particles of an actual industrial aerosol at realistic exposure levels. *Toxicology* 2017, 384, 59–68.
- Sutunkova, M.; Solovjeva, S.; Minigalieva, I.; Gurvich, V.; Valamina, I.; Makeyev, O.; Shur, V.; Shishkina, E.; Zubarev, I.; Saatkhudinova, R.; et al. Toxic Effects of Low-Level Long-Term Inhalation Exposures of Rats to Nickel Oxide Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 1778.
- Minigalieva, I.A.; Katsnelson, B.A.; Panov, V.G.; Privalova, L.I.; Varaksin, A.N.; Gurvich, V.B.; Sutunkova, M.P.; Shur, V.Y.; Shishkina, E.V.; Valamina, I.E.; 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.
- Bushueva, T.; Minigalieva, I.; Panov, V.; Kuznetsova, A.; Naumova, A.; Shur, V.; Shishkina, E.; Gurvich, V.; Privalova, L.; Katsnelson, B. More data on in vitro assessment of comparative and combined toxicity of metal oxide nanoparticles. *Food Chem. Toxicol.* 2019, 133, 110753.
- Burgio, L.; Clark, R.J.H. Library of FT-Raman spectra of pigments, minerals, pigment media and varnishes, and supplement to existing library of Raman spectra of pigments with visible excitation. *Spectrochim. Acta A* 2001, 57, 1491–1521.
- Katsnelson, B.A.; Privalova, L.I.; Degtyareva, T.D.; Sutunkova, M.P.; Minigalieva, I.A.; Kireyeva, E.P.; Khodos, M.Y.; Kozitsina, A.N.; Shur, V.Y.; Nikolaeva, E.V.; et al. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe₃O₄ (Magnetite) nanoparticles. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2010, 16, 47–63.
- Katsnelson, B.A.; Privalova, L.I.; Sutunkova, M.P.; Tulakina, L.G.; Pichugova, S.V.; Beykin, J.B.; Khodos, M.J. The "in vivo" interaction between iron oxide Fe₃O₄ nanoparticles and alveolar macrophages. *J. Bull. Exp. Biol. Med.* 2012, 152, 627–631.
- Katsnelson, B.A.; Privalova, L.I.; Gurvich, V.B.; Makeyev, O.H.; Shur, V.Y.; Beikin, Y.B.; Sutunkova, M.P.; Kireyeva, E.P.; Minigalieva, I.A.; Loginova, N.V.; et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bioeffects 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.
- Sutunkova, M.P.; Privalova, L.I.; Minigalieva, I.A.; Gurvich, V.B.; Panov, V.G.; Katsnelson, B.A. The most important inferences from the Ekaterinburg nanotoxicology team's animal experiments assessing adverse health effects of metallic and metal oxide nanoparticles. *Toxicol. Rep.* 2018, 5, 363–376.
- Morosova, K.I.; Aronova, G.V.; Katsnelson, B.A.; Velichkovskii, B.T.; Genkin, A.M.; Elnichnyh, L.N.; Privalova, L.I. On the defensive action of glutamate against the cytotoxicity and fibrogenicity of quartz dust. *Br. J. Ind. Med.* 1982, 39, 244–252.
- Katsnelson, B.A.; Konyshcheva, L.K.; Privalova, L.I.; Sharapova, N.Y. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhal. Toxicol.* 1997, 9, 703–715.
- Mugahi, M.N.; Heidari, Z.; Mahmoudzadeh-Sagheb, H.; Barbarestani, M. Effects of chronic lead acetate intoxication on blood indices of male adult rat. *DARU* 2003, 11, 147–151.
- Al Momen, A. Thrombocytosis

secondary to chronic lead poisoning.

Platelets 2010, 21, 297–299.

20. Farkhondeh, T.; Boskabady, M.H.; Kohi, M.K.; Sadeghi-Hashjin, G.; Moin, M. Lead exposure affects inflammatory mediators, total and differential white blood cells in sensitized guinea pigs during and after sensitization. *Drug Chem. Toxicol.* 2014, 37, 329–335.

21. Protsenko, Y.L.; Katsnelson, B.A.; Klinova, S.V.; Lookin, O.N.; Balakin, A.A.; Nikitina, L.V.; Gerzen, O.P.; Minigalieva, I.A.; Privalova, L.I.; Gurvich, V.B.; et al. Effects of subchronic lead intoxication of rats on the myocardium contractility. *Food Chem. Toxicol.* 2018, 120, 378–389.

22. Klinova, S.V.; Minigalieva, I.A.; Privalova, L.I.; Valamina, I.E.; Makeyev, O.H.; Shuman, E.A.; Korotkov, A.A.; Panov, V.G.; Sutunkova, M.P.; Riabova, J.V.; et al. Further verification of some postulates of the combined toxicity theory: New animal experimental data on separate and joint adverse effects of lead and cadmium. *Food Chem. Toxicol.* 2019, 125, 233–241.

23. IPCS. Principles and methods for the assessment of nephrotoxicity associated with exposure to chemicals; International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 119; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1991.

24. IPCS. Inorganic lead; International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 165; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1995.

25. Varaksin, A.N.; Katsnelson, B.A.; Panov, V.G.; Privalova, L.I.; Kireyeva, E.P.; Valamina, I.E.; Beresneva, O.Y. 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.

26. Glenn, B.S.; Stewart, W.F.; Schwartz, B.S.; Bressler, J. Relation of alleles of the sodium-potassium adenosine triphosphatase alpha 2 gene with blood pressure and lead exposure. *Am. J. Epidemiol.* 2001, 153, 537–545.

27. Glenn, B.S.; Stewart, W.F.; Links, J.M.; Todd, A.C.; Schwartz, B.S. The longitudinal association of lead with blood pressure. *Epidemiology* 2003, 14, 30–36.

28. Glenn, B.S.; Bandeen-Roche, K.; Lee, B.K.; Weaver, V.M.; Todd, A.C.; Schwartz, B.S. Changes in systolic blood pressure associated with lead in blood and bone. *Epidemiology* 2006, 17, 538–544.

29. Navas-Acien, A.; Guallar, E.; Silbergeld, E.K.; Rothenberg, S.J. Lead exposure and cardiovascular disease—a systematic review. *Environ. Health Perspect.* 2007, 115, 472–482.

30. Fiorim, J.; Ribeiro, R.F.; Silveira, E.A.; Padilha, A.S.; Vescovi, M.V.; de Jesus, H.C.; Stefanon, I.; Salaiques, M.; Vassallo, D.V. Low-level lead exposure increases systolic arterial pressure and endothelium-derived vasodilator factors in rat aortas. *PLoS ONE* 2011, 6, e17117.

31. Carmignani, M.; Boscolo, P.; Poma, A.; Volpe, A.R. Kininergic system and arterial hypertension following chronic exposure to inorganic lead. *Immunopharmacology* 1999, 44, 105–110.

32. Carmignani, M.; Volpe, A.R.; Boscolo, P.; Qiao, N.; Di Gioacchino, M.; Grilli, A.; Felaco, M. Catcholamine and nitric oxide systems as targets of chronic lead exposure in inducing selective functional impairment. *Life Sci.* 2000, 68, 401–415.

33. Simões, M.R.; Ribeiro Júnior, R.F.; Vescovi, M.V.; de Jesus, H.C.; Padilha, A.S.; Stefanon, I.; Vassallo, D.V.; Salaiques, M.; Fiorelli, M. Acute lead exposure increases arterial pressure: Role of the renin-angiotensin system. *PLoS ONE* 2011, 6, e18730.

34. Vaziri, N.D.; Norris, K. Lipid disorders and their relevance to outcomes in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2011, 31, 189–196.

35. Silveira, E.A.; Siman, F.D.; de Oliveira, F.T.; Vescovi, M.V.; Furiere, L.B.; Lizardo, J.H.; Stefanon, I.; Padilha, A.S.; Vassallo, D.V. Low-dose chronic lead exposure increases systolic arterial pressure and vascular reactivity of rat aortas. *Free Radic. Biol. Med.* 2014, 67, 366–376.

36. Gidlow, D.A. Lead toxicity. *Occup. Med.* 2015, 65, 348–356.

M.P. Sutunkova¹, S.N. Solovyeva¹, I.N. Chernyshov¹, S.V. Klinova¹, V.B. Gurvich¹, V. Ya. Shur²,
E.V. Shishkina², I. V. Zubarev², L.I. Privalova¹, B.A. Katsnelson¹

MANIFESTATIONS OF SUBACUTE SYSTEMIC TOXICITY OF LEAD OXIDE NANOPARTICLES IN RATS AFTER AN INHALATION EXPOSURE

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

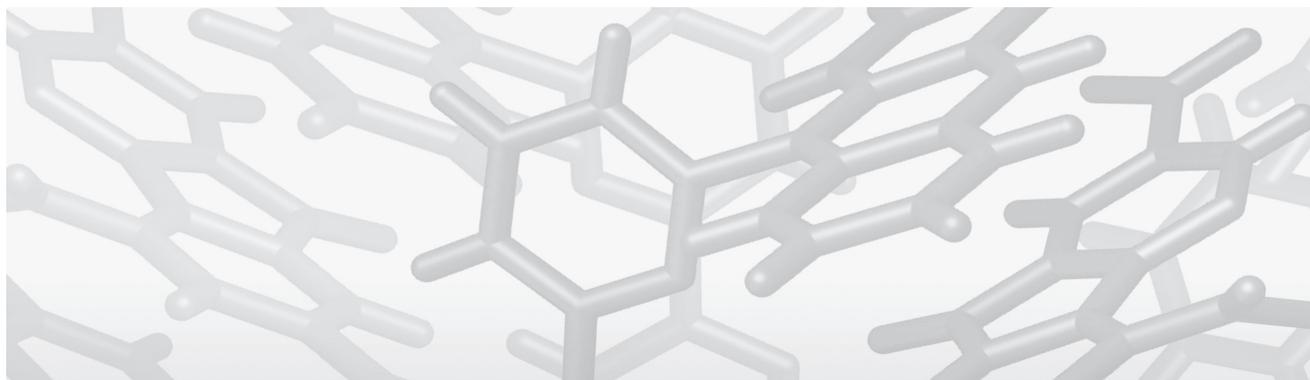
²Institute of Natural Sciences, Ural Federal University, 620000, Yekaterinburg, Russian Federation

Outbred white female rats were exposed to an aerosol of lead oxide nanoparticles in a nose-only inhalation set-up at an average concentration of 1.30 ± 0.10 mg / m³ during 5 days for 4 hours a day. In parallel, the control group of rats was subjected to sham exposure under similar conditions. The deposition of nanoparticles in the lungs and in the olfactory region of the brain was detected using transmission electron microscopy. Some disorders of the body state were detected in the exposed group, some of which can be considered as the result of a lead-specific toxic effect (an increase in the proportion of reticulocytes and in urinary excretion of δ -aminolevulinic acid), and others - the result of nanoparticles circumventing the blood-brain barrier (axon demyelination, vacuolization of the neurons' cytoplasm).

Keywords: nanoparticles, lead oxide, inhalation exposure, toxicity.

Quote: M.P. Sutunkova, S.N. Solovyeva, I.N. Chernyshov, S.V. Klinova, V.B. Gurvich, V.Ya. Shur, E.V. Shishkina, I. V. Zubarev, L.I. Privalova, B.A. Katsnelson. Manifestations of subacute systemic toxicity of lead oxide nanoparticles in rats after an inhalation exposure. *Toxicological Review.* 2020; 6:3-13

Материал поступил в редакцию 26.03.2020 г.



УДК 547.222:611.36:615.01

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-14-20

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА В КОМБИНАЦИИ С ИЗВЕСТНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ (МЕКСИДОЛ, ТОНАРОЛ, АЦЕТИЛЦИСТЕИН)

Э.Ф. Репина¹, Д.О. Каримов¹,
Г.В. Тимашева¹,
Н.Ю. Хуснутдинова¹,
Л.А. Мусина², А.Р. Гимадиева³,
С.С. Байгильдин¹,
Д.А. Смолянкин¹, Я.В. Валова^{1,4}

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа

²ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, 450075, Уфа

³Уфимский Институт химии УФИЦ РАН, 450054, Уфа

⁴Башкирский государственный университет, 450076, Уфа

Представлены результаты морфологических изменений в печени крыс при остром воздействии тетрахлорметана и профилактической коррекции повреждений комбинациями оксиметилурацила (ОМУ) с известными лекарственными препаратами: «Мексидолом», «Тонаролом» и ацетилцистеином. Наибольший эффект установлен при коррекции ОМУ в комбинации с «Тонаролом». В порядке убывания гепатопротекторной активности исследованные комбинации препаратов можно расположить в следующей последовательности: ОМУ/ «Тонарол» > ОМУ/ Ацетилцистеин > ОМУ/ «Мексидол».

Ключевые слова: тетрахлорметан, печень, морфологическая структура, коррекция, комбинация, оксиметилурацил, мексидол, тонарол, ацетилцистеин.

Цит: Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Г.В. Тимашева, Н.Ю. Хуснутдинова, Л.А. Мусина, А.Р. Гимадиева, С.С. Байгильдин, Д.А. Смолянкин, Я.В. Валова. Экспериментальная оценка гепатопротекторной активности оксиметилурацила в комбинации с известными лекарственными препаратами (мексидол, тонарол, ацетилцистеин). Токсикологический вестник. 2020; 6:14-20

Введение. С момента введения в медицинскую практику первых пиримидинов предпринимались попытки использовать их в качестве гепатопротекторов. Установлено, что оксиметилурацил (ОМУ) и его производные проявляют себя как гепатопротекторы на моделях поражения печени как промышленными токсикантами, так и некоторыми лекарственными препаратами, и

этанолом [1]. Это подтверждается результатами биохимических, морфологических, гистохимических и генетических исследований [2,3,4, 5]. В основе фармакологических эффектов производных 6-метилурацила (в том числе ОМУ) лежат два первичных механизма: ингибирование свободнорадикального окисления и прямое защитное действие на биологические мембраны [6]. В

Репина Эльвира Фаридовна (Repina El'vira Faridovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru;

Каримов Денис Олегович (Karimov Denis Olegovich), кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», karimovdo@gmail.com;

Тимашева Гульнара Вильевна (Timasheva Gul'nara Vil'evna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru;

Хуснутдинова Надежда Юрьевна (Khusnutdinova Nadezhda Yurevna), научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», h-n-yu@yandex.ru;

Мусина Ляля Ахияровна (Musina Lyalya Akhiyarovna), доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, morphoplant@mail.ru;

Гимадиева Альфия Раисовна (Gimadieva Al'fiya Raisovna), кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакофорных циклических систем Уфимского Института химии УФИЦ РАН, alf_gim@mail.ru;

Байгильдин Самат Сагадатович (Baigildin Samat Sagadatovich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», baigildin.samat@yandex.ru;

Смолянкин Денис Анатольевич (Smolyankin Denis Anatol'evich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», smolyankin.denis@yandex.ru;

Валова Яна Валерьевна (Valova Yana Valer'evna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», аспирант Башкирского государственного университета, q.juk@ya.ru

то же время, фактором, сдерживающим применение пиримидинов при патологиях, сопровождающихся развитием гипоксии, является слабое их влияние на процессы образования энергии в клетке. Поскольку гипоксические состояния сопутствуют практически любой патологии, в том числе индуцированной производственными токсикантами, современные исследователи сосредоточились на разработках веществ, облегчающих реакцию организма на гипоксию или предотвращающих ее развитие [7]. Так установлено, что в условиях поражения печени тетрахлорметаном (ТХМ) применение ОМУ малоэффективно, однако, сукцинат натрия, обладающий стимулирующим действием на систему энергетического обмена, значительно повышает его гепатопротекцию. Применение ОМУ в условиях развития токсической гепатаргии (аргия - бездействие) у крыс, вызванной введением смертельных доз дихлорэтана, этанола, тетрахлорметана, совтола, оказывает терапевтический эффект только в составе комплексной терапии, включающей антидотные средства (ацетилцистеин, α -токоферол и др.) [8].

Совместное применение ОМУ с известными гепатопротекторами с целью повышения их эффективности малоисследованно, хотя перспективно, поскольку ОМУ повышает эффективность многих известных лекарственных средств и одновременно снижает их токсичность, побочное действие, повышает переносимость [1].

В связи с вышесказанным, нам представлялось актуальным изучить возможность комбинированного применения ОМУ с известными лекарственными препаратами: мексидолом, тонаролом и ацетилцистеином.

Мексидол обладает выраженным антиоксидантным и мембранопротекторным действием. По химической структуре он представляет собой 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат и, таким образом, имеет сходство с пиридоксином (витамин В6). С другой стороны, в его состав входит сукцинат, который является в организме субстратом для повышения энергетического обмена в клетке [9].

Тонарол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) - эффективный противоязвенный препарат цитопротекторного типа, который по химической структуре относится к классу пространственно-затрудненных (экранированных) фенолов [10]. Особенностью пространственно-затрудненных (экранированных) фенолов является способность эффективно ингибировать свободно-радикальные процессы посредством связывания активных свободных радикалов с образованием стабильного феноксильного радикала, выбывающего из реакции [11].

Ацетилцистеин рассматривается в мировой медицинской литературе как одно из наиболее

широко применяемых антиоксидантных средств. Он сочетает в себе свойства неспецифического токсикотропного противоядия, вступающего в физико-химические взаимодействия с токсичными веществами в организме человека, и токсикокинетического противоядия, оказывающего влияние на скорость процессов деградации токсичных молекул. Кроме того, ацетилцистеин активизирует синтез глутатиона, который является важным фактором химической детоксикации [12]. Цитопротективное действие ацетилцистеина, тесно связанное с его антиоксидантными свойствами, определяет потенциальные возможности его применения при различных заболеваниях и патологических состояниях в клинике внутренних болезней. Так, показано, что ацетилцистеин: улучшает выживаемость больных после трансплантации печени [13]; он также эффективен при острых отравлениях парацетамолом и другими токсическими веществами [14].

Целью исследований являлось изучение гепатопротекторного действия комбинаций ОМУ с «Мексидолом», «Тонаролом» и ацетилцистеином на основании морфологических изменений при остром токсическом поражении печени ТХМ.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проведены в ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» под руководством д.м.н., профессора В.А. Мышкина. Использованы белые аутбредные крысы-самцы (ФГУП «ПЛЖ «Рапполово») массой тела 180-200 г. Животные получали сухой сбалансированный комбикорм «Чара» производства фирмы ООО «МультиТорг» (Россия) и воду в режиме неограниченного доступа. Для содержания использовался сертифицированный подстилочный материал Рехофикс МК 2000 производства компании И.РЕТТЕНМАЙЕР унд Зёне ГмбХ + КоКГ (Германия), поставщик: ООО «Реттенмайер Рус» (Россия). Крыс в количестве 24 голов методом случайной выборки разделили на 5 групп и содержали в клетках по 6 особей при температуре воздуха $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

Модель острого токсического поражения печени лабораторных животных воспроизводили по методике, приведенной в литературе [15]. В качестве токсиканта использовали 50% раствор тетрахлорметана, носителя и контрольного вещества (отрицательный контроль) - рафинированное оливковое масло, реализуемое в торговой сети. ОМУ (оксиметилурацил, или 5-гидрокси-6-метилурацил) был предоставлен Уфимским Институтом химии УФИЦ РАН. Мексидол (производитель - ЗАО «ЗиО-Здоровье», Россия, г. Подольск) и Тонарол - производитель ТОНАР НПФ ТОО, Россия были приобретены в аптечной сети. В эксперименте был использован химически чи-

стый реактив – ацетилцистеин. Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Условия проведения и вывода животных из эксперимента проводили с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным и требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755). Животные выводились из эксперимента путем эвтаназии с помощью углекислого газа с последующей декапитацией.

После вскрытия животных печень извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов [16]. Срезы органов окрашивали гематоксилином и эозином. Изготовленные препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica DMD 108 (Германия). Окуляр x10, объектив x10, x20 (100 и 200-кратное увеличение). Сравнительный анализ полученных результатов проводили по комплексу морфологических признаков:

- морфологическим проявлениям повреждения паренхимы (некротические и некробиотические морфологические признаки, распространенность, форма дистрофии, нарушение балочного строения);
- наличию и характеру стромальных клеточных реакций;
- характеру и степени выраженности компенсаторно-приспособительных процессов.

Результаты и обсуждение. В 1 группе крыс структура печени соответствовала

норме. Выявлено четкое дольковое строение печени с радиальным расположением балок. При окраске гистологических срезов гематоксилином и эозином цитоплазма гепатоцитов окрашивалась в ровный розовый цвет. Клетки имели ядра с хорошо выраженной оболочкой.

В паренхиме печени крыс 2 группы выявлялись изменения, которые характерны для воздействия ТХМ. Наблюдались необратимые изменения в виде ступенчатых и массивных мостовидных некрозов паренхимы печени, полной потери радиальной балочной структуры.

При профилактической коррекции токсических повреждений ОМУ в комбинации с «Мексидолом» (3 группа) у части крыс выявлялись дистрофические изменения гепатоцитов центрлобулярных зон паренхимы печени, выраженные от слабой до средней степени. Патологические изменения касались только цитоплазмы клеток, размеры ядер и их структура не изменялись. Радиальность расположения вокруг центральных вен сохранялась (рис. 1). У большей части крыс этой группы патологические изменения печени были более выраженными, особенно в центрлобулярных зонах, хотя и сохранялась структура гепатоцитов вокруг портальных трактов (рис.2). Местами выявлялся парциальный некроз цитоплазмы (частичная гибель цитоплазмы), и колликвационный некроз - цитолиз с полным распадом клеточных органелл. В этих участках преобладал полиморфизм с полной потерей радиальной балочной структуры парен-

Таблица 1

Дизайн исследования

№ группы	Пол	Количество животных	Препарат peros, за 2 часа до введения токсиканта в течение 6 дней/ Доза препарата, мг/кг массы тела	Препарат парентерально, за 1 часа до введения токсиканта в течение 6 дней/ Доза препарата, мг/кг массы тела	Контрольное вещество / токсикант, подкожно в течение 4 дней	Доза токсиканта, мг/кг или объем	Эвтаназия, забор биоматериала
1	самцы	6	-	-	Оливковое масло	эквивалентный объем	7 день
2	самцы	6	-	-	ТХМ	2 г/кг массы тела	7 день
3	самцы	6	ОМУ/200	Мексидол/50	ТХМ	2 г/кг массы тела	7 день
4	самцы	6	ОМУ/200	Тонарол/50	ТХМ	2 г/кг массы тела	7 день
5	самцы	6	ОМУ/200	Ацетилцистеин/500	ТХМ	2 г/кг массы тела	7 день

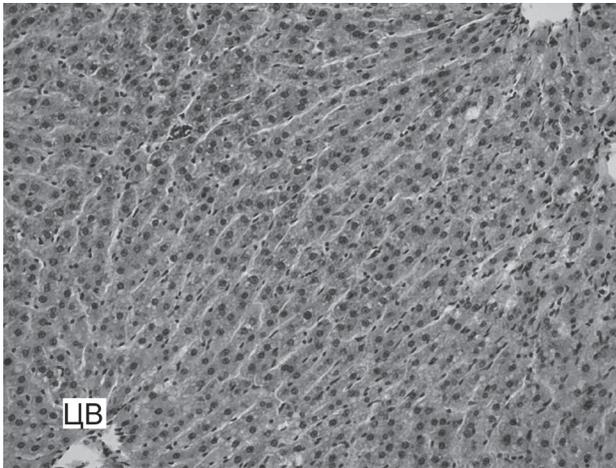


Рис.1. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с «Мексидолом». Сохраняющаяся радиальность расположения гепатоцитов вокруг центральной вены (ЦВ). Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х200.

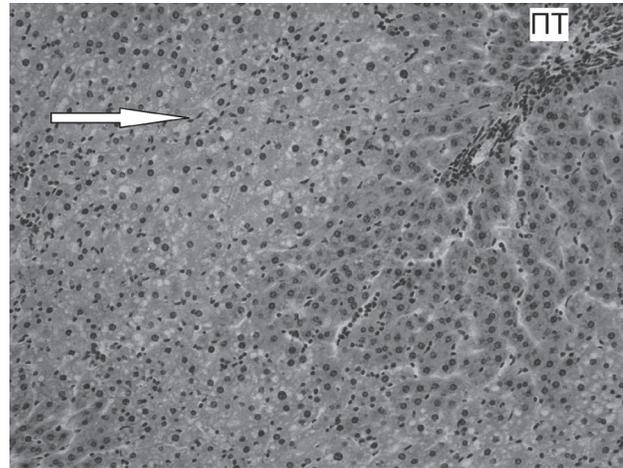


Рис.2. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с «Мексидолом». Выраженные изменения гепатоцитов центролобулярной зоны (↑) при сохранности гепатоцитов перипортальной зоны (ПТ). Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х200.

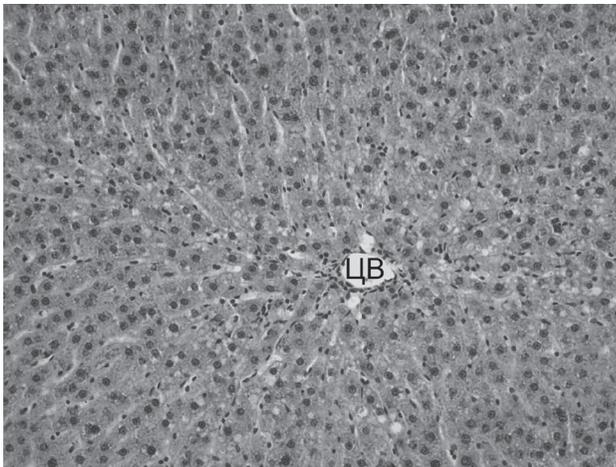


Рис.3. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с «Тонаролом». Сохраняющаяся радиальность расположения печеночных трабекул вокруг центральной вены (ЦВ). Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х200.

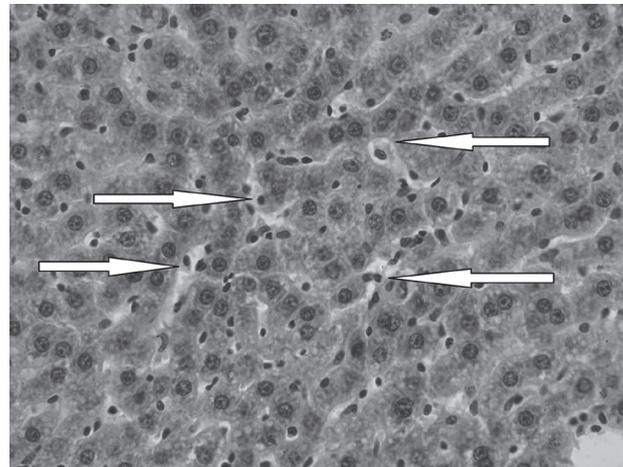


Рис.4. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с «Тонаролом». Активизирующиеся звездчатые ретикулоэндотелиоциты в синусоидах (↑). Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х400.

химы печени. Большинство внутридольковых сосудов были расширены и кровенаполнены. Из них мигрировали воспалительные клетки (лимфоциты, макрофаги) и формировали довольно обширные инфильтраты вокруг портальных трактов.

В 4 группе (коррекция ОМУ в комбинации с «Тонаролом») морфологически выявлялись обратимые дистрофические изменения гепатоцитов центролобулярных зон паренхимы печени, выраженные от слабой до средней степени. В печеночных клетках вокруг центральных вен определялась мелкокапельная вакуолизация цитоплазмы. Клетки имели одно, реже два, довольно крупных ядра с

одним или двумя ядрышками. Несмотря на вакуолизацию цитоплазмы клеток радиальность расположения печеночных трабекул вокруг центральных вен сохранялась (рис.3). Вокруг портальных трактов выявлялись зоны гепатоцитов с неизменной структурой. Синусоиды между печеночными трабекулами хорошо просматривались. В них определялось большое количество активизирующихся распластанных внутри синусоидов звездчатых ретикулоэндотелиоцитов с ярко-розовой цитоплазмой, свидетельствующих о повышении компенсаторных функций печени (рис.4). Центральные вены и сосуды портальных трактов были не расширены.

У половины крыс 5 группы (коррекция ОМУ в комбинации с ацетилцистеином) выявлялись обратимые дистрофические изменения гепатоцитов централобулярных зон паренхимы печени слабой степени. Лишь в отдельных зонах вокруг центральных вен определялась мелкокапельная вакуолизация цитоплазмы печеночных клеток. Гепатоциты были ровные, имели одно, реже два, довольно крупных ядра с одним или двумя ядрышками. Радиальность расположения печеночных трабекул вокруг центральных вен при этом сохранялась (рис.5). Синусоиды между печеночными трабекулами хорошо просматривались. В них определялось большое количество удлинённых синусоидных клеток и звездчатых ретикулоэндотелиоцитов с ярко-розовой цитоплазмой. Центральные вены и сосуды портальных трактов были спокойными, не расширенными и без инфильтрации воспалительными клетками прилежащей паренхимы. У другой половины патологические изменения печени были более выраженными, хотя и сохранялась структура гепатоцитов вокруг портальных трактов. Вокруг центральных вен определялись

признаки как гидропической вакуольной, баллонной дистрофии гепатоцитов до парциального (частичного) некроза цитоплазмы и колликвационного некроза клеток (рис.6). Клетки были полиморфны и различных размеров. Здесь можно было увидеть множество гепатоцитов с пикнотичными плотными темными ядрами. Центральные вены и окружающие синусоиды были кровенаполнены, также как и сосуды большинства портальных трактов. Около таких сосудов выявлялись воспалительные инфильтраты.

Сравнительная эффективность изученных комбинаций представлена в таблице 2.

Из данных, представленных в таблице, видно, что все изученные комбинации препаратов в режиме профилактического введения проявляют неплохой гепатотропный эффект, снижая объем необратимых изменений в виде некрозов паренхимы печени, способствуя сохранению радиальной балочной структуры печени и гепатоцитов.

Наибольший эффект установлен при коррекции ОМУ в комбинации с «Тонаролом». В порядке убывания гепатопротекторной активности исследованные комбинации препаратов можно расположить в следующей последовательно-

Таблица 2

Сравнительная гепатопротекторная эффективность комбинаций препаратов

Место в ряду эффективности	Комбинация	Патоморфологические признаки (общее краткое заключение)
1 место	ОМУ/ «Тонарол»	Практически у всех крыс морфологически выявлялись обратимые дистрофические изменения гепатоцитов централобулярных зон паренхимы печени. Радиальность расположения печеночных трабекул вокруг центральных вен сохранялась. Вокруг портальных трактов выявлялись зоны гепатоцитов с неизменной структурой. В синусоидах между печеночными трабекулами определялось большое количество звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, свидетельствующих о повышении компенсаторных функций печени. Центральные вены и сосуды портальных трактов были не расширены.
2 место	ОМУ/ Ацетилцистеин	У половины крыс выявлялись обратимые дистрофические изменения гепатоцитов. Радиальность расположения печеночных трабекул вокруг центральных вен при этом сохранялась. В синусоидах между печеночными трабекулами определялось большое количество звездчатых ретикулоэндотелиоцитов. Центральные вены и сосуды портальных трактов были не расширены и без инфильтрации. У другой половины патологические изменения печени были более выраженными, хотя и сохранялась структура гепатоцитов вокруг портальных трактов. Наблюдалось множество гепатоцитов с пикнотичными ядрами. Центральные вены и окружающие синусоиды были кровенаполнены, рядом с ними выявлялись воспалительные инфильтраты.
3 место	ОМУ/ «Мексидол»	У большей части крыс этой группы патологические изменения печени были более выраженными, особенно в централобулярных зонах, хотя и сохранялась структура гепатоцитов вокруг портальных трактов. Местами выявлялся парциальный некроз цитоплазмы, в этих участках была нарушена балочная структура паренхимы печени. Большинство внутридольковых сосудов были расширены и кровенаполнены. Вокруг портальных трактов наблюдались обширные инфильтраты

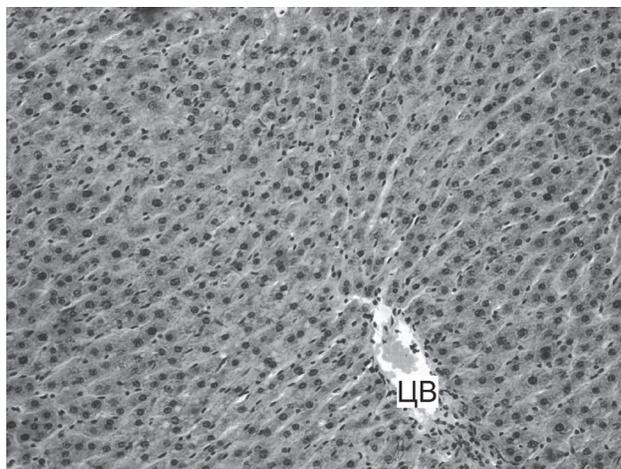


Рис.5. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с ацетилцистеином. Слабо выраженные дистрофические изменения гепатоцитов и сохранность радиальности расположения вокруг центральной вены (ЦВ). Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х200.

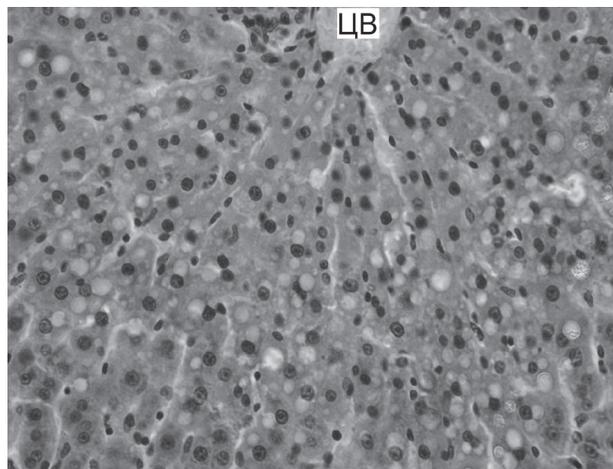


Рис.6. Структура паренхимы печени крыс при коррекции ОМУ в комбинации с ацетилцистеином. Дистрофические изменения гепатоцитов вокруг центральной вены (ЦВ), достигающие до парциального (частичного) некроза цитоплазмы и колликативного некроза клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х400.

сти: ОМУ/ «Тонарол» > ОМУ/ Ацетилцистеин > ОМУ/ «Мексидол». Возможно, это связано с более мощными цитопротекторными свойствами «Тонарола» и ацетилцистеина [10,13]. Кроме того, полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями, в которых было установлено, что применение ОМУ в условиях развития токсического повреждения печени, вызванного введением, в том числе, тетрахлорметана, оказывает благоприятный эффект только в составе комплексной терапии, включающей антидотные препараты – ацетилцистеин, α -токоферол, тонарол [17].

Заключение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, все изученные

комбинации препаратов в режиме профилактического введения проявляют неплохой гепатотропный эффект. Наибольший эффект установлен при коррекции ОМУ в комбинации с «Тонаролом». В порядке убывания гепатопротекторной активности исследованные комбинации препаратов можно расположить в следующей последовательности: ОМУ/ «Тонарол» > ОМУ/ Ацетилцистеин > ОМУ/ «Мексидол». Кроме того, проведенные исследования подтверждают перспективность дальнейшего экспериментального изучения совместного применения ОМУ с известными гепатопротекторами с целью поиска наиболее эффективных их комбинаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гепатопротекция с применением оксиметилурацила: Информационно-методическое письмо. В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, Э.Ф. Репина, А.Р. Гимадиева. Уфа; 2013; 11.
2. Мирсаев Т.Р. Гепатопротекторная активность оксиметилурацила. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Уфа; 2002.
3. Мышкин В.А., А.Б. Бакиров. Экспериментальная коррекция химических поражений печени производными пириимидина. Эффективность и механизм действия. Уфа; 2002.
4. Савлуков А.И. Коррекция химического поражения печени 1,3,6-триметил-5-гидроксисурацилом и оксиметилурацилом. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Уфа; 2002.
5. Кудояров Э.Р., Каримов Д.Д., Кутлина Т.Г., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Данилко К.В., Гимадиева А.Р., Бакиров А.Б. Изучение гепатопротекторной активности производных пириимидина in vitro. // Токсикологический вестник, 2019; 4: 38-42.
6. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р. Применение производных 6-метилурацила для повышения устойчивости организма в экстремальных условиях. Современная эколого-антропологическая методология изучения и решения проблем здоровья населения. Мат. междунар. межотрас. конф., посв. 25-летию чернобильской катастрофы. Казань; 2011. 192-196.
7. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р., Репина Э.Ф. Фармакологические подходы к разработке новой медицинской технологии повышения устойчивости к гипоксии. Гигиенические и медико-профилактические технологии управления рисками здоровью населения в промышленно развитых регионах. Мат. науч.-пр. конф. с междунар. уч.. Пермь; 2010. 525-528.
8. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Гепатопротекция с использованием оксиметилурацила. Профессиональные и экологические риски в медицине труда и экологии человека. Пути решения проблемы от теории к практике: материалы XVIII научно-практической конференции с международным участием «Гигиена, организация здравоохранения и профпатология» и семинара «Актуальные вопросы современной профпатологии». Новозузнец; 2013.
9. Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. и др. Актуальные направления применения мексидола. Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека: сб. тр. нац. науч.-пр. конф. Смоленск; 2001.
10. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксидант. Тюмень; 2007. 3-4.
11. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксидант. Тез. докл. V Междунар. конф. М; 2008. 1-2.
12. Морозова Т., Андрущишина Т. Ацетилцистеин в клинической практике. Врач, 2007; 12:37-38.
13. Regueira F. M. et al. Ischemic damage prevention by Acetylcysteine treatment of the donor before orthotopic liver transplant. Transplantation Proceedings. 1997; 29: 3347-3349.
14. Lheureux P., Even-Adin D., Askenasi R. Current status of antidotal therapies in acute human intoxications // Acta. Clin. Belg. – 1990; 13 (Suppl.): 29-47 (REP: 145).
15. Гонский Я.И., Корда М.М., Клиц И.Н. Влияние ацетилцистеина на антиоксидантную систему при экспериментальном токсическом поражении печени. Фармакология и токсикология. 1991; 54(5): 44-46.
16. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969.
17. Мышкин В.А., А.Б. Бакиров. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях. Уфа: Мир печати; 2010.

REFERENCES:

1. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F., Gimadiyeva A.R. Hepatoprotection using oxymethyluracil: Informational and methodological letter. Ufa; 2013; 11 (in Russian).
2. Mirsayev T.R. Hepatoprotective activity of oxymethyluracil. Abstract of the dissertation of a candidate of medical sciences. Ufa; 2002 (in Russian).
3. Myshkin V.A., A.B. Bakirov. Experimental correction of chemical lesions of the liver with pyrimidine derivatives. Efficiency and mechanism of action. Ufa; 2002 (in Russian).
4. Savlukov A.I. Correction of chemical damage to the liver by 1,3,6-trimethyl-5-hydroxyuracil and oxymethyluracil. Abstract of the dissertation of a candidate of medical sciences. Ufa; 2002 (in Russian).
5. Kudoyarov E.R., Karimov D.D., Kutlina T.G., Karimov D.O., Mukhammadieva G.F., Khusnutdinova N.Yu., Danilko K.V., Gimadiyeva A.R., Bakirov A.B. Research of hepatoprotective activity of pyrimidine derivatives in vitro. Toksikologicheskij vestnik. 2019. 4: 38 – 42 (in Russian).
6. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F., Gimadiyeva A.R. The use of 6-methyluracil derivatives to increase the body's stability under extreme conditions. In: Modern ecological and anthropological methodology for studying and solving public health problems: Materials of the international intersectoral conference dedicated to the 25th anniversary of the Chernobyl disaster. Kazan; 2011; 192-196 (in Russian).
7. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Gimadiyeva A.R., Repina E.F. Pharmacological approaches to the development of a new medical technology to increase resistance to hypoxia. In: Hygienic and medical-preventive technologies for managing public health risks in industrialized regions: Materials of a scientific and practical conference with international participation. Perm; 2010; 525-528 (in Russian).
8. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F. Hepatoprotection using oxymethyluracil. Occupational and environmental risks in occupational health and human ecology. Ways to solve the problem from theory to practice: materials of the XVIII scientific-practical conference with international participation "Hygiene, healthcare and occupational pathology" and the seminar "Actual issues of modern occupational pathology". Novokuznetsk; 2013 (in Russian).
9. Voronina T.A., Smirnov L.D., Dyumayev K.M. et al. Actual directions of mexidol use. In: Free radicals, antioxidants and human diseases: Proceedings of the National Scientific and Practical Conference. Smolensk; 2001 (in Russian).
10. Burlakova E.B. Bioantioxidant. Tyumen; 2007. 3-4 (in Russian).
11. Burlakova E.B. Bioantioxidant. Abstracts of 5th Int. Conf. Moscow; 2008. 1-2 (in Russian).
12. Morozova T., Andrushchishina T. Acetylcysteine in clinical practice. Vrach. 2007; 12:37-38 (in Russian).
13. Regueira F. M. et al. Ischemic damage prevention by acetylcysteine treatment of the donor before orthotopic liver transplant. Transplantation Proceedings. 1997; 29: 3347-3349.
14. Lheureux R., Even-Adin D., Askenasi R. Current status of antidotal therapies in acute human intoxications. Acta. Clin. Belg. 1990; 13 (Suppl.): 29-47.
15. Gonskiy YA.I., Korda M.M., Klits I.N. The effect of acetylcysteine on the antioxidant system in experimental toxic liver damage. Pharmacology and toxicology. Pharmacology and toxicology. 1991; 54(5): 44-46 (in Russian).
16. Merkulov G.A. Course of histopathological technology. Moscow: Meditsina; 1969 (in Russian).
17. Myshkin V.A., A.B. Bakirov. Oxidative stress and liver damage due to chemical influences. Ufa: Mir pechati; 2010 (in Russian).

E.F. Repina¹, D.O. Karimov¹, G.V. Timasheva¹, N.Yu. Khusnutdinova¹, L.A. Musina², A.R. Gimadiyeva³, S.S. Baigildin¹, D.A. Smolyankin¹, Ya.V. Valova^{1,4}

EXPERIMENTAL EVALUATION OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF OXYMETHYLURACIL IN COMBINATION WITH KNOWN MEDICINES (MEXIDOL, TONAROL, ACETYLCYSTEINE)

¹Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation

²All-Russian Centre of Eye and Plastic Surgery of the Russian Health Ministry, 450075, Ufa, Russian Federation

³Ufa Institute of Chemistry UFIC RAS, 450054, Ufa, Russian Federation

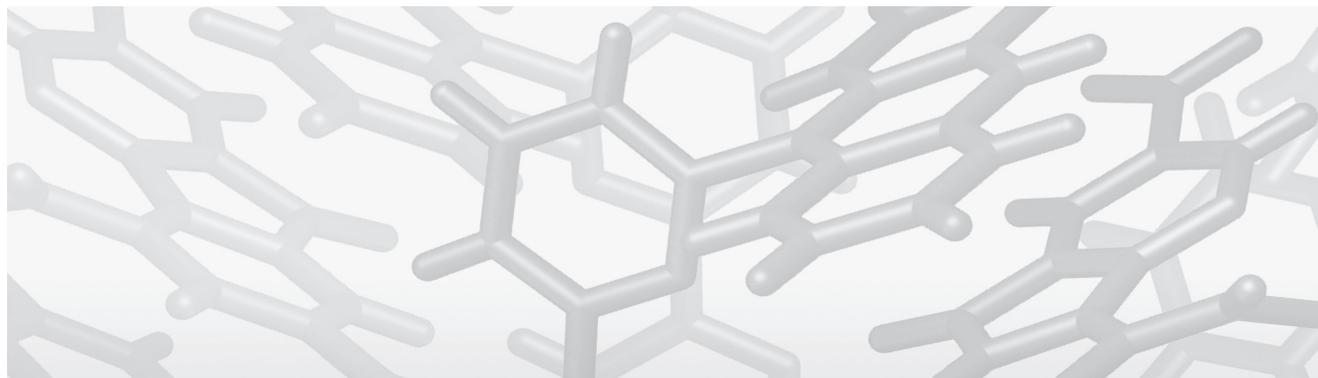
⁴Bashkir State University, 450076, Ufa, Russian Federation

The article presents the results of morphological changes in the liver of rats after acute liver injury induced by carbon tetrachloride and prophylactic correction of injuries by combinations of oxymethyluracil with different types of medical products: «Mexidol», «Tonarol» and Acetylcysteine. The best corrective effect was established after applying a combination of oxymethyluracil with «Tonarol». Thus, according to the results obtained, the studied drugs combinations can be arranged in the following sequence in accordance with decreasing of hepatoprotective activity: OMU / «Tonarol» > OMU / Acetylcysteine > OMU / «Mexidol».

Keywords: carbon tetrachloride, liver, morphological structure, correction, combination, oxymethyluracil, Mexidol, Tonarol, Acetylcysteine.

Quote: E.F. Repina, D.O. Karimov, G.V. Timasheva, N.Yu. Khusnutdinova, L.A. Musina, A.R. Gimadiyeva, S.S. Baigildin, D.A. Smolyankin, Ya.V. Valova. Experimental evaluation of hepatoprotective activity of oxymethyluracil in combination with known medicines (Mexidol, Tonarol, Acetylcysteine). Toxicological Review. 2020; 6:14-20

Материал поступил в редакцию 20.05.2020 г.



ПЕРЕСМОТР ПДК В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

Х.Х. Хамидулина^{1,2}, А.С. Радилов³, С.А. Дулов³,
А.В. Земляной³, П.П. Бельтюков³, Е.В. Вивуланец³,
С.А. Кучерской³, М.Ф. Шишонок³, Е.В. Тарасова¹,
А.С. Проскурина^{1,2}, А.Р. Егиазарян¹, И.В. Замкова¹, Е.В. Дорофеева¹,
Е.А. Ринчиндоржиева¹, Д.Н. Рабикова^{1,2}, С.А. Швыкина¹

¹Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, 121087, г. Москва, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 125993, г. Москва, Российская Федерация

³Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмолковский, Российская Федерация

Материалы собственных и зарубежных исследований показали отсутствие сенсibilизирующих свойств терефталевой кислоты, в связи, с чем возникла необходимость пересмотра действующего норматива и изменения класса опасности вещества. В целях обоснования величины гигиенического норматива терефталевой кислоты в воздухе рабочей зоны были использованы материалы Немецкого научно-исследовательского сообщества (DFG) по обоснованию величины максимально разрешенной концентрации (МАК) – аналог ПДК – в воздухе рабочей зоны. Рекомендуемая ПДКм.р. в воздухе рабочей зоны терефталевой кислоты – 5 мг/м³, смесь паров и аэрозоля, 3 класс опасности.

Ключевые слова: терефталевая кислота, сенсibilизация, воздух рабочей зоны.

Цит: Х.Х. Хамидулина, А.С. Радилов, С.А. Дулов, А.В. Земляной, П.П. Бельтюков, Е.В. Вивуланец, С.А. Кучерской, М.Ф. Шишонок, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина, А.Р. Егиазарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева, Е.А. Ринчиндоржиева, Д.Н. Рабикова, С.А. Швыкина. Пересмотр пдк в воздухе рабочей зоны терефталевой кислоты. Токсикологический вестник. 2020; 6:21-37

Хамидулина Халида Хизбулаевна (Khamidulina Khalida Khizbulaevna) - доктор медицинских наук; директор ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, профессор, заведующий кафедрой гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, director@rosreg.info

Радилов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich) - доктор медицинских наук, профессор, и.о. директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, radilov@rihophе.ru

Дулов Сергей Анатольевич (Dulov Sergey Anatolevich) - кандидат медицинских наук, заместитель директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, niigpech@rihophе.ru

Земляной Александр Васильевич (Zemlyanoy Alexander Vasilevich) - кандидат медицинских наук, зав. лабораторией № 61 ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, al-zem@yandex.ru

Бельтюков Петр Петрович (Belyukov Petr Petrovich) - кандидат медицинских наук, зав. лабораторией № 63 ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, belyukov@gpech.ru

Вивуланец Елена Валериевна (Vivulanets Elena Valerievna) - кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, vivulanets@gpech.ru

Кучерской Семен Александрович (Kucherskoy Semen Alexandrovich) - младший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, seamen20@list.ru

Шишонок Максим Федорович (Shishonok Maxim Fedorovich) - младший научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 8ambulance@mail.ru

Тарасова Елена Владимировна (Tarasova Elena Vladimirovna) - кандидат химических наук, химик-эксперт ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Проскурина Ангелина Сергеевна (Proskurina Angelina Sergeevna) - врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, ассистент кафедры гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, proskurina-as@rosreg.info

Егиазарян Анна Рафаеловна (Egiazaryan Anna Rafaelovna) - кандидат биологических наук; заместитель директора ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Замкова Ирина Валентиновна (Zamkova Irina Valentinovna) - врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Дорофеева Екатерина Валентиновна (Dorofeeva Ekaterina Valentinovna) - начальник информационно-аналитического отдела ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Ринчиндоржиева Екатерина Анатольевна (Rinchindorzheva Ekaterina Anatolevna) - врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Рабикова Динара Нуруллаевна (Rabikova Dinara Nurullaevna) - врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, ассистент кафедры гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, secretary@rosreg.info

Швыкина Светлана Александровна (Shvykina Svetlana Aleksandrovna) - начальник организационно-методического отдела ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, secretary@rosreg.info

Введение. Теревталевая кислота (ТФК, 1,4-бензолдикарбоновая кислота, $C_8H_6O_4$, CAS 100-21-0) используется в синтезе полиэтилентерефталата, полиамидов, производстве пластмасс, синтетических волокон. Высокая потребность рынка в полимерной продукции способствует стремительному развитию производства терефталевой кислоты. Современные данные о сенсibiliзирующем действии терефталевой кислоты свидетельствуют об отсутствии данного эффекта. Между тем, гигиенический норматив в воздухе рабочей зоны установлен в 70-е годы на уровне $0,1 \text{ мг/м}^3$, смесь паров и аэрозоля, 1 класс опасности, с лимитирующим показателем опасности «А» - вещества, способные вызывать аллергические заболевания в производственных условиях [1]. Терефталевая кислота внесена в Перечень №3 «Перечень высокоопасных аллергенов» (Приложение № 3 к Методике проведения специальной оценки условий труда, утвержденной приказом Министерства труда и социальной защиты РФ от 24 января 2014 г. № 33н).

Противоречивые данные об аллергических свойствах вещества послужили основанием для проведения научно-исследовательской работы по оценке сенсibiliзирующего действия и последующего пересмотра величины гигиенического норматива [6].

Материалы и методы исследования. В целях оценки опасности терефталевой кислоты были использованы аналитические, прогностические и экспериментальные методы исследования.

Аналитические методы

Сбор данных по токсичности и опасности осуществлялся с использованием следующих источников информации: базы данных Европейского Химического Агентства (ЕСНА), Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР), Национальной медицинской библиотеки США (PubChem), Регистр токсических эффектов химических веществ Канадского центра гигиены и безопасности труда (RTECS), Немецкого научно-исследовательского общества (DFG), Федерального регистра потенциально опасных химических и биологических веществ, АРИПС «Опасные вещества».

Проведен анализ данных по острой, субхронической и хронической токсичности терефталевой кислоты при различных путях поступления в организм; специфическим и отдаленным эффектам [3, 7, 8, 9, 10, 11, 14].

Прогностический метод

Оценка кожной сенсibiliзации терефталевой кислоты была выполнена с помощью программы OECD QSAR Toolbox версия 4.3.1, позволяющей посредством методов математической ста-

тистики предсказывать свойства химических веществ, в том числе токсикологические, опираясь на структуру вещества [12, 13].

Экспериментальные методы

Химико-аналитическое исследование образца ТФК выполняли на хромато-масс-спектрометрическом приборном комплексе с жидкостным хроматографом – Dionex Ultimate 3000, диодно-матричном детекторе DAD 3000 и масс-спектрометре – TSQ Quantum Access Max, фирмы Thermo Scientific (США). Было установлено, что исследуемый образец представляет собой бесцветный кристаллический порошок без специфического запаха, что совпадает с внешним видом стандарта. В работе использовали стандарт терефталевой кислоты: Sigma-Aldrich с чистотой 98% (lot: BCBV5313).

Эксперименты выполнены на морских свинках (массой тела 250-300 г), белых крысах популяции Wistar (массой тела 200–225 г), мышках линии Balb/c (массой тела 18–20 г), полученных из питомника «Рапполово» РАН, пос. Рапполово, Всеволожский район, Ленинградская область.

Содержание и кормление лабораторных животных осуществляли в соответствии с «Методическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений» (РД-АПК 3.10.07.02-09 от 15.12.2009), в соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (СП 2.2.1.3218-14 от 29.08.2014), по ГОСТ 33216-2014 (Межгосударственный стандарт) «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», а также по ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур».

Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативам, приведенным в руководстве «Guide for care and use of laboratory animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press)», Национальном стандарте РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и согласованы с этическим комитетом при ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России. Все процедуры по рутинному уходу за животными выполняли в соответствии с СОП «ВИВ 3» лаборатории.

Перед началом проведения эксперимента, животные, отвечающие соответствующим критериям включения в исследования, были распределены на группы с помощью метода рандомизации.

Животные были распределены на группы, каждая из которых включала 10 особей. Идентификацию животных осуществляли в соответствии с ГОСТ 33215-2014, п.6.13.

Срок наблюдения за экспериментальными животными составлял 14 суток [6].

Методы сенсибилизации

Оценку аллергоопасности ТФК проводили с использованием методов экспресс-сенсибилизации морских свинок, мышей, крыс: при накожном, внутрикожном и интратрахеальном (крысы) путях поступления в организм.

Предварительно проводились исследования раздражающего действия рабочих растворов ТФК - подбор тестирующей концентрации.

Подбор тестирующей концентрации для проведения капельной пробы (КП)

Для проведения кожной капельной пробы предварительно проводили подбор тестирующей концентрации ТФК на группе морских свинок (6 особей). Для этого на боковых поверхностях туловища животного выстригали шерсть на 4 участках размером 1x1 см, разделенных полосками шерсти. На каждый участок наносили по 3 капли (150 мкл) ТФК в разведениях 1,5%; 7,5%; 15% на каждый участок. В качестве растворителя использовали диметилсульфоксид. При этом один из участков кожи был контрольным, на который наносили растворитель - диметилсульфоксид.

В качестве тестирующей концентрации выбирали максимальную, нанесение которой на кожу морских свинок не вызывало реакцию раздражения (эритемы, опухания) через 24 часа. Учет реакции кожи оценивали визуально.

Приготовление растворов

Для получения растворов с рабочими концентрациями (1,5, 7,5 и 15%) готовили 15%-ный раствор ТФК в ДМСО. С этой целью 3 грамма ТФК смешивали с ДМСО в пластиковой или стеклянной посуде таким образом, чтобы конечный объем смеси составлял 20 мл. Растворение ТФК осуществляли при нагревании до 60-65°C. Полученный раствор имел концентрацию ТФК 15% (w/v).

Для получения растворов с концентрацией 7,5 и 1,5% полученный раствор 2разбавляли растворителем (ДМСО) в 2 и в 10 раз, соответственно.

Подбор тестирующей концентрации для проведения эпикутанных аппликаций

Для проведения эпикутанных аппликаций предварительно проводили подбор тестирующей концентрации ТФК на группе морских свинок (8 особей). Для этого на боковых поверхностях туловища животного выстригали шерсть на 4 участках размером 2x2 см, разделенных полосками шерсти. В течение 10 дней (по 5 раз в неделю) наносили по 3 капли ТФК в разведениях (1,5%; 7,5%; 15%) на каждый участок. В качестве растворителя использовали диметилсульфоксид. При этом один из участков кожи был контрольным, на который наносили растворитель диметилсульфоксид.

Для сенсибилизации выбирали максимальную концентрацию, не вызвавшую развития контактного дерматита через 10 суток. Учет реакции кожи оценивали визуально.

Внутрикожная сенсибилизация морских свинок

В эксперименте использовали 40 морских свинок, разделенных на 3 опытных и одну общую контрольную группы по 10 животных в каждой. Животных опытных групп сенсибилизировали, вводя однократно в кожу наружной поверхности уха ближе к его основанию 50 мкг (1-я опытная группа), 200 мкг на животное (2-я опытная группа) и 500 мкг на животное (3-я опытная группа) ТФК в объеме 0,1 мл. В качестве растворителя применяли диметилсульфоксид. Контрольным животным вводили 0,1 мл ДМСО.

Выявление сенсибилизации проводили через 8 суток с помощью провокационной пробы *in vivo* (КП) и *in vitro* (реакцию специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ)). Кроме того, выполняли клинический анализ крови и оценивали уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Приготовление растворов для внутрикожного введения морским свинкам

Для однократного внутрикожного введения использовали растворы ТФК в ДМСО, содержавшие 50, 200 и 500 мкг в 100 мкл раствора, что соответствует 0,05%, 0,2% и 0,5% растворам ТФК в ДМСО.

Комбинированная сенсибилизация морских свинок

Для окончательного решения о наличии аллергенных свойств ТФК, через сутки после окончания внутрикожной сенсибилизации, (всем группам морских свинок) на боковой поверхности туловища выстригали шерсть размером 2x2 см и наносили эпикутанные аппликации - 150 мкл ТФК в максимальной концентрации, определенной ранее.

После 7-й аппликации повторно проводили тестирование морских свинок с помощью провокационной пробы *in vivo* (КП), выполняли клинический анализ крови и оценивали уровень ЦИК. Учет реакции кожи оценивали визуально.

Многokrатные эпикутанные аппликации на морских свинках

В эксперименте использовали 20 морских свинок: 10 опытных и 10 контрольных животных в каждой. На боковой поверхности туловища выстригали шерсть размером 2x2 см и наносили эпикутанные аппликации - 150 мкл ТФК в максимальной концентрации, определенной ранее ежедневно в течение 20 дней. Учет реакции кожи оценивали визуально.

Выявление сенсибилизации проводили через 1 сутки после окончания аппликаций с помощью провокационной пробы *in vivo* (КП) и *in vitro*

(РСЛЛ). Кроме того, выполняли клинический анализ крови и оценивали уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Определение ГЗТ на мышах

В эксперименте использовали 20 самцов и 20 самок мышей чистой линии BALB/C, массой 18-20 г, разделенных на 2 опытные (обою пола) и 2 контрольные группы (обою пола). Опытным мышам вводили 100 мкг ТФК в 60 мкл однократно внутривенно в основание хвоста. Сенсибилизирующая доза вещества эмульгировалась в 60 мкл смеси полного адьюванта Фрейнда и раствора Хенкса рН 7,5, приготовленной в соотношении 1:1. Контрольным животным вводили 60 мкл данной смеси без добавления ТФК.

Выявление сенсибилизации проводили через 5 суток с помощью провокационной пробы *in vivo* (ТОЛ).

Приготовление растворов для выполнения исследования ГЗТ на мышах

Для приготовления сенсибилизирующей смеси готовили навеску ТФК из расчета 100 мкг на одно животное. Для группы из 10 животных 1,5 мг предварительно измельченной в ступке ТФК смешивали с 900 мкл заранее приготовленной смеси полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) и солевого раствора Хенкса (рН 7,5) (1:1). Полученную смесь тщательно перемешивали путём шприцевания до получения однородной суспензии.

В качестве контрольного раствора использовали смесь ПАФ и солевого раствора Хенкса (рН 7,5) (1:1).

Подбор тестирующей концентрации ТФК при кожном нанесении у крыс для проведения теста опухания уха (ТОУ)

Для проведения теста опухания уха у 24 крыс предварительно проводили подбор тестирующей концентрации ТФК (0,1%; 1%; 5%; 15%) на 4 группах крыс, по 6 животных в каждой. Для этого на обе поверхности 1 уха животного на наносили 25 мкл раствора ТФК, на другое - 25 мкл растворителя ДМСО. Через 24 часа повторно измеряли толщину уха опытного и контрольного уха до и после аппликации.

В качестве тестирующей концентрации выбирали максимальную, нанесение которой на ухо не вызывало реакцию раздражения, эритемы, опухания более 0,03 мм.

Интратрахеальная сенсибилизация белых крыс

В эксперименте использовали 2 опытные группы белых крыс (по 10 самцов в каждой) и 1 контрольную группу (10 животных). Крысам опытных групп вводили в трахею 1,0 мл суспензии ТФК однократно в дозах 50 и 10 мг на подогретом до 37 °С физиологическом растворе. Животным контрольной группы вводили 1,0 мл физиологического раствора.

Для этого крысу фиксировали в вертикальном положении, вводили в ротовую полость металлический зонд, закрепленный на шприце с соответствующей дозой суспензии, проводили его по передней стенке гортани через голосовую щель до упора в бифуркацию трахеи, слегка приподнимали зонд и осуществляли введение. После введения животное продолжали держать в вертикальном положении на протяжении нескольких дыхательных движений. При этом хрипы и хлюпающий звук подтверждали проникновение суспензии в легкие.

Выявление сенсибилизации проводили через 5 суток с помощью провокационной пробы *in vivo* (ТОУ) и *in vitro* (РСЛЛ).

В силу широкой вариабельности показателей лейкоцитарного роста у крыс, клинический анализ крови выполняли 2 раза: до проведения интратрахеальной сенсибилизации у крыс и после интратрахеальной сенсибилизации. Кроме того, оценивали уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

О состоянии подопытных животных судили по комплексу физиологических, гематологических и биохимических показателей, позволяющих выявить изменения на различных структурно-функциональных уровнях организма.

Исследование гематологических показателей проводили на автоматическом анализаторе Coulter LH 500 (Beckman Coulter Inc., США).

Определяли следующие параметры крови: общее количество эритроцитов, $10^{12}/л$ – RBC; концентрация гемоглобина, г/л – HGB; гематокрит, л/л – HCT; средний объем эритроцита, $мкм^3$ – MCV; среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг – MCH; средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л – MCHC; показатель гетерогенности эритроцитов, % – RDW; общее количество лейкоцитов, $10^9/л$ – WBC; количество лимфоцитов, $10^9/л$ – LY; количество нейтрофилов, $10^9/л$ – Ne; количество моноцитов, $10^9/л$ – MO; количество эозинофилов, $10^9/л$ – EO; количество базофилов, $10^9/л$ – BA; содержание лимфоцитов, % LY%; содержание нейтрофилов, % – Ne%; содержание моноцитов, % – MO%; содержание эозинофилов, % – EO%; содержание базофилов, % – BA%; общее количество тромбоцитов, $10^9/л$ – PLT, средний объем тромбоцита, $мкм^3$ – MPV.

Биохимические показатели сыворотки крови животных определяли на автоматизированном клиническом анализаторе SAPPHERE-400 (Tokyo Boeki Ltd., Япония).

В сыворотках крови морских свинок определены следующие биохимические показатели: аланин-трансаминаза (АЛТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), лактат, мочевины, мочевиная кислота, креатинин, общий белок, гамма-глутамил-трансаминаза (ГГТ), альбумин, трансферрин, молочная

Таблица 1

Классификация веществ по силе аллергенной активности

Метод сенсibilизации	Классы аллергенной активности					
	по частоте развития сенсibilизации			по уровням значимости отличий среднегрупповых показателей в опытных и контрольной группах		
	1	2	3	1	2	3
Морские свинки 200 мкг	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤ 0,05	≤ 0,05	>0,05
в кожу уха 50 мкг	>5 из 10	≤5 из 10	0	≤ 0,05	>0,05	-
Морские свинки комбинированно	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤ 0,05	≤ 0,05	>0,05
Морские свинки эпикутанно	>5 из 10	>5 из 10	≤5 из 10	≤ 0,05	≤ 0,05	>0,05
Мыши в кожу основания хвоста	не учитывают			≤ 0,05	≤ 0,05	>0,05

кислота, холестерин, липопротеины высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), триглицериды (ТГ), неэстерифицированные жирные кислоты (НЭЖК).

Исследование уровней ЦИК выполняли на спектрофотометре DU 730 (Beckman Coulter Inc., США).

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием непараметрических методов анализа. Оценку значимости различий между группами осуществляли с использованием критерия Манна-Уитни (U). При отклонении распределения от нормального определяли медиану и крайние величины диапазона экспериментальных величин. В случае подтверждения нормальности распределения использовали однофакторный дисперсионный анализ с последующей оценкой статистической значимости различий между экспериментальными группами с использованием t-теста Стьюдента. Для статистической обработки использовали программный пакет «GraphPad PRISM 5.0» [6].

При проведении исследований оценивали частоту развития сенсibilизации и ее интенсивность по среднегрупповым показателям всех использованных провокационных и специфических аллергологических тестов. Класс аллергенной активности ТФК определяли по таблице 1. К 1-му классу относятся сильные, ко 2-му – умеренные и к 3-му классу – слабые аллергены.

В случае различия эффекта по частоте проявления сенсibilизации и величинам среднегрупповых показателей различных провокационных тестов и /или специфических аллергологических тестов, аллергенную активность ТФК оценивали по наиболее выраженному показателю [6].

Результаты и обсуждение

Аналитические методы

Оценка токсичности и опасности терефталевой кислоты при однократном воздействии:

- по параметрам острой токсичности при внутривенном поступлении в организм относится к 3 классу опасности, умеренно опасные вещества (DL_{50} 1960 – 18800 мг/кг, крысы; 1470 - 6400 мг/кг, мыши);
- при кожном поступлении относится к 4 классу опасности, малоопасные вещества ($DL_{50} > 2500$ мг/кг, кролики);
- максимально достижимая концентрация (CL_0) 2020 мг/м³ при ингаляции в течение 4 часов не вызывала гибели животных, что позволяет отнести вещество к 4 классу опасности, малоопасные вещества.

Клиническая картина острого отравления терефталевой кислотой включает в себя симптомы раздражения верхних дыхательных путей, двигательное возбуждение, сменяющееся угнетением, снижение артериального давления, тошноту, рвоту. [3, 4, 7, 8, 9, 11].

Подострая, субхроническая и хроническая токсичность:

- пероральное введение: 2000-4000 мг/кг, 10 дней, крысы - отсутствие изменения активности холинэстеразы (ХЭ) сыворотки крови и патоморфологических изменений во внутренних органах; 500 мг/кг, 35-39 дней, крысы – отсутствие признаков интоксикации; 1000 мг/кг, 10 дней, мыши - сохранение выносливости к динамической нагрузке;
- в хроническом эксперименте показано, что при введении 0,125 и 15 мг/кг у крыс не отмечено никаких отклонений условно-рефлек-

торной деятельности и изменений в гистологическом строении внутренних органов [5].

В ингаляционном исследовании на крысах Sprague Dawley, подвергавшихся воздействию концентрации до 3,31 мг/м³ аэрозоля терефталевой кислоты, у животных наблюдалась зависящая от концентрации минимальная дегенерация эпителия трахеи при самой низкой концентрации 0,52 мг/м³. В респираторном эпителии трахеи наблюдалось уменьшение количества реснитчатых клеток и незначительная гиперплазия. Тяжесть изменений не увеличивалась с возрастанием концентрации, хотя частота встречаемости возрастала. Отмечено, что изменения наблюдались только в трахее, но не в носовой полости.

28-дневное ингаляционное исследование на крысах Sprague Dawley (10 самцов и 10 самок в каждой группе) проводилось с использованием аэрозоля терефталевой кислоты в концентрации 1, 3 и 10 мг/м³ со средним диаметром частиц 3,25 мкм, 2,87 или 2,94 мкм. Животные подвергались воздействию только через нос. Дополнительная группа из 5 самцов и 5 самок из группы контроля, получавшей наивысшую концентрацию, наблюдалась в течение 14 дней после экспозиции, а затем была обследована. У животных, подвергшихся воздействию, не было обнаружено никаких специфических признаков. У животных, обследованных непосредственно в конце исследования и у тех, которые наблюдались после воздействия, не было обнаружено влияния на массу тела, потребление корма или воды, двигательную активность, температуру тела, рефлексы и гематологические параметры. Клинико-химические исследования выявили едва заметное различие: снижение содержания ХЭ в крови у самцов, но не у самок, подвергшихся воздействию самой высокой дозы. Анализ мочи и патологические исследования не выявили никаких изменений, связанных с воздействием вещества. Таким образом, изменения трахеи, оцененные ранее как незначительное отклонение от нормы, после воздействия максимально испытываемой концентрации 3,31 мг/м³, не были подтверждены.

Повторный внутрижелудочный прием высоких доз (не менее 1000 мг/кг/сут.) в основном приводил к поражению почек и мочевыводящих путей. Это связано с осаждением кристаллов терефталевой кислоты в моче сразу же после превышения предела растворимости, что приводит к механическому повреждению мочевыводящих путей и мочевого пузыря [14].

Воздействие на кожу и слизистые оболочки

а) Кожа. После 24-часовой экспозиции на выстриженном участке боковой поверхности спины кроликов терефталевая кислота вызывала незначительную эритему у 6 из 10 животных, которая быстро исчезала. В конце 14-дневного периода

наблюдения гистопатологическое исследование не выявило изменений. Таким образом, терефталевая кислота вызывает незначительное раздражение.

б) Глаза. При внесении 100 мг терефталевой кислоты в конъюнктивальный мешок глаза кролика через 24 ч. после контакта выявлена слабая эритема, полностью исчезающая через 2-4 дня. [3, 7, 11, 14].

Репродуктивная и развивающая токсичность

Воздействие на функцию воспроизводства не установлено в различных экспериментах. В результате исследования, проведенного на крысах согласно директиве OECD TG № 416 «Оценка репродуктивной токсичности на 2-х поколениях» при внутрижелудочном пути поступления с кормом в дозах 1000, 5000, 20000 ppm не обнаружено влияния на репродуктивную функцию. В эксперименте OECD TG № 414 «Оценка токсического действия на пренатальное развитие» при ингаляционном поступлении в организм крыс 1, 5 и 10 мг/м³ с 6 по 15 дни беременности не выявлено тератогенного действия.

Согласно данным OECD SIDS, исследование репродуктивной токсичности на одном поколении крыс не выявило отрицательного воздействия на параметры фертильности и развитие плода.

Пренатальное исследование развивающей токсичности, проведенное при ингаляционном пути поступления терефталевой кислоты в организм крыс, не выявило ни материнской токсичности, ни токсичности для развития при самых высоких концентрациях воздействия 9 и 10 мг/м³ соответственно [7, 9, 11, 14].

Генотоксичность

Терефталевая кислота не индуцировала мутаций на Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA102, TA1535 или TA1537 в присутствии или отсутствии метаболической системы активации. Кроме того, не вызывала хромосомных аберраций в клетках яичников китайского хомяка (СНО) в присутствии или отсутствии метаболической системы активации. Отрицательный результат был получен в микроядерном тесте, проведенном на самцах мышей после внутрибрюшинной инъекции 3,3; 16,6; 83,1; 415,4 или 2077 мг/кг массы тела [14].

Данные о генетической токсичности терефталевой кислоты также были рассмотрены независимым Комитетом правительства Великобритании по мутагенности (СОМ). На основании имеющихся данных СОМ пришел к выводу, что два исследования генотоксичности in vivo, в которых получен отрицательный результат, были адекватными и указал, что терефталевая кислота не является мутагеном in vivo [7].

Исследования OECD SIDS по мутагенности в условиях «in vitro» с использованием теста Эймса, цитогенетического анализа, а также в условиях «in vivo» на эритроцитах мышей показали отрицательные результаты [9].

Национальный институт технологий и развития Японии не классифицирует терефталевую кислоту как мутаген на основании отрицательных результатов, полученных в микроядерных тестах в условиях «in vivo» [10].

Канцерогенность

Превышение предела растворимости терефталевой кислоты привело к ее кристаллизации в моче, вследствие чего вызванное кристаллами механическое раздражение индуцировало развитие новообразований мочевыводящих путей. Поскольку эффект был механический и никаких других опухолей вещество не вызывало, терефталевая кислота не признана канцерогеном [14].

Доказательства канцерогенности для животных были признаны ЕСНА вторичными по отношению к мочекаменной болезни, вызванной высоким уровнем поступления терефталевой кислоты, в связи с чем предложено не классифицировать терефталевую кислоту по данному виду воздействия [7].

Двухлетние исследования канцерогенности, проводимые OECD, при внутрижелудочном по-

ступлении в организм крыс показали увеличение образования почечных камней, гиперплазию мочевого пузыря и образование опухолей у животных. Эти эффекты проявлялись в дозах 2% и выше терефталевой кислоты в рационе. Считается, что опухоли мочевого пузыря являются результатом повреждения уротелия в результате образования камней, а потому неспецифичны [9].

Сенсибилизирующее действие

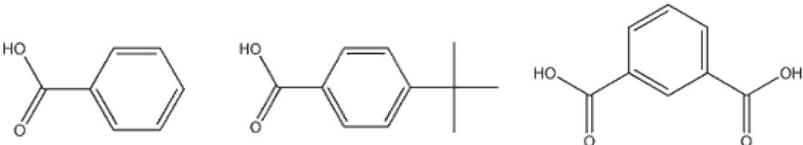
Исследования кожной сенсибилизации с использованием метода тестирования OECD TG № 406 «Кожная сенсибилизация» на морских свинках продемонстрировали отсутствие эффекта. По данным Национального института технологий и развития Японии в эпидемиологических исследованиях на людях в условиях производства терефталевой кислоты сенсибилизирующее действие не выявлено [7, 10].

Прогностический метод

Оценка кожной сенсибилизации терефталевой кислоты выполнена с помощью программы QSAR Toolbox версия 4.3.1. с использованием метода аналогий в автоматизированном и стандартизированном вариантах. Сводная информация по расчету кожной сенсибилизации представлена в табл.2.

Таблица 2

Сводная информация по расчету кожной сенсибилизации

Рассчитываемый параметр	EC3, сенсибилизация кожи Skin Sensitisation, in vivo, LLNA, EC3
Единица измерения/шкала	Skin sensitisation II (ECETOC) (Программа преобразует все известные результаты по аналогам в шкалу наличие кожной сенсибилизации – отсутствие кожной сенсибилизации, степень выраженности эффекта не учитывается)
Метод заполнения информационных пробелов	Read-across analysis, automated workflow for Skin sensitization
Профили, используемые для группировки/подкатегоризации	Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS Protein binding potency GSH Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS with Autoxidation simulator Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS with Skin metabolism simulator Keratinocyte gene expression Organic functional groups, Norbert Haider Organic functional groups (US EPA) Structure similarity
Аналоги (Выбраны программой для расчета)	
Результат	Отсутствие кожной сенсибилизации

Экспериментальные методы

Определение растворимости ТФК для приготовления рабочих растворов

Терефталевая кислота обладает крайне низкой растворимостью в воде, поэтому приготовление растворов вещества возможно с использованием ДМСО до достижения необходимых концентраций в случае выбора для исследования водного раствора исследуемого соединения.

Проведена экспериментальная оценка растворимости ТФК при использовании маточного раствора, которая показала, что максимальная концентрация ТФК при полном растворении в 99,5% ДМСО не превышает 15%. Разбавление полученного раствора водой или физиологическим раствором приводило к немедленному осаждению ТФК из раствора. Нагревание показало, что растворимость ТФК повысилась до 20 мг/л в 1% растворе ДМСО. Раствор в этих условиях оставался стабильным при охлаждении до комнатной температуры. Согласно полученным данным растворимость терефталевой кислоты в воде не превышает (при 20°C 0,015 г/л) при 25°C 0,019 г/л, таким образом, растворимость ТФК при комнатной температуре при разных концентрациях ДМСО (в пределах допустимых значений (не более 1-10%), позволяющих проводить экспериментальную оценку эффектов вещества на клетках) составит от 20 мг/л (для 1% ДМСО) до 48 мг/л (для 10% ДМСО).

Следует учесть, что 10% ДМСО обладает собственным цитотоксическим эффектом, обусловленным выраженной способностью нарушать состояние клеточных мембран.

Учитывая, что растворимость ТФК в водной среде определяет максимальную концентрацию данного соединения в водной фазе при взаимодействии с клетками, для выполнения экспериментов по оценке действия ТФК в экспериментах *in vitro*, при оценке спонтанного лизиса лейкоцитов, целесообразно использовать раствор ТФК 20 мг/л, что составляет 0,12 мМ.

В экспериментах *in vivo* рекомендуемые дозы для сенсibilизации составляют 50-200 мкг, что при определенной экспериментальной растворимости ТФК можно достичь только путём введения 2,5-10 мл раствора в 1% ДМСО. Введение такого объема препарата в зону уха невозможно в силу ограничений по рекомендуемым объемам введения препаратов морским свинкам (до 5 мл/кг, т.е. примерно 1,25 мл на однократное подкожное введение при массе 250 г).

Таким образом, достигнуть требуемого максимального уровня доз (до 500 мкг) в экспериментах по сенсibilизации возможно только при использовании раствора ТФК в ДМСО (в концентрации до 15%) [6].

Изучение раздражающего действия ТФК

Диагностическая ценность кожных проб во многом зависит от правильного подбора концентраций тест-аллергена. Оптимальная концентрация не должна оказывать раздражающего действия, но должна быть достаточной для проникновения надпороговой дозы антигена.

Подбор тестирующей концентрации для проведения КП показал отсутствие на коже морских свинок реакции раздражения (эритемы, опухания) через 24 часа в разведениях 1,5%; 7,5%; 15% ТФК. В качестве тестирующей концентрации для дальнейших исследований была выбрана максимальная - 15% раствор ТФК.

Результат подбора тестирующей концентрации для эпикутаных аппликаций ТФК в разведениях 1,5%; 7,5%; 15% показал, что после третьей аппликации на всех участках кожи, во всех исследованных концентрациях растворов ТФК, у морских свинок наблюдалось образование корок.

Под корками не наблюдалось признаков воспаления и отека кожи. Корки аккуратно смывали теплой водой, сушили и продолжали нанесение растворов.

Через 10 суток отсутствие реакции раздражения (эритемы, опухания) на коже морских свинок позволило выбрать в качестве тестирующей концентрации максимальную - 15% раствор ТФК для дальнейших исследований.

Для проведения провокационного теста опухания уха у крыс был проведен подбор тестирующей концентрации ТФК в разведениях (0,1%; 1%; 5%; 15%). Нанесение растворов ТФК в исследованных концентрациях на уши у 4 групп животных не вызывало реакцию раздражения (эритемы, опухания) через 24 часа. Таким образом, для проведения ТОУ выбрали максимальную концентрацию - 15% раствор ТФК [6].

Результаты исследований внутрикожной сенсibilизации морских свинок

Полученные результаты показали, что в месте внутрикожного введения растворов (основание уха) ТФК в дозах 50, 200 и 500 мкг (указанных в МР) у морских свинок обнаруживался локальный некроз с воспалительным валиком по периферии, практически у всех животных.

Кроме того, подобные изменения наблюдались и в контрольной группе с введением раствора ДМСО, однако данный эффект регистрировали в меньшем количестве (табл. 3).

Локальный некроз в контрольной группе животных обусловлен индивидуальной чувствительностью морских свинок к токсическому действию растворителя ДМСО.

Во всех опытных группах у морских свинок, наблюдали более выраженное проявление токсического и раздражающего эффекта, что обусловлено суммацией раздражающего эффекта растворителя (ДМСО) и токсического эффекта,

Таблица 3

Токсический эффект в/к введения растворов ТФК и ДМСО у морских свинок

Эффект у животного	Частота встречаемости			
	Контрольная ДМСО	Опытная 50 мкг ТФК	Опытная 200 мкг ТФК	Опытная 500 мкг ТФК
Локальный некроз в месте введения	4/10	8/10	9/10	9/10

Таблица 4

Результаты РСЛЛ у морских свинок после в/к сенсибилизации

Показатель	Группы			
	Опытная в/к 50 мг ТФК	Опытная в/к 200 мг ТФК	Опытная в/к 500 мг ТФК	Контроль в/к ДМСО
Лизис лейкоцитов, %	1,9±0,9	2,8±1,2	8,9±1,0*	1,62±0,5

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ДМСО при $p \leq 0,05$.

растворенной в нем ТФК. Наблюдаемые накожные изменения практически не зависели от дозы самого вещества: в дозе 50 мкг и 500 мкг, количество некрозов наблюдалось у 8 из 10 и соответственно у 9 из 10 морских свинок.

Дальнейшее проведение РСЛЛ (внесение ТФК в пробирку) и сравнение результатов образцов крови у опытных и контрольной группы выявило максимальный уровень лизиса лейкоцитов в группе, получившей 500 мкг ТФК (табл.4).

Результаты исследований показали достоверное повышение лизиса лейкоцитов в группе, получившей 500 мкг ТФК (по сравнению с контрольной группой), однако, данное превышение расценивается как отрицательная реакция ввиду того, что положительной считается (согласно МР) реакция, в которой лизис лейкоцитов после инкубации со специфическим антигеном составляет 10 и более процентов.

Проведение капельной пробы у морских свинок не выявило видимых патологических кожных изменений (эритемы, отека и др.) через 24 часа у морских свинок во всех экспериментальных группах.

Таким образом, при внутрикожной сенсибилизации морских свинок в диапазоне исследованных доз ТФК проведенный тест КП показал отрицательный результат.

Через сутки после проведения капельной пробы у морских свинок выполняли клинический анализ крови, который показал отсутствие до-

стоверных различий показателей в опытных и контрольной группах.

Результаты клинического анализа крови показали отсутствие статистически значимых у всех опытных групп по сравнению с контрольной группой, получившей ДМСО внутрикожно.

У всех групп животных был проведен анализ образцов крови на наличие циркулирующих иммунных комплексов, который выявил достоверное повышение количества ЦИК в группе, получившей в/к введение растворителя ДМСО, по сравнению с интактным контролем (табл. 5).

Однако результаты определения количества ЦИК во всех экспериментальных группах, получивших в/к растворы ТФК, не выявили статистически значимой разницы количества ЦИК по сравнению с контрольной группой, получившей растворитель ДМСО.

Таким образом, в результате проведения внутрикожной сенсибилизации, тестов провокации на морских свинках не выявлены эффекты сенсибилизации ТФК и не выявлена его аллергенная активность [6].

Результаты исследований комбинированной сенсибилизации морских свинок

Для окончательного решения о наличии аллергенных свойств у ТФК, через сутки после окончания внутрикожной сенсибилизации, продолжили эпикутантные аппликации 15% раствором ТФК, концентрацию которого определили ранее в ходе изучения его раздражающего дей-

Таблица 5

Количество ЦИК после в/к сенсибилизации и провокации ТФК у морских свинок

Показатель, ед. у.е.	Группы				
	Опыт в/к 50 мкг ТФК	Опыт в/к 200 мкг ТФК	Опыт в/к 500 мкг ТФК	Контроль в/к ДМСО	Интактный контроль
ЦИК	0,281±0,164	0,335±0,145	0,251±0,105	0,312±0,061*	0,096±0,048

Таблица 6

Количество ЦИК после комбинированной сенсибилизации у морских свинок

Показатель, ед. у.е.	Группы животных				
	50 мкг ТФК+ эпикут. 15% ТФК	200 мкг ТФК+ эпикут. 15% ТФК	500 мкг ТФК+ эпикут. 15% ТФК	Контроль в/к ДМСО	Интактный контроль
ЦИК	0,231±0,105	0,294±0,112	0,220±0,098	0,231±0,089*	0,096±0,048

ствия. Контрольной группе наносили растворитель ДМСО.

В ходе выполнения работы, после 3-4 аппликации у морских свинок в месте нанесения раствора ТФК во всех опытных группах (50, 200 и 500 мкг ТФК) наблюдалось образование корок, без воспалительных и экссудативных изменений кожи под ними.

Аналогичные изменения со стороны кожи наблюдались у 100% морских свинок и в контрольной группе, с нанесением ДМСО. Накожные изменения в контрольной группе животных обусловлены повышенной чувствительностью морских свинок к раздражающему действию растворителя.

Следует отметить, что накожные изменения (корки) в контрольной группе имели более мелкую и однородную структуру, в то время как, корки у животных во всех опытных группах (с нанесением раствора ТФК) были более крупного, сливного характера и приподнимались над поверхностью кожи, т.е. фиксировались на поверхности шерсти животных, что связано с физико-химическими свойствами (растворенного в ДМСО) ТФК (пластификатора).

Для выявления аллергии у морских свинок, была проведена капельная провокационная проба на противоположном боку, которая не выявила видимых патологических кожных изменений (эритемы, отека и др.) у животных во всех экспериментальных группах.

Через сутки после проведения капельной пробы у морских свинок повторно отбирали кровь и выполняли клинический анализ периферической крови.

В клиническом анализе крови достоверных отличий между опытными группами и контрольной группой, получившей ДМСО, не выявлено.

Повторный анализ количества циркулирующих иммунных комплексов показал сохраняющееся статистически значимое повышение количества ЦИК в группе контрольной группы с ДМСО по сравнению с интактным контролем.

Кроме того, обнаружено снижение ЦИК во всех экспериментальных группах, по сравнению с таковым после внутрикожной сенсибилизации (табл. 6).

Уменьшение циркулирующих иммунных комплексов, вероятнее всего, связано с их коротким периодом персистенции и распадом с последующей элиминацией из кровяного русла.

Для оценки влияния комбинированной сенсибилизации на организм животных в целом, были проведены биохимические исследования крови у морских свинок, результаты которых отражены в табл. 7.

Исследования биохимических показателей сыворотки крови морских свинок при комбинированной сенсибилизации не выявили существенных изменений, свидетельствующих о влиянии ТФК. Во всех группах животных значения исследованных показателей находились в пределах физиологической нормы.

Таким образом, в результате проведения комбинированной сенсибилизации и проведенных тестов провокации на морских свинках не выявлены эффекты сенсибилизации ТФК и не выявлена его аллергенная активность [6].

Результаты исследований многократной эпикутанной сенсибилизации морских свинок

Таблица 7

Биохимические показатели крови у морских свинок после комбинированной сенсibilизации

Биохимические показатели	Группы животных				
	50 мкг ТФК + эпилут. 15% ТФК	200 мкг ТФК + эпилут. 15% ТФК	500 мкг ТФК + эпилут. 15% ТФК	Контроль в/к ДМСО	Интактный контроль
1	2	3	4	5	6
АЛТ, Ед/л	72,3±17,7	79,0±15,6	70,8±7,8	69,7±14,9	81,7±13,9
Альбумин, г/л	30,8 [#] ±0,7	32,0±1,2	31,6±1,5	32,1*±0,5	30,4±1,2
Общий белок, г/л	69,2±2,9	69,3±3,9	68,4±4,3	74,2±5,7	69,8±2,6
ГГТ, Ед/л	13,7±4,7	85,4 [#] ±71,4	58,9±100,3	15,2±5,7	14,8±9,3
Трансферрин, г/л	1,0±0,06	1,2±0,10	1,2±0,06	1,1±0,14	0,9±0,04
Мочевина, ммоль/л	8,6±1,0	8,7±1,9	9,0±0,8	8,6±1,1	8,8±1,2
ТГ, ммоль/л	2,1±0,8	1,3±0,4	2,8±1,7	2,5±2,6	2,1±0,7
Креатинин, мкмоль/л	50,6 [#] ±6,3	41,7±4,8	40,0±5,0	43,9±5,1	50,8±6,5
ЛДГ, Ед/л	172,6±54,5	646,3±687,0	358,8±200,7	269,4±216,1	305,5±202,0
ЛПВП, ммоль/л	0,2±0,02	0,2±0,02	0,2±0,02	0,2±0,01	0,2±0,02
ЛПНП, ммоль/л	1,2±0,1	1,1±0,1	1,2±0,1	1,2±0,2	1,3±0,1
Холестерин, ммоль/л	1,1±0,2	1,1±0,1	1,1±0,2	1,1±0,2	1,2±0,1
Мочевая кислота ммоль/л	80,9±17,0	145,8±103,5	107,7±31,6	95,3±48,5	107,0±32,0
Лактат, ммоль/л	12,4 [#] ±14,2	4,5±2,0	3,8±1,6	7,0±5,6	6,4±2,1
НЭЖК, ммоль/л	0,3±0,2	0,4 [#] ±0,2	0,4 [#] ±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1
ОЖСС, мкмоль/л	22,7±1,4	26,8 [#] ±2,3	26,4±1,4	24,2*±3,2	21,4±1,0

Примечания:

* - $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни по сравнению с интактным контролем;# - $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни по сравнению с контролем ДМСО.

Для обнаружения наличия аллергенных свойств в условиях длительного контакта с ТФК, проводили эпилутантные аппликации морским свинкам 15% раствором ТФК, непрерывно, в течение 20 суток. Контрольной группе наносили растворитель ДМСО.

В ходе выполнения работы, у морских свинок в месте нанесения раствора ТФК в опытной группе наблюдалось несколько более выраженное (по сравнению с контролем - нанесение ДМСО) образование корок, интенсивность которого не изме-

нялась в дальнейшем с увеличением количества аппликаций.

В ходе проведения многократной эпилутантной сенсibilизации у морских свинок не наблюдалось проявлений аллергии в виде: эритемы, геморрагий, экссудативных и воспалительных изменений в зоне нанесения аппликаций ТФК.

Дальнейшее проведение РСЛЛ полученных образцов крови экспериментальной и контрольной группы показало наличие достоверных отличий лизиса между ними (табл. 8).

Таблица 8

Результаты РСЛЛ у морских свинок после многократной эпикутанной сенсibilизации

Показатель, ед.	Группы	
	Опытная эпикут. 15% ТФК	Контрольная эпикут. ДМСО
Лизис лейкоцитов, %	9,71±0,21*	0,95±0,32

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ДМСО при $p < 0,05$

Однако, реакцию следует считать отрицательной, т.к. лизис в опытной группе не достиг 10 и более процентов.

Капельная провокационная проба была проведена через 24 часа после окончания аппликаций. Видимых патологических кожных изменений (эритемы, отека и др.) у животных в экспериментальной группе выявлено не было.

Через сутки после проведения капельной пробы у морских свинок повторно отбирали кровь и выполняли клинический анализ крови с целью оценки общего состояния животных (табл. 9). Обнаружено сниженное количество базофилов у контрольной группы ДМСО, по сравнению с интактной контрольной группой. При этом, количество базофилов у опытной группы сравнимо с данным показателем у интактной группы.

Обнаружено повышенное количество эозинофилов у крыс опытной и контрольной групп с ДМСО (по сравнению с интактным контролем), однако при этом отсутствует достоверная разница между ними. Таким образом, ТФК не оказывает алергизирующего действия на организм животных при длительном эпикутанном нанесении.

У всех групп животных повторно был проведен анализ количества циркулирующих иммунных комплексов, который показал отсутствие достоверной разницы результатов во всех исследованных группах.

Комплекс проведенных биохимических исследований крови у морских свинок после многократной эпикутанной сенсibilизации и провокации показал следующие результаты (табл. 10).

Исследования биохимических показателей сыворотки крови морских свинок при многократной эпикутанной сенсibilизации и провокации не выявили существенных изменений, свидетельствующих о влиянии ТФК. Во всех группах животных значения исследованных показателей находились в пределах физиологической нормы.

Таким образом, в результате проведения многократной эпикутанной сенсibilизации и проведенных тестов провокации на морских свинках

не выявлены эффекты сенсibilизации ТФК и не выявлена его алергенная активность [6].

Результаты определения ГЗТ на мышах

Для выявления алергической реакции замедленного типа мышей обоего пола сенсibilизировали в/к введением 100 мкг ТФК (в 60 мкл в смеси полного адьюванта Фрейнда и раствора Хенкса). Контрольным животным вводили 60 мкл данной смеси без добавления ТФК.

Выявление сенсibilизации проводили через 5 суток с помощью провокационной пробы теста опухания лапы, путем введения всем животным разрешающей дозы ТФК в подушечку задней лапы 100 мкг ТФК в 60 мкл, растворенного в растворе Хенкса. Через 24 часа измеряли инженерным микрометром толщину обеих задних лап в мм.

Наличие положительно реакции оценивали по величине отека, которую вычисляли по среднегрупповому показателю разницы в толщине обеих задних лап, мм. Результаты замера лап у мышей (через 24 часа) после проведения провокации показали отсутствие статистически достоверного превышения среднегруппового показателя разницы в толщине обеих задних лап опытных животных обоего пола, по сравнению с контрольными.

Данный метод экспресс-сенсibilизации не выявил алергизирующих свойств ТФК у мышей [6].

Результаты исследований интратрахеальной сенсibilизации белых крыс

Интратрахеальная сенсibilизация опытным группам крыс была проведена в дозах 10 и 50 мг ТФК на физиологическом растворе. Контрольной группе интратрахеально вводили физраствор.

Дальнейшее проведение РСЛЛ полученных образцов крови экспериментальных и контрольной группы выявило повышение % лизиса в обеих опытных группах. Достоверное повышение реакции специфического лизиса лейкоцитов в опытной группе, получившей 50 мкг ТФК интра-

Таблица 9

**Клинические показатели крови у морских свинок после многократной эпилептической
сенсibilизации и провокации**

Показатель, ед. измерения	Группы животных		
	Опытная эпилепт. 15% ТФК	Контрольная эпилепт. ДМСО	Интактный контроль
1	2	3	4
RBC, 1012/л	6,08±0,09 (5,57-6,44)	6,20±0,10 (5,65-6,51)	6,0±0,11 (5,26-6,48)
HGB, г/л	156,33±1,63 (152-163)	158,38±2,06 (151-168)	150,94±2,27 (132-166)
HCT, л/л	0,47±0,01 (0,444-0,499)	0,48±0,01 (0,451-0,508)	0,47±0,01 (0,411-0,521)
MCV, мкм ³	77,98±0,46 (75,6-80,0)	77,51±0,60 (75,1-79,9)	78,58±0,52 (75,2-82,8)
MCH, пг	25,57±0,20 (24,3-26,6)	25,48±0,23 (24,6-26,6)	25,51±0,22 (23,9-26,8)
MCHC, г/л,	327,6±1,16 (321-333)	329,0±1,15 (323-334)	324,53±1,42 (314-336)
RDW, %	11,12±0,09 (10,6-11,4)	11,27±0,16 (10,3-11,8)	11,62±0,15 (10,2-12,4)
WBC, 10 ⁹ /л	7,98±0,63 (4,4-10,3)	7,28±0,43 (5,4-9,0)	5,19±0,37 (3,4-8,1)
LY, 10 ⁹ /л	4,35±0,48 (2,7-6,5)	5,29±0,53 (3,3-7,7)	2,83±0,24 (1,4-4,5)
NE, 10 ⁹ /л	2,84±0,56 (0,8-5,1)	2,19±0,27 (1,5-3,7)	1,94±0,20 (0,9-3,5)
MO, 10 ⁹ /л	0,30±0,09 (0-0,8)	0,33±0,10 (0,1-0,9)	0,19±0,04 (0-0,5)
EO, 10 ⁹ /л	0,08±0,02 (0-0,2)	0,09±0,01 (0-0,1)	0,03±0,01 (0-0,1)
BA, 10 ⁹ /л	0,17±0,04 (0-0,4)	0,03±0,03* (0-0,2)	0,21±0,05 (0-0,6)
LY, %	57,93±5,60 (31,4-70,5)	65,36±2,66 (51,4-75,3)	55,9±2,7 (39,6-71,6)
NE, %	35,04±5,69 (17,9-59,6)	27,56±2,43 (18,9-40,9)	36,89±2,24 (22,9-49,3)
MO, %	3,81±0,95 (0,36-8,9)	4,05±0,99 (1-7,8)	3,51±0,53 (1,1-5,9)
EO, %	1,08±0,23 (0,3-2,2)	0,93±0,08 (0,5-1,1)	0,80±0,14 (0,3-2,4)
BA, %	2,14±0,58 (0,4-5,4)	0,46±0,24 (0,1-2,1)	4,14±0,85 (0,2-9,8)
PLT, 10 ⁹ /л	292,67±43,99 (131-494)	381,5±42,25 (161-505)	370,13±32,78 (172-607)
MPV, мкм ³	6,71±0,19 (5,8-7,9)	6,49±0,13 (5,9-6,9)	6,56±0,12 (5,6-7,9)

Таблица 10

Биохимические показатели крови у морских свинок после многократной эпилептической сенсibilизации и провокации

Биохимические показатели	Группы животных		
	Опытная эпилепт. 15% ТФК	Контрольная эпилепт. ДМСО	Интakтный контроль
АЛТ, Ед/л	72,8±15,7	73,8±23,0	81,7±13,9
Альбумин, г/л	32,33 [#] ±0,9	33,7*±1,3	30,4±1,2
Общий белок, г/л	74,0 [#] ±2,6	69,9±3,6	69,8±2,6
ГГТ, Ед/л	13,2 [#] ±8,1	9,4±7,9	14,8±9,3
Трансферрин, г/л	1,0 [#] ±0,05	1,1*±0,05	0,9±0,04
Мочевина, ммоль/л	10,3 [#] ±1,6	8,8±1,2	8,8±1,2
ТГ, ммоль/л	2,8±2,2	2,5±2,3	2,1±0,7
Креатинин, мкмоль/л	51,0±9,8	45,2*±6,0	50,8±6,5
ЛДГ, Ед/л	200,8±73,5	163,2±36,0	305,5±202,0
ЛПВП, ммоль/л	0,2±0,04	0,2±0,02	0,2±0,02
ЛПНП, ммоль/л	1,4±0,3	1,4*±0,1	1,3±0,1
Холестерин, ммоль/л	1,3±0,3	1,4*±0,2	1,2±0,1
Мочевая кислота, ммоль/л	81,4±33,5	89,3±18,4	107,0±32,0
Лактат, ммоль/л	5,5±2,4	4,0*±0,8	6,4±2,1
НЭЖК, ммоль/л	0,4±0,2	0,5±0,2	0,3±0,1
ОЖСС, мкмоль/л	23,6±1,4	24,5*±1,2	21,4±1,0

Примечания:

* - $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни по сравнению с интактным контролем;

- $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни по сравнению с контролем ДМСО

трахеально до 4,6% по сравнению с контрольной 2,37% (табл. 11).

Несмотря на повышение % лейколизиса в опытных группах по отношению к контрольной, данную реакцию следует считать отрицательной, т.к. лизис не превышал 10%.

Незначительное повышение интенсивности лейколизиса, вызвано развившимся острым воспалением при интратрахеальном введении эмульсии ТФК, о чем свидетельствуют изменения в клиническом анализе крови, приведенные ниже.

Отсутствие положительной реакции в ответ на введение разрешающей дозы ТФК получили по

результатам среднегруппового показателя разницы в толщине ушей до и после аппликации через 24 часа.

Через сутки после проведения провокационного теста ТОУ у крыс выполняли клинический анализ крови.

Учитывая широкую количественную вариабельность лейкоцитарной формулы у крыс, проведен предварительный скрининг показателей клинического анализа крови у животных с целью рандомизации групп и получены фоновые значения для всех показателей клинического анализа крови. В таблице 12 приведены результаты кли-

нического анализа крови через 6 суток после интратрахеального введения 10 и 50 мг ТФК у крыс.

Результаты исследований показали повышение общего количества лейкоцитов за счет нейтрофилов в обеих экспериментальных группах

после интратрахеального введения ТФК. В группе, получившей 50 мг ТФК, наблюдался более выраженный $4,6 \cdot 10^9/\text{л}$ (по сравнению с группой 10 мг ТФК- $2,6 \cdot 10^9/\text{л}$) нейтрофильный лейкоцитоз, что является признаком острого воспале-

Таблица 11

Результаты РСЛЛ у крыс после интратрахеальной сенсibilизации

Показатель	Группа		
	Опыт интратрах. 10 мг ТФК	Опыт интратрах. 50 мг ТФК	Контрольная (физраствор)
Лизис лейкоцитов, %	3,94±0,64	4,62±0,40*	2,37±0,82

Таблица 12

Клинические показатели крови у крыс после интратрахеальной сенсibilизации и провокации

Показатели, ед. измерения	Группы животных				
	Фон 10 мг ТФК	Опыт 10 мг ТФК	Фон 50 мг ТФК	Опыт 50 мг ТФК	Контроль
RBC, $10^{12}/\text{л}$	9,00±0,29 (8,78-9,98)	8,83±0,18 (8,61-9,47)	8,64±0,5 (6,03-9,79)	8,80±0,24 (7,6-9,48)	7,41±0,10 (6,84-8,27)
HGB, г/л	155,5±3,72 (149-167)	152,0±1,2 (147-158)	156,89±2,75 (142-167)	150,25±4,08 (129-162)	133,54±0,84 (129-141)
HCT, л/л	0,47±0,01 (0,459-0,496)	0,47±0,0 (0,449-0,493)	0,49±0,01 (0,449-0,521)	0,46±0,01 (0,416-0,496)	0,40±0,0 (0,381-0,45)
MCV, мкм ³	52,40±0,47 (50,5-55,2)	52,88±0,41 (51,5-55,0)	51,84±0,43 (49,9-54,1)	51,67±0,37 (49,5-52,7)	54,41±0,52 (51,0-57,1)
MCH, пг	17,16±0,14 (16,7-18)	16,53±0,35 (16,2-17,6)	16,74±0,28 (15,3-17,6)	16,88±0,12 (16,2-17,3)	17,95±0,16 (16,9-18,9)
MCHC, г/л,	327,56±0,84 (325-332)	314,70±6,31 (316-333)	322,38±3,41 (302-333)	308,33±18,71 (322-335)	328,5±1,07 (319-335)
RDW, %	13,94±0,38 (12,6-16)	13,91±0,29 (12,9-15,3)	13,97±0,42 (11,9-15,6)	14,29±0,39 (12,7-16,1)	14,43±0,35 (12,3-16,3)
WBC, $10^9/\text{л}$	12,25±1,01 (7,8-17,2)	16,53±1,58 (9,7-24,8)	12,29±0,97 (7,1-16,4)	19,29±3,54 (7,9-22,9)	9,93±1,06 (5-16,2)
LY, $10^9/\text{л}$	11,16±1,14 (6,2-16,4)	13,62±1,56 (6,9-20,9)	10,73±0,89 (5,2-14,1)	12,39±1,94 (4,4-17,1)	7,30±0,81 (2,8-12,8)
NE, $10^9/\text{л}$	1,04±0,44 (0,1-3)	2,6±0,64 (0,1-6,2)	1,47±0,36 (2,3-2,8)	4,69±0,83* (2,4-7,7)	2,54±0,33 (0,9-5,5)
MO, $10^9/\text{л}$	0,03±0,02 (0-0,1)	0,13±0,06 (0-0,2)	0,01±0,01	0,25±0,12 (0-0,4)	0,13±0,04 (0-0,4)
EO, $10^9/\text{л}$	0,02±0,01 (0-0,1)	0,05±0,02 (0-0,2)	0,07±0,04 (0-0,3)	0,05±0,03 (0-0,1)	0,07±0,02 (0-0,2)
BA, $10^9/\text{л}$	0	0,25#	0	0,9#	0,21±0,10 (0-3,3)
LY, %	89,82±4,14 (67,1-99,5)	81,61±3,94 (65,9-99,2)	86,87±3,06 (72,8-94,7)	65,80±4,23* (49,5-84,4)	76,61±1,64 (67,8-87,7)

Продолжение таблицы 12

Показатели, ед. измерения	Группы животных				
	Опыт 10 мг ТФК	Фон 50 мг ТФК	Опыт 50 мг ТФК	Контроль	
NE, %	9,52±4,04 (0,2-32,7)	16,78±3,67 (0,6-32,9)	12,17±3,13 (1,9-26,7)	28,25±3,33 (15,3-42,4)	21,28±1,63 (11-29,8)
MO, %	0,33±0,08 (0,1-0,9)	0,68±0,22 (0,1-2,3)	0,27±0,04 (0,1-0,5)	1,24±0,40 (0,2-3,3)	1,29±0,45 (0,1-6,7)
EO, %	0,32±0,15 (0-1,3)	0,35±0,13 (0-1,3)	0,61±0,26 (0-2,4)	0,28±0,11 (0,1-1,0)	0,61±0,11 (0,2-1,4)
BA, %	0	1,4#	0	3,75#	0,37±0,23 (0-3,1)
PLT, 10 ⁹ /л	813,56±37,99 (670-1037)	674,10±93,67 (214-1044)	681,89±58,01 (364-906)	622,22±52,55 (409-894)	633,0±62,62 (225-968)
MPV, мкм ³	6,89±0,13 (6,4-7,6)	6,64±0,16 (6,0-7,2)	7,01±0,09 (6,8-7,6)	6,80±0,12 (6,4-7,5)	6,13±0,10 (5,4-6,9)

Примечание:

- 1 - различия статистически значимы к фоновым значениям (фон - показатели до введения ТФК) при * p ≤ 0,05;
2 - # - медиана диапазона к фоновым значениям.

Таблица 13

Количество ЦИК после интратрахеальной сенсibilизации и провокации

Показатели, ед. у.е.	Группы		
	Опыт 10 мг ТФК	Опыт 50 мг ТФК	Интakтный контроль
Количество ЦИК	0,034±0,020	0,081±0,013	0,056±0,044

ния, как реакции на интратрахеальное введение эмульсии ТФК. Кроме того, отмечается повышение количества базофилов у крыс в обеих опытных группах.

У всех групп животных был проведен анализ количества циркулирующих иммунных комплексов, который выявил статистически значимое повышение содержания ЦИК в крови опытной группы, получившей 50 мкг ТФК по сравнению с опытной группой, получившей меньшее количество (табл. 13).

Однако, по результатам оценки данных, полученных для двух групп подопытных животных и контрольной группы, статистически значимых различий между группами не выявлено.

Проведенные исследования интратрахеальной сенсibilизации ТФК у крыс выявили признаки острого воспаления у животных в ответ на раздражение и альтерацию эмульсией ТФК слизистой дыхательных путей.

Таким образом, в результате проведения интратрахеальной сенсibilизации и проведенных

тестов провокации на крысах не выявлены эффекты сенсibilизации ТФК и не выявлена его аллергенная активность [6].

Заключение:

Материалы собственных и зарубежных исследований показали отсутствие сенсibilизирующих свойств терефталевой кислоты, в связи с чем возникла необходимость пересмотра действующего норматива и изменения класса опасности вещества.

В целях обоснования величины гигиенического норматива терефталевой кислоты в воздухе рабочей зоны были использованы материалы Немецкого научно-исследовательского сообщества (DFG) по обоснованию величины максимально разрешенной концентрации (МАК) – аналог ПДК – в воздухе рабочей зоны. Для установления ПДК в воздухе рабочей зоны были использованы результаты 28-дневного ингаляционного исследования терефталевой кислоты на крысах линии Sprague Dawley в диапазоне концентраций до 10 мг/м³. Максимально испытанная концентра-

ция 10 мг/м³ является недействующей (NOAEC), так как не оказывала токсического действия на органы и системы.

Принимая во внимание слабую кумулятивность и невыраженное раздражающее действие, отсутствие сенсibiliзирующего, репротоксического, тератогенного, мутагенного и канцерогенного эффектов, а также тот факт, что расчет ПДК осуществляется на основании недействующей, а не пороговой концентрации (шаг между пороговой и недействующей концентрациями, как правило, 5-10 раз), коэффициент запаса был принят на уровне 2.

Таким образом, рекомендуемая ПДКм.р. в воз-

духе рабочей зоны – 5 мг/м³, смесь паров и аэрозоля, 3 класс опасности.

Аналитический метод контроля – Методические указания по измерению концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны. -М., 1992.- Вып.11.- №5855-91.-С.122.

По данным Немецкого научно-исследовательского общества (DFG), величина норматива 5 мг/м³ обеспечивает безопасность всех видов воздействий, в то время как по зарубежным данным для терефталевой кислоты установлены значения нормативов в воздухе рабочей зоны: ТWA – 10 мг/м³ (Бельгия, Дания, Исландия, Нидерланды, Новая Зеландия, Перу).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Измеров Н.Ф., Саночкин И.В., Сидоров К.К. Параметры токсиметрии промышленных ядов при однократном воздействии. Спр. - М., Медицина, 1977. - С.145. / Izmerov N.F., Sanotsky, I.V., Sidorov, K.K. Toxicometric parameters of industrial toxic chemicals under single exposure. Handbook-M., Medicine, 1977. - P. 145 (in Russian).
2. Pohanish R.P. Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens / R.P. Pohanish // Elsevier Science. - ISBN 9781437778700. - 2011. - 3096 p.
3. CCOHS RTECS. Canadian Centre Occupational Health and Safety, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, 2020.
4. Спр. п/р Н.В.Лазарева и Э.Н.Левиной. Вредные вещества в промышленности. Органические вещества. - Л., Химия, 1976. - Т.II. - С.31. / Harmful substances in industry. Organic substances. ed. Lazarev N.V., Levina E.N. - L., Chemistry, 1976. - Vol. II. - P. 31 (in Russian).
5. Шефтель В.О. Вредные вещества в пластмассах. Спр.-М., Химия, 1991.- С.188 / Sheftel V.O. Harmful substances in plastics. Handbook. - M., Chemistry, 1991. - P. 188 (in Russian).
6. Отчет о научно-исследовательской работе «Определение алергизирующих свойств терефталевой кислоты». ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 2020. - 56 с. / Research report «Determination of the allergenic properties of terephthalic acid». Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical and Biological Agency, 2020. - 56 p. (in Russian).
7. ECHA. European Chemicals Agency's Dissemination portal with information on chemical substances registered under REACH.
8. PubChem. National Library of Medicine; National Center for Biotechnology Information. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
9. OECD SIDS. Initial Assessment Report, 2001. - 82 p.
10. GHS Classification Results (J-GHS). National Institute of Technology and Evaluation /NITE/. Japan.
11. База данных Федерального регистра потенциально опасных химических и биологических веществ / Database of the Federal Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances (in Russian).
12. The OECD QSAR Toolbox. Available at: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm>.
13. P 1323565.1.027-2019
- «Руководство по группировке схожих химических веществ в токсикологически значимые категории для устранения пробелов в информации о токсичности при помощи программного обеспечения ОЭСР QSAR Toolbox» / P 1323565.1.027-2019 «Guidelines for grouping similar chemicals into toxicologically relevant categories to fill data gaps in information on toxicity using the OECD QSAR Toolbox» (in Russian).
14. 14. o-Phthalic acid [88-99-3; phthalic acid], m-phthalic acid [121-91-5; isophthalic acid], p-phthalic acid [100-21-0; terephthalic acid]. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/3527600418.mb8899ism5215>.

Kh.Kh. Khamidulina^{1,2}, A.S. Radilov³, S.A. Dulov³, A.V. Zemlyanoy³, P.P. Beltyukov³, E.V. Vivulanets³, S.A. Kucherskoy³, M.F. Shishonok³, E.V. Tarasova¹, A.S. Proskurina^{1,2}, A.R. Egiazaryan¹, I.V. Zamkova¹, E.V. Dorofeeva¹, E.A. Rinchindorzhieva¹, D.N. Rabikova^{1,2}, S.A. Shvykina¹

REVISION OF MAC IN THE AIR OF THE WORKING AREA OF TEREPHTHALIC ACID

¹Russian Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances of Rospotrebnadzor, 121087, Moscow, Russian Federation

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, RF Ministry of Health, 125993, Moscow, Russian Federation

³Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical and Biological Agency, 188663, Leningrad region, Vsevolozhsky district, Kuzmolovsky, Russian Federation

The results of our own and foreign studies have shown the absence of sensitizing properties of terephthalic acid, and therefore there was a need to review the current hygienic standard – MAC – in the air of the working area and change the hazard class of the substance. The materials of the German Research Community (DFG) were used for substantiation of MAC. Recommended MAC in the air of working area is set at 5 mg/m³ (maximum single), a mixture of vapors and aerosol, hazard class 3.

Keywords: terephthalic acid, sensitization, air of the working area.

Quote: Kh.Kh. Khamidulina, A.S. Radilov, S.A. Dulov, A.V. Zemlyanoy, P.P. Beltyukov, E.V. Vivulanets, S.A. Kucherskoy, M.F. Shishonok, E.V. Tarasova, A.S. Proskurina, A.R. Egiazaryan, I.V. Zamkova, E.V. Dorofeeva, E.A. Rinchindorzhieva, D.N. Rabikova, S.A. Shvykina. Revision of MAC in the air of the working area of terephthalic acid. Toxicological Review. 2020; 6:21-37

Материал поступил в редакцию 01.09.2020

УДК 546.47.49:615.099

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-38-42

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МТ2А И МТЗ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС В ОТВЕТ НА ОТРАВЛЕНИЕ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ

М.М. Зиатдинова, Т.Г. Якупова,
Я.В. Валова, Г.Ф. Мухаммадиева,
Д.О. Каримов, Л.Ш. Назарова,
Д.А. Смолянкин

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда
и экологии человека»
450106, г. Уфа, Российская Федерация

Цель работы - изучить экспрессию генов металлотионеина в печени и почках крыс при остром отравлении кадмием. Моделирование отравления хлоридом кадмия проводили на белых беспородных крысах женского пола, разделенных на 4 группы в зависимости от дозы введенного токсиканта. В качестве материалов исследования использовали образцы РНК, выделенные из печени и почек крыс. Кратность экспрессии гена МТЗ в почках повышалась при наименьшей дозе $CdCl_2$, которая была использована в данном эксперименте (0,029 мг/кг), с увеличением дозировки уровень экспрессии снижался, но не ниже показателей контроля. Анализ экспрессии этого же гена в печени показал наличие тенденции к снижению содержания транскриптов при увеличении дозы. Кратность экспрессии гена МТ2А при более высоких дозах $CdCl_2$ повышалась как в печени, так и в почках. В представленной работе были выявлены статистически значимые дозозависимые изменения кратности экспрессии генов металлотионеина через 24 часа после введения $CdCl_2$. Обнаруженные нами различия в уровне транскрипционной активности генов металлотионеина требуют дальнейшего исследования, так как вероятно, существуют различия в уровне экспрессии генов на более ранних и более поздних сроках действия токсиканта.

Ключевые слова: кадмий, металлотионеины, экспрессия генов, окислительный стресс, дозозависимое изменение экспрессии.

Цит: М.М. Зиатдинова, Т.Г. Якупова, Я.В. Валова, Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, Л.Ш. Назарова, Д.А. Смолянкин. Анализ экспрессии генов МТ2А и МТЗ в печени и почках крыс в ответ на отравление хлоридом кадмия. Токсикологический вестник. 2020; 6:38-43

Введение. Кадмий (Cd), как фактор загрязнения окружающей среды, является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов для большинства филогенетических групп позвоночных и оказывает негативное влияние на многие физиологические и биохимические процессы в организме. Вследствие высокой способности Cd накапливаться в тканях, активировать процессы генерации активных форм кислорода (АФК), индуцировать процессы перекисного окисления липидов, блокировать сульфгидрильные и аминокислотные группы белков, в том числе и ферментов-анти-

оксидантов, многие типы клеток обладают высокой чувствительностью к ионам кадмия даже в низких концентрациях [1]. У млекопитающих основными местами накопления кадмия являются почки, печень, легкие, кости, мозг и органы репродуктивной системы [2].

Точный механизм, посредством которого Cd накапливается в клетках, остается неясным, однако, считается, что важную роль в процессе клеточного поглощения Cd играют нарушение регуляции гомеостаза переходных металлов с использованием систем клеточной транспортив-

Зиатдинова Мунира Мунировна (Ziatdinova Munira Munirovna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», munira.munirovna@yandex.ru
Якупова Татьяна Георгиевна (Yakupova Tatyana Georgievna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», tatyana.kutlina92@mail.ru
Валова Яна Валерьевна (Valova Yana Valer'evna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», q.juk@yandex.ru
Мухаммадиева Гузель Фанисовна (Mukhammadieva Guzel Fanisovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», ufniimt@mail.ru
Каримов Денис Олегович (Karimov Denis Olegovich), кандидат медицинских наук, заведующий отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», karimovdo@gmail.com
Назарова Лилия Шамильевна (Nazarova Liliya Shamilevna), кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», lilinaz19@mail.ru
Смолянкин Денис Анатольевич (Smolyankin Denis Anatol'evich), младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», smolyankin.denis@yandex.ru

ки жизненно-важных элементов [3]. В силу того, что ионы кадмия проявляют высокое сродство к сульфгидрильным группам их потенциальными мишенями могут являться белки «цинкового пальца». Они представляют собой семейство белков, где цинк образует комплекс через четыре инвариантных остатка цистеина и / или гистидина, образуя домен цинкового пальца, который в основном участвует в связывании ДНК и в межбелковых взаимодействиях [4]. Было выявлено, что взаимодействие ионов токсичных металлов с цинк-связывающими белковыми доменами может привести к вытеснению цинка (Zn) ионами Cd, образованию смешанных комплексов, неполной координации ионов Cd, а также окислению остатков цистеина в металлсвязывающем домене [5].

Поглощенный Cd связывается с металлотионеином (MT) - богатым цистеином белком, образующим комплекс Cd-MT в печени. Образовавшийся комплекс медленно выделяется из печени в кровотоки и достигает почек; из-за небольшого размера MT, комплекс легко фильтруется через клубочки и реабсорбируется эпителиальными клетками проксимального отдела канальцев посредством эндоцитоза. MT разлагается в эндосомах, и высвобождающийся свободный кадмий в цитозоле генерирует АФК [7]. Известно, что модификации ДНК происходят из-за окислительного повреждения, вызванного кадмием [8].

В работе ряда авторов было показано, что при воздействии CdCl₂ в дозе от 15 до 30 мг/кг он влияет на пролиферацию и дифференцировку клеток, прогрессирование клеточного цикла, синтез ДНК и апоптоз. Кроме того, было обнаружено, что важным геномным эффектом кадмия является ингибирование репарации ДНК, приводящее к нестабильности генома, активации протоонкогенов, изменению метилирования ДНК, дисрегуляции экспрессии генов и, как следствие,

к окислительному стрессу и канцерогенезу [9, 10, 11].

Целью данного исследования явилось изучение экспрессии генов металлотионеина в печени и почках крыс при остром отравлении хлоридом кадмия.

Материалы и методы исследования. Всего в опытах использовано 35 белых беспородных крыс (30 голов в экспериментальной группе и 5 - в контрольной) массой 210–280 г. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных. При уходе за животными, питании и проведении экспериментов руководствовались базисными нормативными документами: Рекомендациями комитета по экспериментальной работе с использованием животных при Минздраве России, рекомендациями ВОЗ, рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Острое отравление кадмием моделировали путем однократного перорального введения крысам водного раствора CdCl₂ (дихлорид кадмия) в дозе 0,029 мг/кг, 0,29 мг/кг и 2,9 мг/кг массы тела. Животным контрольной группы перорально вводили воду. Кусочки печени и почек сразу после декапитации и вскрытия замораживали жидким азотом и заливали ExtractRNA (ЗАО Евроген). Для определения функционального состояния печени и почек использовались следующие методы: экстракция тотальной РНК тризолом, обратная транскрипция и анализ экспрессии генов проводили методом ПЦР-амплификации в режиме реального времени на приборе RotorGene (QIAGEN) с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров фирмы «Евроген», содержащих интеркалирующий краситель SYBRGreen. Нормирование уровня экспрессии проводили по гену GAPDH. Сравнительный анализ количественных данных проводили с помощью критерия (t) Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Анализ представленности транскриптов гена MT2A в почках при пероральном введении CdCl₂ показал следующие результаты. При введении минимальной дозы CdCl₂ (0,029 мг/кг) кратность экспрессии снижается (-0,54±0,66; -1,81±0,41; F=0,68; p=0,74), однако, в интервале доз от 0,029 мг/кг до 2,9 мг/кг экспрессия плавно повышается (-1,81±0,41; -1,06±0,87; -0,45±0,88; p=0,883).

Анализ кратности экспрессии того же гена в печени показал несколько иную картину в виде скачкообразного сни-

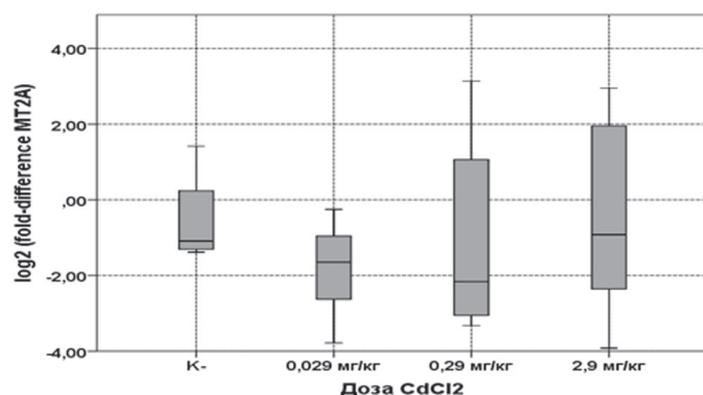


Рис. 1. Кратность экспрессии гена MT2A в почках при пероральном введении раствора CdCl₂ через 24 часа

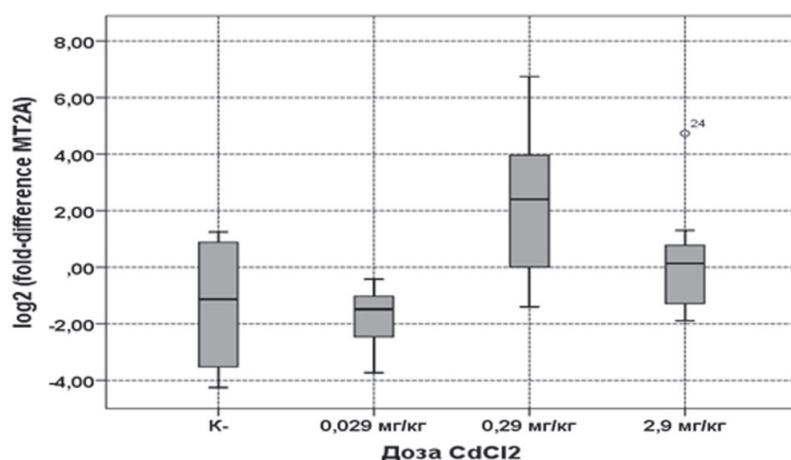


Рис. 2. Кратность экспрессии гена MT2A в печени при пероральном введении раствора CdCl₂ через 24 часа

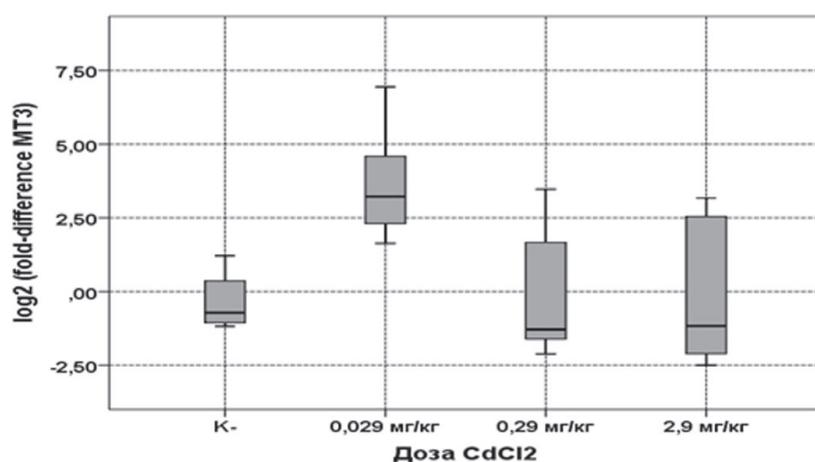


Рис. 3. Кратность экспрессии гена MT3 в почках при пероральном введении раствора CdCl₂ через 24 часа

жения и повышения уровня экспрессии. При дозе 0,029 мг/кг она была ниже значения контроля (-1,32±1,32; -1,76±0,38; F=5,22; p=0,987). Затем при дозе 0,29 мг/кг уровень экспрессии резко возрастает, достигая своего максимального значения (-1,76±0,38; 2,26±0,97; p=0,005). При увеличении дозировки от 0,29 мг/кг до 2,9 мг/кг вновь происходит уменьшение кратности экспрессии (2,26±0,97; 0,26±0,74; p=0,276), однако ее уровень остается выше показателей контроля (p=0,636).

Анализ представленности транскриптов гена MT3 в почках показал следующие результаты. При воздействии CdCl₂ в дозе 0,029 мг/кг уровень экспрессии был гораздо выше значения контроля (-0,35±0,54; 3,60±0,62; F=6,66; p=0,019). Однако на промежутке доз от 0,029 мг/кг до 0,29 мг/кг происходит спад (3,60±0,62; -0,14±0,75; p=0,006) с последующим повышением представленности транскриптов при достижении дозы 2,9 мг/кг (-0,14±0,75; -0,1±0,86; p=1,000).

При анализе изменения экспрессии гена MT3 в печени было отмечено, что с увеличением дозы CdCl₂ происходит снижение содержания соответствующих транскриптов (3,64±0,62; -7,07±0,46; -12,88±1,34; -14,48±0,91; F=17,59; p=0,001).

Согласно данным литературы, кадмий вызывает истощение глутатионовой и белково-связанной сульфгидрильных групп, что приводит к ускоренному образованию АФК, таких как супероксидный ион, гидроксильные радикалы и пероксид водорода, которые в свою очередь вызывают повреждение мембранного белка и нарушение работы антиоксидантной системы клеточных органелл (необходимо вставить ссылки). Воздействие кадмия приводит также к повреждению ДНК, и соответственно может оказывать влияние на экспрессию генов и апоптоз. Если клетки не восстанавливаются после воздействия Cd-индуцированных АФК, они подвергаются различным видам деструкции. Микромолекулярные концентрации кадмия приводят к пролиферации или замедленному апоптозу, промежуточные концентрации Cd (10 мкМ) вызывают различные типы апоптотической гибели клеток, а концентрации более > 50 мкМ Cd приводят к некрозу [3, 12].

Повреждение ДНК, вызванное Cd-индуцированными АФК, нелегко исправить, так как кадмий вмешивается во все системы репарации ДНК. Многие белки, участвующие в системах репарации ДНК, содержат Zn-связывающие белки, которые могут непосредственно разрушаться кадмием [3]. Разрушение структур «цинкового пальца» может привести к вмешательству во множественные клеточные процессы, вовлеченные в экспрессию генов, регуляцию роста и поддержание целостности генома [5].

Изучая кратность экспрессии гена MT2A, мы наблюдали снижение ее уровня относительно контроля при малых дозах CdCl₂ как в почках (p=0,573), так и в печени (p=0,006). Однако было отмечено, что с последующим повышением дозы CdCl₂ увеличивалась и кратность экспрессии MT2A, что, может быть, связано с началом работы антиоксидантной системы в ответ на окислительный стресс, либо с нарушением нормального функционирования клетки [6].

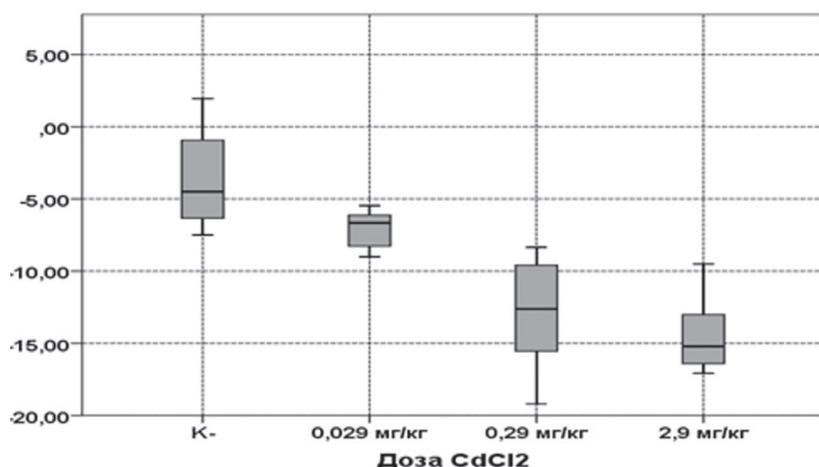


Рис. 4. Кратность экспрессии гена *MT3* в печени при пероральном введении раствора CdCl_2 через 24 часа

Кадмий обладает способностью изменять активность биологических молекул, связываясь с азот-, кислород- или серосодержащими группами, что в конечном итоге приводит к нарушению нормальной работы клеток [13]. Дисфункция *MT2A* может быть связана с блокировкой высвобождения цинка и снижением его внутриклеточной концентрации, что приводит к повышенному риску окислительного повреждения [14].

При анализе кратности экспрессии гена *MT3* в почках было установлено резкое повышение уровня экспрессии при дозе 0,029 мг/кг CdCl_2 и небольшие повышения при более высоких дозах ($p=0,002$). Вероятно, при дозе 0,029 мг/кг CdCl_2 повреждения клеточных структур не достигают критического уровня и еще поддаются репарации, однако с увеличением дозы это стано-

вится невозможным, и в клетке запускается процесс апоптоза.

Анализ гена *MT3* в печени позволил установить неуклонное снижение содержания транскриптов с повышением дозы CdCl_2 ($p=0,001$).

Печень, в связи с существенной ролью в детоксикации кадмия особенно уязвима для повреждений, вызванных этим ксенобиотиком. Последние эпидемиологические и экспериментальные данные показывают, что даже низкое (1-5 мг $\text{Cd}/\text{кг}$) воздействие кадмия создает риск повреждения печени [15, 16]. Клеточные и внутриклеточные мембраны были признаны мишенями для повреждающего действия данного тяжелого металла,

а перекисное окисление липидов рассматривается, как важный механизм его гепатотоксичности. Окислительное повреждение клеточных макромолекул способно привести к серьезному повреждению гепатоцитов, а в последующем к морфологическим и функциональным изменениям в печени, что может иметь пагубные последствия для организма [17].

Заключение. В представленной работе были выявлены статистически значимые дозозависимые изменения кратности экспрессии генов металлотионеина через 24 часа после введения CdCl_2 . Обнаруженные нами различия в уровне транскрипционной активности генов металлотионеина требуют дальнейшего исследования, так как, вероятно, существуют различия в уровне экспрессии генов на более ранних и более поздних сроках действия токсиканта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сухаренко Е.В., Максимов В.И. Возрастные изменения экспрессии глиального фибриллярного кислого белка в мозге крыс при хроническом воздействии кадмия. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2015; 2(30): 85-93.
2. Polykretis P., Cencetti F., Donati C., Luchinat E., Banci L. Cadmium effects on superoxide dismutase 1 in human cells revealed by NMR. Redox Biol. 2019; 21:101102. doi: 10.1016/j.redox.2019.101102.
3. Nair A.R., Degheselle O., Smeets K., Van Kerkhove E., Cuypers A. Cadmium-Induced Pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)? International journal of molecular sciences. 2013 Mar; 14(3): 6116-6143. doi: 10.3390/ijms14036116.
4. Hartwig A., Asmuss M., Ehleben I., Herzer U., Kostelac D., Pelzer A. et al. Interference by Toxic Metal Ions with DNA Repair Processes and Cell Cycle Control: Molecular Mechanisms. Environmental Health Perspectives. 2002; 110 Suppl 5:797-9. doi: 10.1289/ehp.02110s5797.
5. Hartwig A. Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: differential effects on structure and function. Antioxid Redox Signal. 2001; 3(4):625-34. doi: 10.1089/15230860152542970.
6. Xue-Bin Ling et al. Mammalian Metallothionein-2A and Oxidative Stress. Int J Mol Sci. 2016 Sep; 17(9): 1483. doi: 10.3390/ijms17091483.
7. Ravindran G., Chakrabarty D., Sarkar A. Cell specific stress responses of cadmium-induced cytotoxicity. Animal cells and systems. 2017; 21(1): 23-30. doi: 10.1080/19768354.2016.1267041.
8. Yang H., Shu Y. Cadmium Transporters in the Kidney and Cadmium-Induced Nephrotoxicity. International journal of molecular sciences. 2015 Jan; 16(1): 1484-1494. doi: 10.3390/ijms16011484.
9. Кривошеев Б.Н., Потеряева Е.Л., Смирнова Е.Л. Токсическое действие кадмия на организм человека. Медицина труда и промышленная экология. 2012; 6: 35-42.
10. Andjelkovic M., Buha Djordjevic A., Antonijevic E. et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver and kidney. Int J Environ Res Public Health. 2019 Jan; 16(2): 274. doi: 10.3390/ijerph16020274.
11. Valerio Branca J.J., Morucci G., Alessandra Pacini A. Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado. Neural Regen Res. 2018; 13(11): 1879-1882. doi: 10.4103/1673-5374.239434.
12. El-Tarras Ael-S., Attia H.F., Soliman M.M., El Awady M.A., Amin A.A. Neuroprotective effect of grape seed extract against cadmium toxicity in male albino rats. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016; 29(3): 398-407. doi: 10.1177/0394632016651447.
13. Wang H., Liu Z., Zhang W., Yuan Z., Yuan H., Liu X. et al. Cadmium-induced apoptosis of Siberian tiger fibroblasts via disrupted intracellular homeostasis. Biol Res. 2016; 49(1):42. doi:10.1186/s40659-016-0103-6.
14. Liu D., Wang M., Tian T., Wang X.J., Kang H.F., Jin T.B. et al. Genetic polymorphisms (rs10636 and rs28366003) in metallothionein 2A increase breast cancer risk in Chinese Han population. Aging. 2017; 9(2): 547-555. doi: 10.18632/aging.101177.
15. Mezynska, M., Brzóska, M.M. Environmental exposure to cadmium—a risk for health of the general population in industrialized countries and preventive strategies. Environ Sci Pollut Res 25, 3211-3232 (2018). doi.org/10.1007/s11356-017-0827-z.
16. Magdalena Meżyńska, Małgorzata M. Brzóska, Joanna Rogalska and Barbara Piłat-Marcinkiewicz. Extract from Aronia melanocarpa L. Berries Prevents Cadmium-Induced Oxidative Stress in the Liver: A Study in A Rat Model of Low-Level and Moderate Lifetime Human Exposure to this Toxic Metal. Nutrients. 2019 Jan; 11(1): 21. doi: 10.3390/nu11010021.
17. Meżyńska M., Brzóska M.M., Rogalska J., Galicka A. Extract from Aronia melanocarpa L. Berries Protects Against Cadmium-induced Lipid Peroxidation and Oxidative Damage to Proteins and DNA in the Liver: A Study using a Rat Model of Environmental Human Exposure to this Xenobiotic. Nutrients. 2019 Apr; 11(4): 758. doi: 10.3390/nu11040758.

REFERENCES:

1. Sukharenko E.V., Maximov V.I. Age changes in expression of glial fibrillar acid protein in rat brains under chronic exposure to cadmium. Journal of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2015; 2(30): 85-93 (in Russian).
2. Polykretis P., Cencetti F., Donati C., Luchinat E., Banci L. Cadmium effects on superoxide dismutase 1 in human cells revealed by NMR. Redox Biol. 2019; 21:101102. doi: 10.1016/j.redox.2019.101102.
3. Nair A.R., Degheselle O., Smeets K., Van Kerkhove E., Cuypers A. Cadmium-Induced Pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)? International journal of molekular sciences. 2013 Mar; 14(3): 6116-6143. doi: 10.3390/ijms14036116.
4. Hartwig A., Asmuss M., Ehleben I., Herzer U., Kostelac D., Pelzer A., Schwerdtle T., and Bürkle A. Interference by Toxic Metal Ions with DNA Repair Processes and Cell Cycle Control: Molecular Mechanisms. Environmental Health Perspectives. 2002;110 Suppl 5:797-9. doi: 10.1289/ehp.021110s5797.
5. Hartwig A. Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: differential effects on structure and function. Antioxid Redox Signal. 2001; 3(4):625-34. doi: 10.1089/15230860152542970.
6. Xue-Bin Ling et al. Mammalian Metallothionein-2A and Oxidative Stress. Int J Mol Sci. 2016 Sep; 17(9): 1483. doi: 10.3390/ijms17091483.
7. Ravindran G., Chakrabarty D., Sarkar A. Cell specific stress responses of cadmium-induced cytotoxicity. Animal cells and systems. 2017; 21(1): 23-30. doi: 10.1080/19768354.2016.1267041.
8. Yang H., Shu Y. Cadmium Transporters in the Kidney and Cadmium-Induced Nephrotoxicity. International journal of molekular sciences. 2015 Jan; 16(1): 1484-1494. doi: 10.3390/ijms16011484.
9. Krivosheev A.B., Lost E.L., Krivosheev B.N., Kupriyanova L.J., Smirnova E.L. Toxic effects of cadmium on the human body. Occupational health and industrial ecology. 2012; 6: 35-42 (in Russian).
10. Anđjelkovic M., Buha Djordjevic A., Antonijevic E. et al. Toxic effect of acute cadmium and lead exposure in rat blood, liver and kidney. Int J Environ Res Public Health. 2019 Jan; 16(2): 274. doi: 10.3390/ijerph16020274.
11. Valerio Branca J.J., Morucci G., Alessandra Pacini A. Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado. Neural Regen Res. 2018; 13(11): 1879-1882. doi: 10.4103/1673-5374.239434.
12. El-Tarras Ael-S., Attia H.F., Soliman M.M., El Awady M.A., Amin A.A. Neuroprotective effect of grape seed extract against cadmium toxicity in male albino rats. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016; 29(3): 398-407. doi: 10.1177/0394632016651447.
13. Wang H., Liu Z., Zhang W., Yuan Z., Yuan H., Liu X., Yang C., Guan W. Cadmium-induced apoptosis of Siberian tiger fibroblasts via disrupted intracellular homeostasis. Biol Res. 2016; 49(1):42. doi:10.1186/s40659-016-0103-6.
14. Liu D., Wang M., Tian T., Wang X.J., Kang H.F., Jin T.B., Zhang S.Q., Guan H.T., Yang P.T., Liu K., Liu X.H., Xu P., Zheng Y., Dai Z.J. Genetic polymorphisms (rs10636 and rs28366003) in metallothionein 2A increase breast cancer risk in Chinese Han population. Aging. 2017; 9(2): 547-555. doi: 10.18632/aging.101177.
15. Mezynska, M., Brzóska, M.M. Environmental exposure to cadmium—a risk for health of the general population in industrialized countries and preventive strategies. Environ Sci Pollut Res 25, 3211-3232 (2018). doi.org/10.1007/s11356-017-0827-z.
16. Magdalena Meżyńska, Małgorzata M. Brzóska, Joanna Rogalska and Barbara Piłat-Marcinkiewicz. Extract from Aronia melanocarpa L. Berries Prevents Cadmium-Induced Oxidative Stress in the Liver: A Study in A Rat Model of Low-Level and Moderate Lifetime Human Exposure to this Toxic Metal. Nutrients. 2019 Jan; 11(1): 21. doi: 10.3390/nu11010021.
17. Meżyńska M., Brzóska M.M., Rogalska J., Galicka A. Extract from Aronia melanocarpa L. Berries Protects Against Cadmium-induced Lipid Peroxidation and Oxidative Damage to Proteins and DNA in the Liver: A Study using a Rat Model of Environmental Human Exposure to this Xenobiotic. Nutrients. 2019 Apr; 11(4): 758. doi: 10.3390/nu11040758

M.M. Ziatdinova, T.G. Yakupova, Ya.V. Valova, G.F. Mukhammadieva, D.O. Karimov, L.Sh. Nazarova, D.A. Smolyankin

ANALYSIS OF MT2A AND MT3 GENE EXPRESSION IN RAT'S LIVER AND KIDNEY IN RESPONSE TO CADMIUM CHLORIDE POISONING

Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation

The aim of this study was to investigate the expression of metallothionein genes in the liver and kidneys of rats with acute cadmium poisoning.

Simulation of poisoning with cadmium chloride was carried out on white outbred female rats, divided into 4 groups depending on the dose of the injected toxicant. RNA samples isolated from rat liver and kidneys were used as research materials.

The multiplicity of expression of the MT3 gene in the kidneys increased at the lowest dose of CdCl₂, which was used in this experiment (0.029 mg / kg); with increasing dosage, the expression level decreased, but not lower than the control values. Analysis of the expression of the same gene in the liver showed a tendency towards a decrease in the content of transcripts with increasing dose. The frequency of expression of the MT2A gene at higher doses of CdCl₂ increased both in the liver and in the kidneys.

In the present work, statistically significant dose-dependent changes in the expression multiplicity of metallothionein genes were detected 24 hours after CdCl₂ administration. The revealed differences in the level of transcriptional activity of metallothionein genes require further investigation, since there are probably differences in the level of gene expression at earlier and later periods of toxicant action.

Keywords: cadmium, metallothioneins, gene expression, oxidative stress, dose-dependent change in expression.

Quote: M.M. Ziatdinova, T.G. Yakupova, Ya.V. Valova, G.F. Mukhammadieva, D.O. Karimov, L.Sh. Nazarova, D.A. Smolyankin. Analysis of MT2A and MT3 gene expression in rat's liver and kidney in response to cadmium chloride poisoning. Toxicological Review. 2020; 6:38-43

Переработанный материал поступил в редакцию 09.11.2020 г.



УДК 613.6

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-43-48

РОЛЬ ЧАСТОТЫ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ В ПЕРЕНОСИМОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Бяловский Ю.Ю.,
Ракитина И.С.

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
390026, г. Рязань, Российская
Федерация

Фактором, ограничивающим переносимость средств индивидуальной защиты органов дыхания следует считать частоту дыхательных движений, которая рефлекторно меняется при возникновении дополнительного респираторного сопротивления. К сожалению, в доступной литературе практически отсутствуют сведения об изменении переносимости средств индивидуальной защиты органов дыхания при разной частоте дыхательных движений. Целью данного исследования явилось изучение переносимости средств индивидуальной защиты органов дыхания при изменении частоты дыхательных движений.

Исследование проводилось на практически здоровых испытуемых обоего пола (78 человек), в возрасте от 20 до 36 лет. Для моделирования условий применения средств индивидуальной защиты органов дыхания использовались инспираторные резистивные дыхательные нагрузки величиной 20% от максимального внутриротового давления при пробе Мюллера. Переносимость средств индивидуальной защиты органов дыхания оценивалась с помощью шкалы визуального аналога одышки по Боргу, которая отражала уровень субъективного дискомфорта, возникающего при включении дополнительного респираторного сопротивления. Во время действия дополнительного респираторного сопротивления, испытуемым предлагалось удерживать частоту дыхательных движений, которая задавалась с помощью специальной установки.

Увеличение темпа дыхательных движений на фоне дополнительного респираторного сопротивления приводит к существенному ухудшению объективных и субъективных показателей функционального состояния испытуемых; замена вдыхаемого воздуха на обогащенную кислородом дыхательную смесь с поглощением углекислого газа не приводила к существенному улучшению функционального состояния. Умеренное уменьшение (до 70% исходной частоты дыхательных движений) темпа дыхания приводит к улучшению показателей адаптивной деятельности в условиях дополнительного респираторного сопротивления. Значительное уменьшение (до 35% исходной частоты дыхательных движений) темпа дыхания в условиях дополнительного респираторного сопротивления приводит к ухудшению объективных и субъективных показателей функционального состояния испытуемых.

Увеличение пиковых скоростей дыхательного потока, вызванное увеличением темпа дыханий, в соответствии с известным уравнением Рорера, существенно увеличивает неэластическое сопротивление и, как следствие, – респираторные потребности. Эти потребности в какой-то период могут удовлетворяться за счет значительного усиления работы дыхательной мускулатуры, однако вследствие утомления последней, довольно быстро нарастает психоэмоциональное напряжение и наступает отказ от использования средств индивидуальной защиты органов дыхания.

Ключевые слова: дополнительное респираторное сопротивление, частота дыхательных движений, средства индивидуальной защиты органов дыхания.

Цит: Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С. Роль частоты дыхательных движений в переносимости средств индивидуальной защиты органов дыхания. Токсикологический вестник. 2020; 6:43-48

Бяловский Юрий Юльевич (Byalovsky Yuri Yulievich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Российская Федерация, b_yu@mail.ru;
Ракитина Ирина Сергеевна (Rakitina Irina Sergeevna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Российская Федерация, rakitina62@gmail.com

Введение. В системе защиты и охраны здоровья работающих одно из важных мест занимают средства индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) [1, 2, 3]. Их использование обусловлено в первую очередь тем, что зачастую, меры инженерно-технологического и санитарно-гигиенического характера в промышленном производстве, горнодобывающих предприятиях и других отраслях промышленности, не позволяют добиться снижения содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны до допустимых уровней, безопасных для здоровья. В таких условиях повышение эффективности СИЗОД для защиты работающих трудно переоценить [4, 5].

Одной из проблем низкой эффективности СИЗОД является нерегулярное их использование в загрязнённой атмосфере. Отчасти это связано с плохой переносимостью СИЗОД, преимущественно из-за субъективного дискомфорта работающего [6]. Факторы, снижающие переносимость СИЗОД можно разделить на технологические (выдача масок, не соответствующих лицам по форме и/или размеру; запоздалая замена противогазных фильтров и т.п.) и физиологические [7, 8]. К последним следует отнести дополнительное респираторное сопротивление (ДРС), возникающее при использовании СИЗОД [9]. Большинство СИЗОД фильтрующего типа имеют клапанную развязку потоков вдыхаемого и выдыхаемого воздуха и характеризуются возникновением ДРС инспираторного типа. Еще одним физиологическим фактором, ограничивающим переносимость СИЗОД следует считать частоту дыхательных движений (ЧДД), которая существенно изменяется при возникновении ДРС. К сожалению, при использовании СИЗОД, как правило не проводится предварительное обучение работающих выбору оптимальной ЧДД в условиях ДРС [10]. Кроме того, в доступной литературе отсутствуют сведения об изменении переносимости СИЗОД при разной ЧДД.

Целью данного исследования явилось изучение переносимости средств индивидуальной защиты органов дыхания при изменении частоты дыхательных движений.

Задачи настоящего исследования: 1) оценить влияние увеличения ЧДД во время действия ДРС на объективные и субъективные показатели функционального состояния испытуемых; 2) выяснить роль умеренного уменьшения (до 70% исходной ЧДД) темпа дыхания на показатели адаптивной деятельности в условиях ДРС; 3) показать влияние значительного уменьшения (до 35% исходной ЧДД) темпа дыхания в условиях ДРС на объективные и субъективные показатели функционального состояния испытуемых.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на практически здоровых до-

бровольцах обоего пола (78 человек), в возрасте от 20 до 36 лет. Для моделирования условий применения СИЗОД использовались инспираторные ДРС. Величина используемых ДРС определялась исходя из значения максимального внутриротового давления при выполнении пробы Мюллера [11]. Проба Мюллера состояла в том, что испытуемый производил вдох при полностью перекрытых ротовой полости и носовых ходах; полученное при этом внутриротовое давление принималось за 100% ($100\%P_{\text{max}}$). Затем, во время действия ДРС, посредством оригинального устройства [12], внутриротовое давление удерживалось на уровне $20\%P_{\text{max}}$, наиболее близком к диапазону ДРС большинства используемых СИЗОД [13,14].

Переносимость СИЗОД оценивалась с помощью шкалы визуального аналога одышки Борга [15], которая отражала уровень субъективного дискомфорта, возникающего при включении ДРС [16]. Перед глазами испытуемого располагалась светодиодная матрица, отражавшая степень затруднения дыхания в диапазоне от 0 (незатрудненное дыхание) до 10 (невозможно терпеть). Во время действия ДРС с помощью джойстика испытуемый мог отражать на светодиодной матрице текущий уровень затруднения дыхания, который фиксировался компьютером [17].

Во время действия ДРС, испытуемым предлагалось удерживать частоту дыхательных движений, которая задавалась с помощью специальной установки [18]. С целью индивидуального подбора темпа дыхательных движений, предварительно определяли среднюю частоту дыхательных движений (ЧДД), развиваемую испытуемым во время свободного дыхания. Эта величина принималась за 100% и в дальнейшем увеличивалась или уменьшалась.

Методика изменения газового состава альвеолярного воздуха у испытуемых [19] состояла в использовании системы, позволявшей добавлять в закрытый контур спирографа кислород из магистрали, а также включать и отключать адсорбер углекислого газа.

У испытуемых регистрировали следующие физиологические показатели: пневмотахограмму и интегрированную спирограмму, давление в полости рта, содержание O_2 и CO_2 в альвеолярном воздухе, оксигемограмму периферической крови, кожно-гальваническую реакцию, интегрированную ЭМГ межреберных мышц, газовый состав и кислотно-щелочное состояние артериальной крови, интегральную реограмму тела, измерялись пороги восприятия респираторных нагрузок и уровень возникающей одышки по Borg. Физиологическая информация посредством информативно-диагностической системы [20] поступала в компьютер, где просчитывались важ-

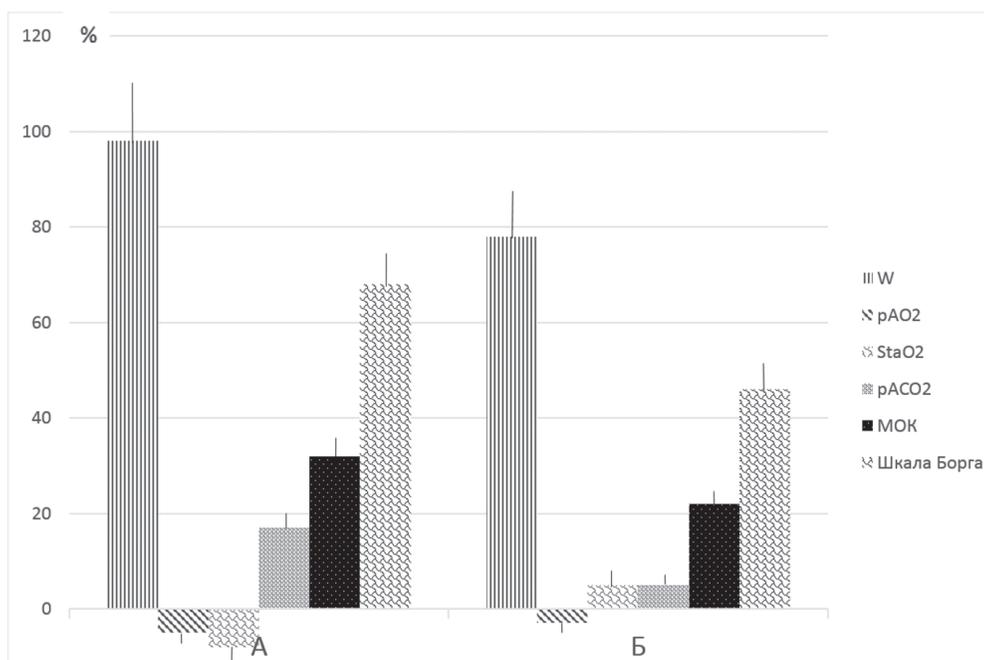


Рис. 1. Показатели сдвигов адаптивной деятельности при реализации ДРС 20%P_{max} при увеличении темпа дыханий до 150% ЧДД_{исх} при дыхании воздухом (А) и кислородом с поглощением углекислого газа (Б)

нейшие производные: парциальное давление O₂ и CO₂ альвеолярного воздуха (PAO₂, PACO₂); альвеолярная вентиляция (VA); работа дыхания (W); сопротивление воздухоносных путей (Raw); общие энергозатраты (E); минутный объем кровообращения (МОК); периферическое сопротивление сосудов (ПСС).

Материал обработан с использованием автоматизированного пакета StatGraphics Plus for Windows v5.4.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты исследования, увеличение навязываемого темпа дыхательных движений вызывает уменьшение адаптивных возможностей испытуемых к преодолению ДРС. Это касается как повышения психоэмоционального напряжения по шкале Борга, так и возрастания отклонения физиологических параметров во время преодоления ДРС (физиологическая стоимость адаптивной деятельности). На рисунке 1 представлены отклонения показателей адаптивной деятельности (взяты в процентах относительно уровня с «естественным» темпом дыхания, принятого за условный ноль) по преодолению 20%P_{max} при воспроизведении темпа дыхательных движений 150% исходной ЧДД в условиях дыхания атмосферным воздухом (А) 80% кислородно-азотной смеси с поглощением CO₂ (Б). Величина 150% исходной ЧДД на ДРС 20%P_{max} была предельной для большинства испытуемых – дальнейшее увеличение темпа приводило к прекращению инспираторного дыхательного потока (по-види-

мому, из-за вентиляции мертвого пространства) и немедленному срыву маски. Из рис. 1 хорошо видно, что удержание темпа 150% исходной ЧДД при дыхании воздухом (А) сопровождается существенным снижением переносимости 20% P_{max} (шкала Борга), почти двукратным увеличением работы дыхания (W), существенными сдвигами кровообращения (МОК) и газового состава (PACO₂, PAO₂, StaO₂).

Как следует из данных рисунков 1 (Б), замена воздуха на 80% кислородно-азотную смесь с поглощением CO₂ не принесла существенного улучшения адаптивных возможностей к преодолению 20%P_{max}. Главным лимитирующим фактором, по-видимому, является избыточная работа дыхательных мышц, что влечет за собой значительное психоэмоциональное напряжение. Таким образом, произвольная регуляция дыхания в виде воспроизведения увеличенного темпа дыхания на фоне резистивных дыхательных нагрузок, вызывает уменьшение адаптивных возможностей испытуемых, оцениваемых по критерию переносимости СИЗОД (шкала Борга) и физиологической стоимости эффекта даже в условиях нормализации газового состава.

На рисунке 2 приведены показатели сдвигов адаптивной деятельности (в процентах от условного ноля, характеризующего незатрудненное дыхание), возникших во время преодоления 20%P_{max} при воспроизведении навязываемых темпов дыхания 70% исходной ЧДД (А) и 35% исходной ЧДД (Б). Отмечены существенные от-

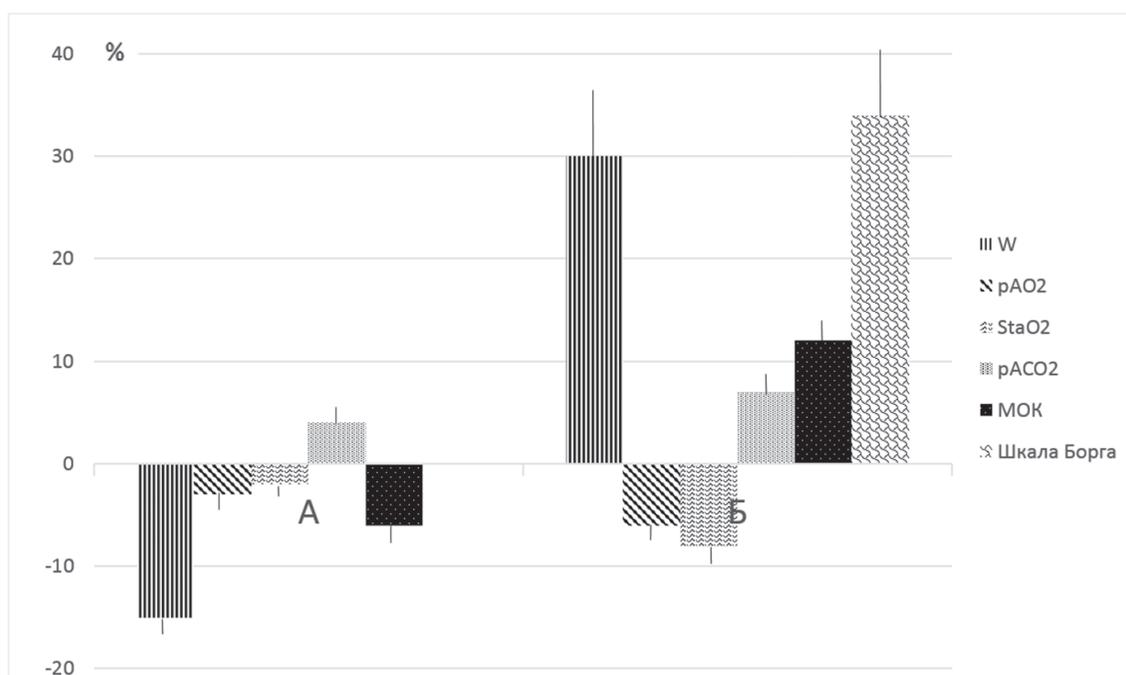


Рис. 2. Показатели сдвигов адаптивной деятельности во время действия ДРС 20%Pmmax при воспроизведении темпа дыхания 70% ЧДДисх (А) и 35% ЧДДисх (Б).

личия в характере сдвигов при реализации указанных темпов. Уменьшение ЧДД до 70% ЧДДисх сопровождалось повышением адаптивных возможностей испытуемых: наблюдалась оптимизация основных параметров адаптивной деятельности – снижение психоэмоционального напряжения (шкала Борга), уменьшение работы дыхания (W), снижение МОК ($p < 0,05$). Регистрируемые незначительные сдвиги газового состава ($РАСО_2$, $РАО_2$, $StaO_2$) не достигали достоверных значений. Полученные результаты показывают, что уменьшение работы дыхания за счет умеренного снижения ЧДД, благоприятно сказывается на функциональном состоянии испытуемых и переносимости ДРС. Это, в свою очередь, представляет практические возможности для обучения правильному дыханию лиц, работающих в условиях ДРС.

Однако, как следует из данных рис. 2 (Б), дальнейшее снижение навязываемой частоты дыханий до 35% ЧДДисх сопровождается обратными явлениями: ростом работы дыхания (W), отклонениями газового состава ($РАСО_2$, $РАО_2$, $StaO_2$), увеличением психоэмоционального напряжения (шкала Борга). Как показали результаты описываемой серии исследований, большинство испытуемых долговременной адаптации на 20%Pmmax не могут усвоить темп ниже 30% от исходной ЧДД.

В настоящем исследовании было подтверждено положение о том, что увеличение частоты дыхательных движений в условиях ДРС, приводит

к снижению переносимости СИЗОД [21]. По-видимому, резкое увеличение пиковых скоростей дыхательного потока, вызванное увеличением темпа дыханий, в соответствии с известным уравнением Рорера [22], существенно увеличивает неэластическое сопротивление и, как следствие, – респираторные потребности. Эти потребности в какой-то период могут удовлетворяться за счет значительного усиления работы дыхательной мускулатуры, однако вследствие утомления последней, довольно быстро нарастает психоэмоциональное напряжение и наступает отказ от продолжения исследования [23, 24]. Положение усугубляется снижением эффективности вентиляции в силу уменьшения альвеолярной вентиляции (из-за усиленного «промыывания» мертвого пространства). Именно поэтому мы наблюдали существенную разницу между содержанием альвеолярного кислорода и кислорода в крови. Тканевая гипоксия и гиперкапния, вызывая стимуляцию центрально-инспираторной активности, усугубляли утомление дыхательной мускулатуры [25, 26].

Весьма существенным обстоятельством следует считать тот факт, что нормализация газового состава не приводила к полной оптимизации функционального состояния испытуемых. Наиболее «узким» фактором, лимитирующим переносимость ДРС, является дыхательная мускулатура [27, 28]. Именно утомление дыхательных мышц дает психоэмоциональное напряжение, являющееся непосредственной причиной отказа от

дальнейшего преодоления резистивной нагрузки. Эти данные подтверждают высказываемые рядом исследователей [29, 30] положение о том, что именно работа дыхательной мускулатуры является ведущим «ценовым» фактором, ограничивающим переносимость ДРС. В свою очередь, предварительное обучение работающих к выработке оптимального паттерна дыхания в условиях ДРС, позволит увеличить переносимость СИЗОД.

Выводы.

Увеличение темпа дыхательных движений на фоне дополнительного респираторного сопротивления приводит к существенному ухудшению объективных и субъективных показателей функционального состояния испытуемых; заме-

на вдыхаемого воздуха на обогащенную кислородом дыхательную смесь с поглощением углекислого газа не приводила к существенному улучшению функционального состояния.

Умеренное уменьшение (до 70% исходной ЧДД) темпа дыхания приводит к улучшению показателей адаптивной деятельности в условиях ДРС.

Значительное уменьшение (до 35% исходной ЧДД) темпа дыхания в условиях ДРС приводит к ухудшению объективных и субъективных показателей функционального состояния испытуемых.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Финансовая поддержка статьи отсутствует

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чашин В.П., Никанов А.Н., Анфалова Г.Л. Анализ эффективности средств индивидуальной защиты органов дыхания от пыли на предприятиях по переработке слюды. Экология человека. 2006; 4: 55-4.
2. Капцов В.А., Чиркин А.В. Об эффективности средств индивидуальной защиты органов дыхания как средства профилактики заболеваний (обзор). Токсикологический вестник. 2018; 2: 2-4.
3. Чудинин Н.В., Кирюшин В.А., Ракина И.С. Оценка профессионального риска, как метод прогнозирования состояния здоровья работников, занятых во вредных условиях труда. Наука молодых - Eruditio Juvenium. 2013; 1: 5-7.
4. Малашенко А.В. Многофакторный генез профессиональной лёгочной патологии у горнорабочих урановых шахт. Медицинская радиология, 2010; 2: 5-8.
5. Голынько В.И., Наумов М.М., Чеберячко С.И., Радчук Д.И. Дослідження захисної ефективності вітчизняних одноразових протипилових респіраторів за європейськими стандартами. Metallurgical and mining industry, 2011; 5: 118-4.
6. Сорокин Ю.Г. Новое в средствах индивидуальной защиты. Безопасность жизнедеятельности. 2006; 1: 11-6.
7. Романов В.В., Рубцов В.И., Ключков В.Н., Суворцев Н.А., Тимошенко А.И. Государственный санитарно-эпидемиологический надзор за средствами индивидуальной защиты органов дыхания на радиационно опасных объектах. Гигиена и санитария. 2006; 4: 78-4.
8. Петрянов И.В., Кошечев В.С., Басманов П.И. Лёгкие респираторы. 2 изд. Москва: Наука, 2015.
9. Бяловский Ю.Ю., Булатецкий С.В., Кирюшин В.А., Прохоров Н.И. Иммунологические показатели человека в условиях применения индивидуальных средств защиты органов дыхания. Гигиена и санитария. 2017; 8: 96-4.
10. Бяловский Ю.Ю. Условный дыхательный рефлекс на увеличенное сопротивление дыханию как экспериментальная модель адаптивной деятельности. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2012; 2: 75-10.
11. Александрова Н.П. Механизмы компенсаторных реакций дыхательной системы на инспираторные резистивные нагрузки. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН. Санкт-Петербург, 2003.
12. Бяловский Ю.Ю., Абросимов В.Н. Пневматический дозатор внешнего сопротивления дыханию. Описание изобретения к патенту Российской Федерации № 2071790, 1997.
13. Шаталов Э.В., Щербаков М.Г., Балдыч А.А., Дроздов С.Н. Медико-технические аспекты эксплуатации средств индивидуальной защиты военнослужащего. Военная мысль. 2008; 4: 40-5.
14. Мионов Л. А. Применение средств индивидуальной защиты. Н. Новгород: БИОТа, 2009.
15. Borg G. Psychophysical bases of perceived exertion. Med. and science in sports and exertion. 1982; 14 (5): 377-5.
16. Бяловский Ю.Ю., Булатецкий С.В. Физиологические механизмы резистивного дыхания человека. Воронеж: Издательство РИТМ, 2018.
17. Бяловский Ю.Ю., Лапкин М.М., Боярчук В.А., Нагибин О.А. Устройство для визуальной самооценки функционального состояния человека. Рязань, 1992.
18. Бяловский Ю.Ю. Устройство для управления дыхательным ритмом человека в условиях дополнительного сопротивления дыханию. Рязань, 1995.
19. Fahey P.J., Hyde R.W. Detection of depressed ventilatory drive in patients with obstructive pulmonary diseases. Chest. 1983; 84 (1): 19-6.
20. Белов А.Ф., Бяловский Ю.Ю., Лапкин М.М. Информационно-диагностическая система для психофизиологической защиты органов дыхания человека. Рязань, 1990.
21. Капцов В.А., Чиркин А.В. Об оценке эффективности средств индивидуальной защиты органов дыхания. Безопасность в техносфере. 2015; 4: 5: 7-8.
22. Rohrer F. Der Zusammenhang der Atemkrafte und ihre Abhangigkeit vom Dehnungszustand der Atmungsorgane. Arch.Ges.Physiol. 1916; 165; 419-26.
23. Суслина И.В. Повышение функционального состояния дыхательной мускулатуры спортсменов в результате тренировки с дополнительным неэластическим сопротивлением дыханию. Физическое воспитание и спортивная тренировка. 2016; 2 (16): 63-5.
24. Горбанёва Е.П., Камчатников А.Г., Солопов И.Н., Сегибаева М.О., Александрова Н.П. Оптимизация функции дыхания посредством тренировки с дополнительным резистивным сопротивлением. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2011; 97 (1): 83-8.
25. Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н., Беляков В.И. Дыхательный центр и регуляция его деятельности супрабульбарными структурами. Самара: Издательство «Самарский университет», 2007.
26. Сафонов В.А., Тарасова Н.А. Структурно-функциональная организация дыхательного центра. Физиология человека. 2006; 1: 118-13.
27. Сафонов В.А., Миняев В.И., Полуни И.Н. Дыхание. М., 2000.
28. Сегибаева М.О., Александрова Н.П. Применение индекса «напряжение - время» для оценки функционального состояния инспираторных мышц. Ульяновский медико-биологический журнал. 2014; 2: 78-7.
29. Черешнев В.А., Бяловский Ю.Ю., Булатецкий С.В., Давыдов В.В. Иммунологические показатели человека в условиях действия увеличенного сопротивления дыханию. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2018; 15 (4): 555-8.
30. Сегибаева М.О., Александрова Н.П. Оценка устойчивости разных групп инспираторных мышц к утомлению при физической нагрузке на фоне моделируемой обструкции дыхательных путей. Физиология человека. 2014; 40 (6): 114-2.

REFERENCES:

1. Chashchin V.P., Nikonov A.N., Anfalova G.L. Analysis of the effectiveness of personal respiratory protection equipment from dust at mica processing enterprises. Human ecology. 2006; 4: 55-4 (in Russian).
2. Kaptsov V.A., Chirkin A.V. On the effectiveness of respiratory protective equipment as a means of preventing disease (review). Toxicological Review. 2018; 2: 2-4 (in Russian).
3. Chudin N.V., Kiryushin V.A., Rakitina I.S. Assessment of occupational risk as a method for predicting the health status of workers employed in hazardous working conditions. Science of the young. - Eruditio Juvenium. 2013; 1: 5-7 (in Russian).
4. Malashenko A.V. Multifactorial genesis of occupational pulmonary pathology in workers of uranium mines. Medical Radiology, 2010; 2: 5-8 (in Russian).
5. Golyn'ko V.I., Naumov M.M., Cheberyachko S.I., Radchuk D.I. Up to date one-time effectiveness of one-time disposable prototypical respirators for European standards. Metallurgy and mining industry, 2011; 5: 118-4 (in Russian).
6. Sorokin Yu.G. New in personal protective equipment. Life safety. 2006; 1: 11-6 (in Russian).
7. Romanov V.V., Rubtsov V.I., Klochkov V.N., Surovtsev N.A., Timoshenko A.I. State sanitary and epidemiological supervision of personal respiratory protection equipment at radiation-hazardous facilities. Hygiene and sanitation. 2006; 4: 78-4 (in Russian).
8. Petryanov I.V., Koshcheev V.S., Basmanov P.I. Light respirators. 2 ed. Moscow: Nauka, 2015 (in Russian).
9. Byalovsky Yu.Yu., Bulatetsky S.V., Kiryushin V.A., Prokhorov N.I. Human immunological indicators in the conditions of using individual respiratory protection equipment. Hygiene and sanitation. 2017; 8: 96-4 (in Russian).
10. Byalovsky Yu.Yu. Conditional respiratory reflex for increased resistance to breathing as an experimental model of adaptive activity. Russian Medical and Biological Bulletin named after I.P. Pavlov. 2012; 2: 75-10 (in Russian).
11. Alexandrova N.P. Mechanisms of compensatory reactions of the respiratory system to inspiratory resistive loads. Abstract of the dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. Saint Petersburg, 2003 (in Russian).
12. Byalovsky Yu.Yu., Abrosimov V.N. Pneumatic dispenser for external breathing resistance. Patent of the Russian Federation No. 2071790, 1997. (in Russian).
13. Shatalov E.V., Shcherbakov M.G., Baldych A.A., Drozdov S.N. Medical and technical aspects of the operation of personal protective equipment for military personnel. Military thought. 2008; 4: 40-5 (in Russian).

14. Mironov L.A. Application of personal protective equipment. N. Novgorod: Biota, 2009 (in Russian).
15. Borg G. Psychophysical bases of perceived exertion. Med. and science in sports and exertion. 1982; 14 (5): 377-5.
16. Byalovsky Yu.Yu., Bulatetsky S.V. Physiological mechanisms of human resistive respiration. Voronezh: RITM Publishing house, 2018 (in Russian).
17. Byalovsky Yu.Yu., Lapkin M.M., Boyarchuk V.A., Nagibin O.A. Device for visual self-assessment of a person's functional state. Ryazan, 1992 (in Russian).
18. Byalovsky Yu.Yu. Device for controlling the respiratory rhythm of a person in conditions of additional resistance to breathing. Ryazan, 1995 (in Russian).
19. Fahey P.J., Hyde R.W. Detection of depressed ventilatory drive in patients with obstructive pulmonary disease. Honour. 1983; 84 (1): 19-6.
20. Belov A.F., Byalovsky Yu.Yu., Lapkin M.M. Information and diagnostic system for human psychophysiological research. Ryazan, 1990 (in Russian).
21. Kaptsov V.A., Chirkin A.V. On the assessment of the effectiveness of personal protective equipment for respiratory organs. Security in the technosphere. 2015; 4: 5: 7-8 (in Russian).
22. Rohrer F. Der Zusammenhang der Atemkrafte und ihre Abhangigkeit vom Dehnungszustand der Atmungsorgane. Arch.Ges.Physiol. 1916; 165: 419-26.
23. Suslina I.V. Improving the functional state of the respiratory muscles of athletes as a result of training with additional inelastic resistance to breathing. Physical education and sports training. 2016; 2 (16): 63-5 (in Russian).
24. Gorbaneva E.P., Kamchatnikov A.G., Solopov I.N., Segizbaeva M.O., Alexandrova N.P. Optimization of respiratory function by training with additional resistive resistance. Russian physiological journal named after I.M. Sechenov. 2011; 97 (1): 83-8 (in Russian).
25. Merkulova H.A., Inyushkin A.N., Belyakov V.I. Respiratory center and regulation of its activity by suprabulbar structures. Samara: Samara University Publishing House, 2007 (in Russian).
26. Safonov V.A., Tarasova H.A. Structural and functional organization of the respiratory center. Human physiology. 2006; 1: 118-13 (in Russian).
27. Safonov V.A., Minyaev V.I., Polunin I.N. Breath. M., 2000 (in Russian).
28. Segizbaeva M.O., Alexandrova N.P. Application of the "stress - time" index to assess the functional state of inspiratory muscles. Ulyanovsk medical and biological journal. 2014; 2: 78-7 (in Russian).
29. Chereshnev V.A., Byalovsky Yu.Yu., Bulatetsky S.V., Davydov V.V. Human immunological indicators under the conditions of increased respiratory resistance. Bulletin of the Ural Medical Academic Science. 2018; 15 (4): 555-8 (in Russian).
30. Segizbaeva M.O., Alexandrova N.P. Assessment of the resistance of different groups of inspiratory muscles to fatigue during exercise against the background of simulated airway obstruction. Human physiology. 2014; 40 (6): 114-2 (in Russian).

Yu.Yu. Byalovsky, I.S. Rakitina

ROLE OF RESPIRATORY RATE IN THE TOLERABILITY OF PERSONAL RESPIRATORY PROTECTION EQUIPMENT

I.P.Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 390026, Ryazan, Russian Federation

The factor limiting the tolerance of personal respiratory protection equipment should be considered the frequency of respiratory movements, which reflexively changes when additional respiratory resistance occurs. Unfortunately, there is almost no information in the available literature about changes in the tolerability of personal respiratory protection equipment at different rates of respiratory movements. The purpose of this work was to study the tolerability of personal respiratory protection equipment when changing the frequency of respiratory movements.

The study was conducted on practically healthy persons of both sexes (78 people), aged from 20 to 36 years. To simulate the conditions for the use of personal respiratory protection equipment, inspiratory resistive respiratory loads of 20% of the maximum intraoral pressure during the Mueller test were used. The tolerance of personal respiratory protection equipment was assessed using the Borg visual analogue of dyspnea scale, which reflected the level of subjective discomfort that occurs when additional respiratory resistance is turned on. During the action of additional respiratory resistance, the persons were asked to hold the frequency of respiratory movements, which was set using a special setting.

An increase in the rate of respiratory movements against the background of additional respiratory resistance leads to a significant deterioration in the objective and subjective indicators of the functional state of the persons; replacing the inhaled air with an oxygen-rich respiratory mixture with carbon dioxide absorption did not lead to a significant improvement in the functional state. A moderate decrease (up to 70% of the initial frequency of respiratory movements) in the rate of respiration leads to an improvement in the indicators of adaptive activity in conditions of additional respiratory resistance. A significant decrease (up to 35% of the initial frequency of respiratory movements) in the rate of respiration under conditions of additional respiratory resistance leads to a deterioration of objective and subjective indicators of the functional state of the subjects.

An increase in peak respiratory flow rates caused by an increase in the rate of respiration, in accordance with the well – known Rohrer equation, significantly increases inelastic resistance and, as a result, respiratory needs. These needs can be met at some time due to a significant increase in the work of the respiratory muscles, but due to fatigue of the latter, psychoemotional tension increases quite quickly and the use of personal respiratory protection equipment is abandoned.

Keywords: *additional respiratory resistance, frequency of respiratory movements, personal respiratory protection equipment.*

Quote: Yu.Yu. Byalovsky, I.S. Rakitina. Role of respiratory rate in the tolerability of personal respiratory protection equipment. Toxicological Review. 2020; 6:43-48

Материал поступил в редакцию 10.08.2019 г.

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 615.917:541-304

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-49-53

ОТЕЧЕСТВЕННОЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СОЕДИНЕНИЕ 2-[3-(2-ХЛОРЕТИЛ)-3-НИТРОЗОУРЕИДО] 1,3-ПРОПАНДИОЛ (ХЛОНИЗОЛ). ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

А.Н. Стуков¹, С.Ф. Вершинина²,
Н.Н. Харитонова², Л.В. Филатова¹,
Д.Х. Латипова¹, М.Л.Тындык¹,
Ю.Г. Змитриченко¹, А.Л. Семенов¹,
В.Г. Беспалов¹, Т.Ю. Семиглазова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова»
Минздрава РФ, 197758, Санкт-Петербург,
Российская Федерация;

²ФГБУ «РНЦРХТ им. академика А. М. Гранова»
Минздрава РФ, 197758, Санкт-Петербург,
Российская Федерация;

³ВМА им. С. М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет),
119991, г. Москва, Российская Федерация

2-[3-(2-Хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) является представителем отдельной группы производных класса нитрозоалкилмочевин – алкилнитрозоуреидопропандиолов, отличающихся высокой противоопухолевой активностью на широком спектре экспериментальных опухолей. LD₅₀ хлонизола у мышей самцов при внутривенном введении составила 35 мг/кг, внутрибрюшинном – 39 мг/кг, у мышей самок – соответственно 34 мг/кг и 36 мг/кг. У крыс самцов при внутрибрюшинном введении LD₅₀ составила 30 мг/кг, у крыс самок – 32 мг/кг. Максимально переносимая доза у мышей, крыс, морских свинок и кроликов равнялась 20 мг/кг. Переносимой дозой для собак была доза 2 мг/кг. Дозолимитирующим побочным эффектом была миелодепрессия. Летальные и сублетальные дозы хлонизола вызывали у животных аплазию костного мозга и лимфоидных органов, повреждение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, дистрофические изменения в миокарде, легких, печени, почках, поджелудочной железе, репродуктивных органах. В поздние сроки после внутрибрюшинного введения сублетальных доз хлонизола у части крыс обнаруживался хилоторакс и хилоперитонеум.

Ключевые слова: нитрозоалкилмочевины, алкилнитрозоуреидопропандиолы, 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол, хлонизол, острая токсичность.

Цит: А.Н. Стуков, С.Ф. Вершинина, Н.Н. Харитонова, Л.В. Филатова, Д.Х. Латипова, М.Л.Тындык, Ю.Г. Змитриченко, А.Л. Семенов, В.Г. Беспалов, Т.Ю. Семиглазова. Отечественное противоопухолевое соединение 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо] 1,3-пропандиол (хлонизол). Острая токсичность. Токсикологический вестник. 2020; 6:49-53

Стуков Александр Николаевич (Stukov Alexander Nikolaevich), доктор медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, stukov2008@yandex.ru

Вершинина София Фатхутдиновна (Vershinina Sofia Fathutdinovna), доктор биологических наук, ведущий сотрудник ФГБУ «РНЦРХТ им. академика А.М. Гранова» Минздрава РФ, sofia.vershinina.2010@mail.ru

Харитонова Наталья Николаевна (Kharitonova Natalja.Nicolaevna), кандидат медицинских наук, доцент ВМА им. С.М. Кирова, natal56@mail.ru

Филатова Лариса Валентиновна (Filatova Larisa Valentinovna), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, larisa_filatova@list.ru

Латипова Дилором Хамидовна (Latipova Dilorom Hamidovna), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, dilat77@mail.ru

Тындык Маргарита Леонидовна (Tyndyk Margarita Leonidovna), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, margo_159@mail.ru

Змитриченко Юлия Геннадьевна (Zmitrichenko Yuliya Gennadievna), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, zmitrichenko@gmail.com

Семенов Александр Леонидович (Semenov Alexander Leonidovich), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, genesem7@mail.com

Беспалов Владимир Григорьевич (Bespalov Vladimir Grigorievich), ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, bespalov_nio@mail.ru

Семиглазова Татьяна Юрьевна (Semiglazova Tatiana Yuryevna), доктор медицинских наук, руководитель отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ онкологии им. им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, tsemiglazova@mail.ru

Введение. 2-[3-(2-Хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) принадлежит к алкилнитрозоуреидопропандиолам – отдельной группе производных нитрозоалкилмочевины, у которых носителем алкилнитрозоалкилмочевинной цитотоксической функции являются 2-замещенные 2-амино-1,3-пропандиолы. Была установлена высокая противоопухолевая активность алкилнитрозоуреидопропандиолов на широком спектре перевиваемых опухолей [1]. Отобранный для углубленного изучения 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, хорошо растворимый в воде, в 95% спирте, растворим в хлороформе, ацетоне, этилацетате. Под влиянием хлонизола достигается значительное увеличение продолжительности жизни вплоть до полного излечения мышей с лейкемией L 1210 и P-388, на 90-100% тормозится рост меланомы B-16, эпидермоидной карциномы легких Lewis, асцитной и солидной опухоли Эрлиха, саркомы 180, лимфосаркомы ЛИО-1, HER2-положительных опухолей молочных желез у мышей, саркомы 45 и карциносаркомы Walker 256 у крыс. Хлонизол хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер и оказывает значительный терапевтический эффект при опухолях, трансплантированных в головной мозг [2-4].

Цель исследования – изучение токсических свойств хлонизола при его парентеральном однократном введении».

Материалы и методы. Эксперименты проводились на мышах, крысах, морских свинках, кроликах и собаках. Хлонизол вводили внутрибрюшинно и внутривенно. Хлонизол растворяли *ex tempore* в 0,9% растворе натрия хлорида. Изучали состояние животных, динамику массы тела, выживаемость; проводили гематологические, биохимические и морфологические исследования.

В течение эксперимента все животные находились в стандартных условиях, получали стандартный комбинированный корм и питьевую воду *ad libitum*. Все экспериментальные исследования проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), под контролем Комитета по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

Результаты и обсуждение.

У мышей-самцов при однократном внутрибрюшинном введении LD₅₀ хлонизола составила 39 мг/кг, при внутривенном – 35 мг/кг, у мышей самок – соответственно 36 мг/кг и 34 мг/кг. У крыс-самцов при внутрибрюшинном введении LD₅₀ равнялась 30 мг/кг, у самок – 32 мг/кг. Максимально переносимая доза у мышей и крыс при

однократном введении – 20 мг/кг.

Морские свинки при однократном внутрибрюшинном введении переносили дозу 20 мг/кг. Доза 20 мг/кг была переносимой и для кроликов при однократном внутривенном введении.

Для собак при однократном внутривенном введении доза 10 мг/кг оказалась летальной, доза 2 мг/кг переносилась без особых последствий.

При введении летальных доз гибель животных происходила главным образом на 4-8 сутки. У погибших животных обнаруживалась аплазия лимфоидных органов, кровоизлияния, эрозии и язвы в выходном отделе желудка и в тонком кишечнике. На 3-й день после введения токсических доз препарата у животных обнаруживалась диарея, к 4-5 дню развивалась лейкопения. Под влиянием высоких доз хлонизола у животных снижался аппетит, уменьшалась масса тела. У животных, получивших максимально переносимые дозы хлонизола, нарастание массы тела по сравнению с интактным контролем происходило с заметным отставанием.

У мышей, погибших после введения высоких доз хлонизола, отмечалась аплазия лимфоидных органов. Напротив, у выживших животных на 45 день масса вилочковой железы и селезенки оказалась даже больше, чем в контроле, что свидетельствует о компенсаторной гипертрофии лимфоидных органов. Отмечалось снижение массы семенников. Обращает на себя внимание увеличение массы и коэффициента массы легких у мышей, получивших хлонизол в дозе 40 мг/кг.

При аутопсии у крыс, погибших после внутрибрюшинного введения высоких доз хлонизола, в плевральной и брюшной полостях обнаруживался серозный или серозно-геморрагический выпот. На слизистой оболочке желудка имелись эрозии и изъязвления. Селезенка и вилочковая железа значительно уменьшены в размерах, масса семенников и яичников не снижена. При микроскопических исследованиях в миокарде выявлялись дистрофические изменения кардиомиоцитов, в легких – геморрагический отек, в печени – зернистая и гидропическая дистрофия гепатоцитов, в почках – зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев, в селезенке – резкое обеднение клеточными элементами, в слизистой желудка, тонкой и толстой кишок – резко выраженные дистрофические изменения эпителия вплоть до некрозов, в поджелудочной железе – дисконфлексация долек, отек стромы, очаговые некрозы, в головном мозгу – перивентрикулярный и периваскулярный отек. Выявлялась выраженная аплазия костномозгового кровотока.

У крыс на 14 день после однократного внутрибрюшинного введения сублетальных доз хлонизола были обнаружены умеренные дис-

трофические изменения паренхиматозных органов, гипоплазия вилочковой железы, селезенки и костного мозга. У крыс на 45 день после однократного внутрибрюшинного введения сублетальных доз хлонизола отмечалось значительное уменьшение жировой клетчатки, очаговая лимфоцитарная инфильтрация и отек стромы в миокарде, слабая и умеренная дистрофия в паренхиматозных органах, репаративные процессы в селезенке и костном мозге. Измерение массы и коэффициентов массы внутренних органов показало, что лимфоидные органы практически вернулись к исходным величинам, масса семенников не отличалась от контроля, однако яичники были меньше, чем в контроле.

У части крыс в поздние сроки после внутрибрюшинного введения сублетальных доз хлонизола в брюшной, а иногда и в плевральной, полостях определялось значительное количество жидкости молочно-белого цвета с высоким содержанием мононуклеаров. Учитывая характер этой жидкости, а также то, что при внутривенном пути введения хлонизола она не обнаруживалась, данное осложнение следует расценивать как хилоперитонеум и хилоторакс, обусловленные прямым повреждением лимфатической системы хлонизолом при его внутриполостном введении.

Гематологические исследования показали, что введение крысам летальных и сублетальных доз вызывает глубокое подавление всех ростков кроветворной системы. У крыс, погибших на 4 – 10 сутки после однократного введения хлонизола в дозах 40 – 70 мг/кг, регистрировалась практически тотальная аплазия костного мозга. Однократное внутрибрюшинное введение хлонизола в максимально переносимой дозе 20 мг/кг вызывало у крыс лейкопению с лимфо- и гранулоцитопенией. Количество лейкоцитов на 5 день было снижено на 35%, на 14 день – на 41%. Отмечался сдвиг лейкоцитарной формулы влево с появлением в периферической крови метамиелоцитов. К 20 дню общее количество лейкоцитов почти вернулось к исходному, но число лимфоцитов составляло лишь 63% от исходного, тогда как число сегментоядерных гранулоцитов превышало исходное значение на 51%, а палочкоядерных – на 888% (исходный уровень палочкоядерных гранулоцитов ($\times 10^6/\text{л}$) был равен 128 ± 30 , а к 20 дню он возрос до 1264 ± 360). К 42 дню количество лимфоцитов мало отличалось от исходного, количество сегментоядерных и палочкоядерных гранулоцитов значительно снизилось, но всё ещё оставалось повышенным. Обращает на себя внимание умеренное, но продолжительное снижение количества тромбоцитов. Другие показатели периферической крови под влиянием хлонизола в дозе 20 мг/кг существенно не изменялись.

В исследованиях на морских свинках хлонизол вводили внутрибрюшинно однократно в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг. Эти дозы не вызывали гибели животных и не оказывали заметного влияния на их состояние. Хлонизол не оказал существенного влияния на содержание эритроцитов в периферической крови у морских свинок, уровень гемоглобина, количество ретикулоцитов, тромбоцитов, скорость свертывания крови. В то же время обе дозы вызывали сильное угнетение лейкопоза. К 5 дню после введения хлонизола в дозе 10 мг/кг число лейкоцитов в периферической крови у морских свинок снизилось на 65% по отношению к исходному, а в дозе 20 мг/кг – на 73%. Наиболее выраженным было угнетение гранулоцитопоза. При дозе 10 мг/кг количество гранулоцитов снизилось на 79%, а при дозе 20 мг/кг – на 98%. Количество лимфоцитов снизилось соответственно на 57% и 64%. При дозе 10 мг/кг количество гранулоцитов и лимфоцитов вернулось к исходному уровню к 28 дню. При дозе 20 мг/кг общее число лейкоцитов приблизилось к исходному к 14 дню, но при этом отмечался значительный сдвиг лейкоцитарной формулы влево с увеличением числа палочкоядерных гранулоцитов и появлением в периферической крови метамиелоцитов. К 28 дню общее число лейкоцитов у морских свинок, получивших 20 мг/кг, превысило исходный уровень на 32%, лимфоцитов – на 17%, гранулоцитов – на 73% и палочкоядерных – на 133%.

Кроликам хлонизол вводили внутривенно однократно в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг. Введение хлонизола в дозе 10 мг/кг не отразилось на состоянии и поведении кроликов, не вызывало диареи, нарушения аппетита, изменений в периферической крови.

Доза 20 мг/кг при однократном внутривенном введении также не была летальной, но оказывала заметное токсическое действие. У кроликов снижалась масса тела, к 21 дню наблюдения она оказалась меньше исходной на 20%.

Внутривенное введение хлонизола в дозе 20 мг/кг не оказало у кроликов существенного влияния на уровень эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, гематокрит, скорость свертывания крови, содержание тромбоцитов. Однако влияние на лейкопоз было заметным. На 6 день количество лейкоцитов снизилось на 54%, лимфоцитов – на 54%, сегментоядерных гранулоцитов – на 58% и палочкоядерных – на 73%. К 20 дню общее число лейкоцитов составило 91% от исходного, гранулоцитов – 81%, уровень лимфоцитов вернулся к исходному. При биохимических исследованиях крови, произведенных на 3 и 10 дни после введения хлонизола, достоверных отличий от исходных величин выявлено не было.

При аутопсии кроликов, произведенной на 21 день после введения хлонизола, макроскопических изменений во внутренних органах не отмечалось. При гисто-логических исследованиях у кроликов, получивших хлонизол в дозе 10 мг/кг и 20 мг/кг, в миокарде обнаруживалась очаговая фрагментация волокон и очаговая лимфоцитарная инфильтрация, в печени – зернистая и гидропическая дистрофия гепатоцитов, в легких – склероз стенок сосудов, в почках – зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев, в селезенке – реактивные центры слабо выражены, рисунок строения стерт, в семенниках – умеренная атрофия канальцев, желудок, тонкий и толстый кишечник – обычного строения, в головном мозгу – перипеллюлярный отек.

В исследованиях на собаках хлонизол вводили внутривенно однократно дозах 2 мг/кг и 10 мг/кг. Доза 2 мг/кг для собаки была выбрана, исходя из максимально переносимой для мышей лозы 20 мг/кг, соответствующей 60 мг/м² для мыши с массой тела 20 г и приближающейся для собак с массой тела свыше 15 кг к 2 мг/кг. Введение собаке (самец, масса тела 25 кг) хлонизола в дозе 2 мг/кг не отразилось на состоянии и поведении животного в течение всего периода наблюдения (1,5 мес.). Собака оставалась активной, у нее сохранялся хороший аппетит, масса тела животного за 45 дней возросла с 25 до 28 кг. Со стороны периферической крови не было особых отклонений в сравнении с исходным уровнем за исключением умеренного лейкоцитоза на 42 день. Не было выявлено патологических изменений в моче. При биохимических исследованиях крови отмечалось повышение по сравнению с исходным уровнем глюкозы и аланинаминотрансферазы.

При аутопсии собаки, произведенной на 45 день после введения хлонизола в дозе 2 мг/кг, макроскопических изменений обнаружено не было. При гистологическом исследовании внутренних органов установлена лишь легкая дистрофия части гепатоцитов и кардиомиоцитов.

Другой собаке (самец, масса тела 25 кг) хлонизол был введен в дозе 10 мг/кг также внутривенно однократно. В течение первых двух дней состояние собаки оставалось удовлетворительным. На 3 день началась диарея. Биохимическое исследо-

вание крови, произведенное на 3 день, не выявило резких изменений по сравнению с исходными данными.

До 6 дня собака оставалась активной, но аппетит резко снижался. На 7 день собака стала очень вялой и на 8 день погибла при явлениях резкой адинамии и сукровичных выделений из рта и прямой кишки. При вскрытии собаки в трахее обнаружена жидкая кровь, на поверхности легких – множественные кровоизлияния, аплазия вилочковой железы и лимфатических узлов, кровоизлияния в выходном отделе желудка, глубокая язва в стенке 12-перстной кишки. При гистологическом исследовании установлено: в миокарде – отек стромы, умеренная лимфоцитарная инфильтрация, выраженная зернистая дистрофия кардиомиоцитов, в легких – венозное полнокровие, местами геморрагический отек, в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта – атрофия желез, местами очаговые некрозы, множественные острые язвы, в печени – гиперхроматоз ядер гепатоцитов, зернистая и гидропическая дистрофия, в поджелудочной железе – отек стромы и дискомплексация долек, в селезенке – обеднение клеточными элементами ретикулярного синцития, центры размножения отсутствуют, в почках – резко выраженное венозное полнокровие и зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев, в семенниках морфологических изменений не обнаружено, в головном мозгу – слабый перипеллюлярный и периваскулярный отек, полнокровие сосудов.

Заключение. Однократное введение сублетальных и летальных доз хлонизола вызывало аплазию костного мозга и лимфоидных органов, повреждение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, дистрофические изменения в миокарде, легких, печени, почках, поджелудочной железе, репродуктивных органах. При введении максимально переносимых доз токсическое действие выражалось главным образом в обратной миелодепрессии. Максимально переносимая доза при однократном введении у мышей, крыс, морских свинок и кроликов равнялась 20 мг/кг. Переносимой дозой для собак при однократном введении была доза 2 мг/кг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Коньков С.А., Стуков А.Н., Резцова В.В. и др. Алкилнитрозоуреидодиоксаны и алкилнитрозоуреидопропандиолы – новые группы противоопухолевых соединений. *Вопр. онкологии*. 1998; 44 (1): С. 97-99./Kon'kov S.A., Stukov A.N., Reztsova V.V. etc. Alkylhydroperoxide and alkylatorspodophyllin – new group of anticancer compounds. *Oncology Issues*. 1998; 44 (1): 97-99 (in Russian).
2. Островская Л. А., Филлов В. А., Ивин Б. А. и др. Хлонизол – новый эффективный противоопухолевый препарат из класса нитрозоалкилмочевин. *Российский биотерапевтический журнал*. 2004; 3, (1): 3-48. /Ostrovskaya L.A., Filov V.A., Ivin B.A. et al. Chlonizol – the new alkylNitrosourea J drug with antitumor activity. *Russian Biotherapeutic Journal*. 1998; 3 (1): 37-48 (in Russian).
3. Стуков А.Н., Есиков К.А., Усманова Л.М. и др. Способ синтеза 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола, обладающего противоопухолевой активностью. Патент РФ; № 2678846; 2018./Stukov A.N., Esikov K.A., Usmanova L.M. et al. Method of synthesis 2-[3-(2-chlorethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol owned with antitumor activity. Patent RF, № 2678846; 2018 (in Russian).
4. Стуков А.Н., Семиглазова Т.Ю., Филатова Л.В. и др. Применение соединения 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол для лечения HER2-положительных опухолей в эксперименте. Патент РФ № 2695787; 2018./Stukov A.N., Semiglasova T.Yu., Filatova L.V. et al. Use of the compound 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol for the treatment of HER2-positive tumors in the experiment. Patent R F; № 2695787; 2018 (in Russian)

A.N. Stukov¹, S.F. Vershinina², N.N. Kharitonova³, L.V. Filatova¹, D.Kh. Latipova¹, M.L. Tyndyk¹,
Yu.G. Zmitrichenko¹, A.L. Semenov¹, V.G. Bespalov¹, T.Yu. Semiglazova¹

DOMESTIC ANTITUMOR COMPOUND 2-[3-(2-CHLOROETHYL)-3-NITROSOUREIDO]-1,3-PROPANEDIOL (CHLONISOL). ACUTE TOXICITY

¹N.N. Petrov Scientific Research Center of Oncology, RF Ministry of Health, 197758, Saint Petersburg, Russian Federation

²A.M. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, RF Ministry of Health, 197758, Saint Petersburg, Russian Federation

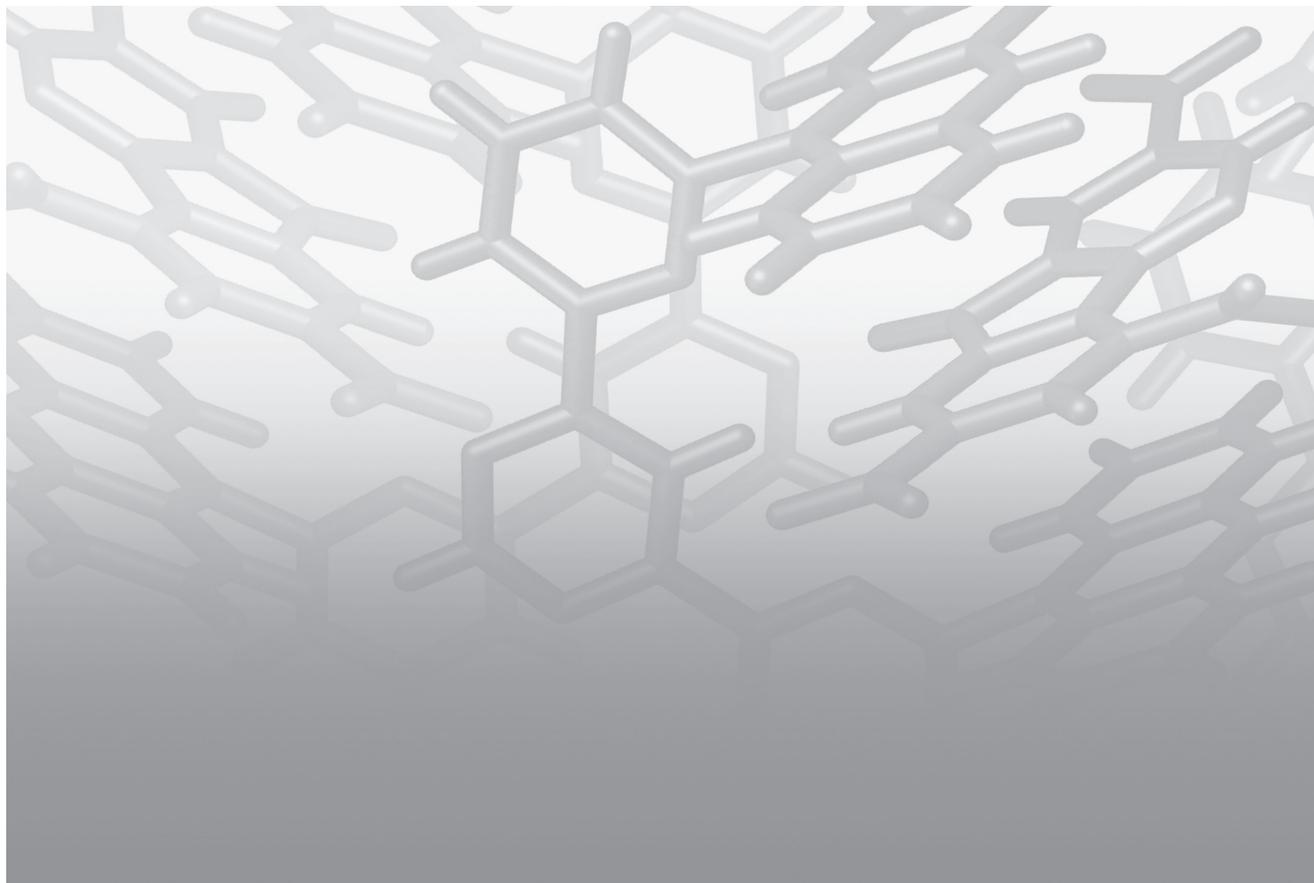
³S.M. Kirov Military Medical Academy, 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

2-[3-(2-Chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (Chlonisol) is a representative of a separate group of derivatives of the class of nitrosoalkylureas – alkylnitrosoureidopropanediols, which are characterized by high antitumor activity on a wide range of experimental tumors. Chlonisol LD₅₀ in male mice for intravenous administration was 35 mg/kg, intraperitoneal – 39 mg/kg, in female mice – 34 mg/kg and 36 mg/kg, respectively. In rats of males with intraperitoneal administration, LD₅₀ was 30 mg/kg, in rats of females – 32 mg/kg. The maximum tolerated dose in mice, rats, guinea pigs and rabbits was 20 mg/kg. The tolerated dose for dogs was a dose of 2 mg/kg. Myelo-depression was a dose-limiting side effect. Lethal and sublethal doses of Chlonisol caused aplasia of the bone marrow and lymphoid organs, damage to the mucous membrane of the gastrointestinal tract, and dystrophic changes in the myocardium, lungs, liver, kidneys, pancreas, and reproductive organs. In the late stages after intraperitoneal administration of sublethal doses of Chlonisol, chylothorax and chyloperitoneum were found in some rats.

Keywords: nitrosoalkylureas, alkylnitrosoureidopropanediols, 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol, Chlonisol, acute toxicity.

Quote: A.N. Stukov, S.F. Vershinina, N.N. Kharitonova, L.V. Filatova, D.Kh. Latipova, M.L. Tyndyk, Yu.G. Zmitrichenko, A.L. Semenov, V.G. Bespalov, T.Yu. Semiglazova. Domestic antitumor compound 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (Chlonisol). Acute toxicity. Toxicological Review. 2020; 6:49-53

Переработанный материал поступил в редакцию 20.10.2020 г.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ КВЕТИАПИНА ФУМАРАТА

М.И. Голубева¹, М.В. Бидевкина², И.А. Бобринева¹,
И.Н. Разумная¹, Э.А. Федорова¹, А.Ю. Савченко³,
Г.В. Раменская⁴, И.А. Пожарнов⁵

¹АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (АО «ВНЦ БАВ»), 142450, г. Старая Купавна Московской области, Российская Федерация

²ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии Роспотребнадзора, 117246, Москва, Российская Федерация

³ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», 143442, Московская область, Российская Федерация

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

⁵ООО «АстраЗенека Индастриз», 249006, Калужская область, Боровский район, деревня Добрино, Российская Федерация

Кветиапин – психотропный лекарственный препарат, производное дибензотиазепина, представитель класса нейрорептиков (антипсихотические препараты) новой подгруппы – атипичных антипсихотических препаратов («антипсихотики второго поколения»). Кветиапина фумарат относится к 3 классу опасности по величине DL_{50} при введении в желудок по ГОСТ 12.1.007-76: DL_{50} для мышей и крыс находится в диапазоне 1380-1680 мг/кг, оказывает местное раздражающее действие: выраженное – на слизистую оболочку глаз и умеренно выраженное – на кожу. Признаков кожно-резорбтивного и кумулятивного действия кветиапина фумарата не выявлено. При ингаляции аэрозоль кветиапина фумарата оказывает на крыс общетоксическое и раздражающее действие. Порог острого ингаляционного действия кветиапина фумарата установлен на уровне 6,2 мг/м³ по общетоксическому действию (влияние на количественный состав периферической крови и сердечно-сосудистую систему) и раздражающему влиянию на слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Для кветиапина фумарата рекомендован к утверждению ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,2⁺ мг/м³ (аэрозоль, «требуется специальная защита кожи и глаз»). ОБУВ кветиапина фумарата в атмосферном воздухе городских и сельских поселений 0,002 мг/м³.

Ключевые слова: кветиапина фумарат, токсичность, раздражающее действие, лабораторные животные, гигиеническое нормирование.

Цит: М.И. Голубева, М.В. Бидевкина, И.А. Бобринева, И.Н. Разумная, Э.А. Федорова, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, И.А. Пожарнов. Экспериментальное изучение токсичности и опасности кветиапина фумарата. Токсикологический вестник. 2020; 6:54-58

Введение. Кветиапин – психотропный лекарственный препарат, представитель класса нейрорептиков новой подгруппы – атипичных антипсихотических препаратов («антипсихотики

второго поколения»), которые обладают более широким спектром фармакологической активности (антипсихотическое, седативное, активирующее, антидепрессивное действие и др.), большей

Голубева Маргарита Ивановна (Golubeva Margarita Ivanovna), кандидат биологических наук, заведующая лабораторией профилактической токсикологии и гигиены АО «ВНЦ БАВ», golubevamargo@mail.ru

Бидевкина Марина Васильевна (Bidevkina Marina Vasil'evna), доктор медицинских наук, заведующая лабораторией токсикологии дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора, bidevkinamv@niid.ru

Бобринева Ирина Алексеевна (Bobrineva Irina Alekseevna), ведущий научный сотрудник лаборатории профилактической токсикологии и гигиены АО «ВНЦ БАВ», irina955@mail.ru

Разумная Ирина Николаевна (Razumnaja Irina Nikolaevna), старший научный сотрудник лаборатории профилактической токсикологии и гигиены АО «ВНЦ БАВ», irina.r.3@mail.ru

Федорова Эмма Алексеевна (Fedorova Emma Alexeevna), старший научный сотрудник лаборатории профилактической токсикологии и гигиены АО «ВНЦ БАВ», emfed@mail.ru

Савченко Алла Юрьевна (Savchenko Alla Jur'evna), ведущий научный сотрудник ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, alursav@mail.ru

Раменская Галина Владиславовна (Ramenskaya Galina Vladislavovna), доктор фармацевтических наук, профессор, директор Института фармации ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), ramenskaia@mail.ru

Пожарнов Игорь Анатольевич (Pozharnov Igor Anatol'evich), руководитель проекта гигиенического нормирования ООО «АстраЗенека Индастриз», деревня Добрино, Боровский район Калужской обл., pozhamov@mail.ru

клинической эффективностью и безопасностью. Применяется при лечении острых и хронических психозов, включая шизофрению; маниакальных и депрессивных эпизодов в рамках биполярного расстройства; органических психотических расстройств [1-3].

Лекарственные препараты первого поколения (типичные нейролептики) при длительном применении могут провоцировать тяжелые неврологические побочные эффекты (депрессия, нарушение памяти, снижение внимания, когнитивных способностей и др.) [2]. Важнейшим преимуществом атипичных нейролептиков является минимальная выраженность неврологических осложнений. Кветиапин рассматривается в этом плане как наиболее безопасный препарат [1].

Обладая лучшей переносимостью, чем традиционные антипсихотики, и столь же эффективно купируя психозы, атипичные нейролептики, тем не менее, чаще способны индуцировать метаболические нарушения, приводящие к возникновению ожирения, сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний [4]. При клиническом применении кветиапина наблюдаются неврологические, сердечно-сосудистые, нейроэндокринные осложнения, нарушения метаболизма, системы крови [1].

Кветиапин назначают внутрь 2 раза в сутки, независимо от приема пищи. Минимальная суточная терапевтическая доза (МСТД) – 0,025 г; высшая суточная терапевтическая доза (ВСТД) – 0,75 г. При передозировке наблюдается чрезмерная седация, сонливость, тахикардия, снижение артериального давления. Лечение симптоматическое (поддержание функции дыхания, сердечно-сосудистой системы, оксигенация и вентиляция легких), специфических антидотов нет.

Мутагенная активность кветиапина изучена в батарее тестов *in vitro* (бактериальный, овариальные клетки китайского хомячка, хромосомные aberrации лимфоцитов человека) и *in vivo* (микроядерный тест). Показано, что кветиапин вызывал увеличение мутаций только в одном из бактериальных тестов *in vitro* с метаболической активацией. В экспериментальных исследованиях при внутрижелудочном введении кветиапина в дозах, превышающих ВСТД для животных (при пересчете с учетом межвидового коэффициента пересчета), выявлено неблагоприятное воздействие на репродуктивную функцию (крысы Спрейг-Доули, дозы 10, 50 и 150 мг/кг), на развитие плода (в период органогенеза, крысы Вистар и кролики Dutch Belted, дозы 50-200 мг/кг), а также канцерогенное действие (в течение 2 лет, крысы, дозы 25-250 мг/кг и мыши, дозы 20-750 мг/кг) [5]. Неопластические изменения у грызунов (увеличение количества фолликулярных аденом щитовидной железы и аденокарцином молочных

желез) отражают влияние кветиапина на нейроэндокринную функцию головного мозга у грызунов.

Настоящее исследование проведено с целью разработки гигиенических нормативов (ОБУВ) активной субстанции препарата Кветиапин – кветиапина фумарата в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе городских и сельских поселений.

Материалы и методы исследования. Международное непатентованное наименование (МНН): Кветиапин (Quetiapine), производится в виде соли фумарата (гемифумарат) – кветиапина фумарат (2:1). Синонимы: Кветиакс, Сероквель.

Химическое название по IUPAC: 2-[2-(4-добензо[b,f][1,4]тиазепин-11-ил-1-пиперазинил)этокси]этанола фумарат (2:1). Химический класс: производное дибензотиазепина.

На рисунке 1 приведена структурная формула кветиапина фумарата.

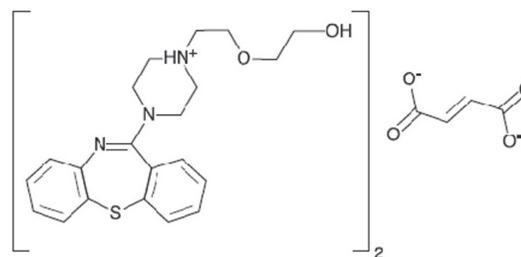


Рис. 1. Структурная формула кветиапина фумарата.

CAS: 111974-72-2. Брутто-формула: $(C_{21}H_{25}N_3O_2S)_2 \cdot C_4H_4O_4$. М. м.: 883,1. Т.пл.: 172-174 °С. Агрегатное состояние: белый кристаллический порошок.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. Исследование проведено на 150 белых беспородных крысах, 80 белых беспородных мышах, 6 кроликах породы «Советская шиншилла». Статистические группы крыс и мышей состояли из 6-10 особей.

Средние смертельные дозы рассчитывали методом пробит-анализа в модификации В.Б. Прозоровского. Местное раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки глаза изучали на кроликах. Кожно-резорбтивное действие препарата оценивали на мышах «пробирочным методом»; кумулятивные свойства изучали на мышах методом Лима и соавт.

Исследование острого ингаляционного воздействия (4 часа) проводили на крысах динамическим способом в затравочных камерах объемом 200 литров. У крыс оценивали физиологические, гематологические и биохимические показатели. Для оценки терморегуляции измеряли ректальную температуру, для оценки состояния сердеч-

но-сосудистой системы – частоту сердечных сокращений (ЧСС) и артериальное давление (АД, систолическое и диастолическое). Состояние нервной системы оценивали по изменению поведенческих реакций в тестах «открытого поля» и «темной камеры с отверстиями» (ТКСО), порога нервно-мышечной возбудимости (СПП, по методу С.В. Сперанского). Функцию дыхательной системы оценивали с помощью регистрации частоты дыхания (ЧД) и оценки раздражающего действия на слизистые оболочки верхних дыхательных путей и легких по количественному и качественному составу лаважа легких и носоглотки методом Г.С. Комовникова. Для оценки функционального состояния печени в сыворотке крови измеряли активность ферментов аминотрансфераз (аланиновой – АЛТ и аспарагиновой – АСТ), щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и холинэстеразы. Функцию почек оценивали по уровню диуреза, содержанию в моче общего белка, мочевины и хлоридов, кроме того, определяли содержание мочевины в сыворотке крови крыс.

Оценку достоверности различия данных подопытной и контрольной групп животных проводили по критерию Стьюдента, руководствуясь 5% ($p < 0,05$) уровнем значимости с учетом числа животных, используемых в каждом опыте.

Результаты и обсуждение. Кветиапина фумарат относится к 3 классу опасности по величине DL_{50} при введении в желудок по ГОСТ 12.1.007-76: для мышей самцов 1375 (988 * 1913) мг/кг, для мышей самок 1678 (1058 * 2415) мг/кг, для крыс самцов 1544 (1128 * 2113). По величине DL_{50} при введении в брюшную полость мышам самцам (305 (231 * 402) мг/кг) кветиапина фумарат малотоксичен (4 класс токсичности по классификации К.К. Сидорова). У животных, независимо от дозы и пути введения, сразу после введения наблюдали выраженные клинические признаки отравления: снижение двигательной активности, слабость, нарушение координации движения, парез задних конечностей, сгорбленность, боковое положение, птоз, тяжелое затрудненное дыхание; через 1-1,5 часа – клонико-тонические судороги, эффект Штраубе. На следующий день после введения у оставшихся в живых животных клинические признаки отравления были выражены в меньшей степени, на третий день состояние животных было близко к норме. Гибель животных отмечали в течение первых трех суток.

Кветиапина фумарат оказывал выраженное местное раздражающее действие на слизистые оболочки глаза кроликов. В 1-й день аппликации у всех кроликов наблюдали слезотечение (1 балл), отек век (1 балл), на следующий день – гиперемия слизистой, усиление гнойных выделений (до 3 баллов) и птоз (3-4 балла). В дальнейшем признаки раздражения слизистой сохра-

нялись, кроме того у одного кролика отмечали помутнение роговицы и «облысение» кожи вокруг глаза. Постепенное восстановление слизистой глаза с сохранением слабого помутнения роговицы в нижней части отмечали к концу первой недели наблюдения; полное восстановление состояния слизистой глаз кроликов наблюдали через 20 дней. Максимальный средний балл выраженности раздражающего действия – 7.

Аппликации препарата на кожные покровы кроликов в первые 2 дня не вызывали существенных изменений. На 3-й день у кроликов наблюдали слабую гиперемию кожи (1-2 балла), сохраняющуюся до конца периода нанесения. После 10-й аппликации у кроликов отмечали слабую пигментацию кожи, сохранявшуюся до 7-8 дня восстановительного периода. Препарат можно отнести к веществам, обладающим умеренно раздражающим действием по классификации МУ 2196–80 (2 класс опасности).

Признаков кожно-резорбтивного действия кветиапина фумарата не выявлено. K_{cum} 8,5 свидетельствует о низкой способности вещества к кумуляции в организме.

Для определения $Limac$ аэрозоля кветиапина фумарата были испытаны 3 концентрации: $20,4 \pm 1,3$ мг/м³; $6,2 \pm 1,4$ мг/м³ и $1,8 \pm 0,6$ мг/м³. При ингаляции в концентрации 20,4 мг/м³ отмечено влияние кветиапина фумарата на функциональное состояние дыхательной, нервной, сердечно-сосудистой систем и состав периферической крови крыс. Отмечали снижение ЧД (опыт: $117,4 \pm 5,0$; контроль $130,1 \pm 3,0$ дых/мин; $p < 0,05$) и признаки раздражающего действия на слизистые оболочки органов дыхания: увеличение общего количества клеток в лаваже легких и носоглотки, а также изменение количества нейтрофилов и эпителиальных клеток в смывах из верхних дыхательных путей (таблица 1). Препарат вызывал повышение ректальной температуры (опыт: $39,4 \pm 0,3$; контроль: $38,3 \pm 0,4$ оС; $p < 0,05$) и СПП (опыт: $5,98 \pm 0,24$; контроль: $4,97 \pm 0,32$ усл. ед.; $p < 0,05$). Изменений поведенческих реакций в тестах «открытое поле» и ТКСО не отмечено. При изучении сердечно-сосудистой системы у подопытных крыс наблюдали значительное увеличение ЧСС – до 530 ± 36 при 345 ± 28 сокращений в минуту в контроле ($p < 0,05$), при этом АД не изменялось.

Анализ состава периферической крови показал снижение количества эритроцитов (опыт: $6,29 \pm 0,25$; контроль: $7,22 \pm 0,26 \cdot 10^{12}/л$; $p < 0,05$). Отклонений от контроля содержания гемоглобина, лейкоцитов и тромбоцитов, а также показателей скорости свертывания крови подопытных крыс не отмечали. Показатели функционального состояния печени и почек не отличались от уровня контроля.

Таблица

Клеточный состав лаважа носоглотки и легких после однократной ингаляции аэрозоля кветиапина фумарата в различных концентрациях

Показатели	Группы	Концентрация, мг/м ³		
		20,4	6,2	1,8
НОСОГЛОТКА				
Лимфоциты, на 100 клеток	Опыт	8,8 ± 1,2	9,2 ± 1,9	25,6 ± 5,1
	Контроль	14,5 ± 3,5	15,3 ± 3,5	23,7 ± 4,8
Нейтрофилы, на 100 клеток	Опыт	36,5 ± 5,4*	39,2 ± 3,2*	42,2 ± 7,4
	Контроль	53,0 ± 6,4	59,2 ± 5,5	49,1 ± 6,3
Эпителиальные клетки, на 100 клеток	Опыт	55,3 ± 7,6*	51,8 ± 5,8*	32,6 ± 3,8
	Контроль	32,0 ± 5,3	26,0 ± 3,4	27,4 ± 4,5
Общее количество клеток, 10 ⁹ /л	Опыт	850 ± 80*	510 ± 130	560 ± 95
	Контроль	480 ± 60	440 ± 80	430 ± 70
ЛЕГКИЕ				
Лимфоциты, на 100 клеток	Опыт	21,2 ± 3,8	17,5 ± 2,4	25,7 ± 3,9
	Контроль	22,3 ± 4,0	24,2 ± 1,5	21,8 ± 5,8
Нейтрофилы, на 100 клеток	Опыт	23,0 ± 6,4	36,5 ± 6,1	35,2 ± 5,8
	Контроль	24,7 ± 6,0	31,4 ± 5,2	32,1 ± 6,2
Макрофаги, на 100 клеток	Опыт	23,6 ± 7,2	25,1 ± 7,2	20,1 ± 7,6
	Контроль	32,0 ± 4,7	23,3 ± 6,4	25,2 ± 6,3
Эпителиальные клетки, на 100 клеток	Опыт	32,5 ± 3,6	20,8 ± 1,9	19,2 ± 1,8
	Контроль	21,0 ± 2,2	21,3 ± 2,3	20,9 ± 2,1
Общее количество клеток, 10 ⁹ /л	Опыт	1560 ± 380*	1340 ± 220	850 ± 140
	Контроль	660 ± 80	1050 ± 270	790 ± 120

* p < 0,05

Отмеченные изменения функциональных показателей при воздействии кветиапина фумарата согласуются с литературными данными о побочных эффектах препарата, наблюдаемых в клинике [1, 5].

После ингаляции аэрозоля кветиапина фумарата в концентрации на уровне 6,2 мг/м³ имело место изменение клеточного состава лаважа верхних дыхательных путей, которое характеризовалось увеличением количества эпителиальных клеток и снижением – нейтрофилов (табл.). Кроме того, у подопытных крыс отмечено увеличение ЧСС (опыт: 390 ± 17; контроль: 340 ± 15 сокращений в минуту; p < 0,05) и снижение количества эритроцитов в периферической крови (опыт: 6,63 ± 0,24; контроль: 7,69 ± 0,34 · 10¹²/л; p < 0,05).

Ингаляция кветиапина фумарата в концентрации на уровне 1,8 мг/м³ не вызывала изменений изученных показателей состояния животных.

Таким образом, Лимас кветиапина фумарата близок к уровню 6,2 мг/м³ по общетоксическому действию и по раздражающему влиянию на слизистые оболочки верхних дыхательных путей.

Заключение. Полученные данные позволяют заключить, что кветиапина фумарат является веществом, обладающим неспецифическим раздражающим действием на организм (Zig = 1). Прогноз безопасного уровня кветиапина фумарата в воздухе рабочей зоны проводили с учетом Лимас (6,2 мг/м³), а также МСТД (0,025 г) и ВСТД (0,75 г).

Рекомендуемый ОБУВ аэрозоля кветиапина фумарата в воздухе рабочей зоны 0,2+ мг/м³ (требуется специальная защита кожи глаз). Метод определения в воздухе – спектрофотометрический, диапазон измеряемых концентраций 0,1-0,7 мг/м³. ОБУВ аэрозоля кветиапина фумарата в атмосферном воздухе городских и сельских поселений 0,002 мг/м³ (Изменения в перечень ОБУВ ГН 2.1.6.2309-07, утв. 21.10.2016 г. № 162).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурчинский С.Г. Проблема безопасности в стратегии фармакотерапии атипичными нейролептиками. *Нейро News: психоневрология и нейропсихиатрия*. 2010; 5 (24). Available at: <https://neuronews.com.ua/ru/issue-article-337/Problema-bezopasnosti-v-strategii-farmakoterapii-atipichnymi-neyroleptikami#gsc.tab=0>. Дата

обращения 08.08.2019.
2. Максимов В.И. Кветиапин и его место в лечении различных заболеваний среди атипичных апсихотиков. Современная терапия психических расстройств. 2009, (2): 24-30.
3. Давыдов А.Т., Петрова Н.Н., Агисhev В.Г. Роль и место атипичных антипсихотических препаратов в психиатрической

практике (современное состояние проблемы). *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2005, 4 (1): 38-48.
4. Мазо Г.Э., Иванов М.В., Чомский А.Н., Лукманова К.А. Риск развития метаболических нарушений у больных шизофренией при применении атипичных антипсихотиков (обзор данных

литературы). Современная терапия психических расстройств. 2008, (1): 15-19.
5. <http://www.scribd.com/doc/3553710/SEROQUEL-quetiapine-fumarate-Product-Monograph-for-Canada>. Date of Revision: May 21 2008. Дата обращения 08.08.2019.

REFERENCES

1. Burchinsky S.G. Problem of safety in the strategy of pharmacotherapy with atypical neuroleptics. *Neuro News: Psychoneurology and neuropsychiatry*. 2010; 5 (24). Available at: <https://neuronews.com.ua/ru/issue-article-337/Problema-bezopasnosti-v-strategii-farmakoterapii-atipichnymi-neyroleptikami#gsc.tab=0>. Date of access

08.08.2019 (in Russian).
2. Maksimov V.I. Quetiapine and its place in the treatment of various diseases among the atypical psicoticos. *Modern therapy of mental disorders*. 2009, (2): 24-30 (in Russian).
3. Davydov A.T., Petrova N.N., Agishev V.G. Role and place of atypical antipsychotic drugs in psychiatric practice (current

state of the problem). *Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*. 2005, 4 (1): 38-48 (in Russian).
4. Mazo G.E., Ivanov M.V., Chomsky A.N., Lukmanova K.A. Risk of metabolic disorders in patients with schizophrenia when using atypical antipsychotics (review of literature data). *Modern therapy of mental disorders*. 2008, (1): 15-19 (in

Russian).
5. <http://www.scribd.com/doc/3553710/SEROQUEL-quetiapine-fumarate-Product-Monograph-for-Canada>. Date of Revision: May 21 2008. Date of access 08.08.2019 (in Russian).

M.I. Golubeva¹, M.V. Bidevkina², I.A. Bobrineva¹, I.N. Razumnaya¹, E.A. Fedorova¹, A.Yu. Savchenko³, G.V. Ramenskaya⁴, I.A. Pozharnov⁵

EXPERIMENTAL STUDY OF THE TOXICITY AND HAZARD OF QUETIAPINE FUMARATE

¹All-Union Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances, 142450, Staraya Kupavna, Moscow region, Russian Federation

²Scientific Research Institute of Disinfectology of Rospotrebnadzor, 117246, Moscow, Russian Federation

³Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, 143442, Moscow region, Russian Federation

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, RF Ministry of Health, 119991, Moscow, Russian Federation

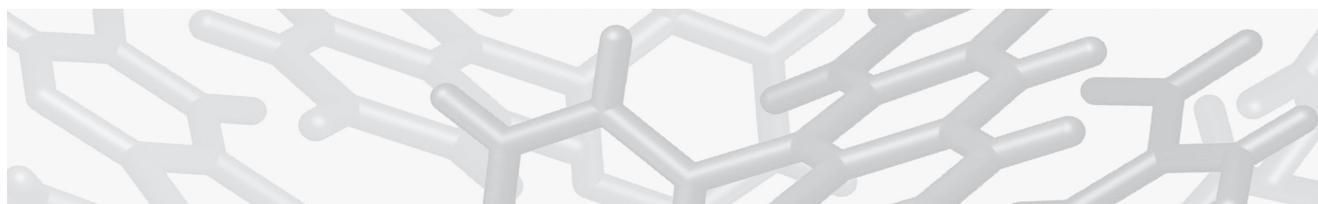
⁵AstraZeneca Industries LLC, 249006, Kaluga region, Borovsky district, Dobrino village, Russian Federation

Quetiapine is a psychotropic drug, a dibenzothiazepine derivative and a representative of the class of neuroleptics (antipsychotic drugs) of a new subgroup – atypical antipsychotic drugs («second-generation antipsychotics»). Quetiapine fumarate belongs to the 3rd hazard class in terms of DL₅₀ when administered in the stomach according to GOST 12.1.007-76 (DL₅₀ 1380-1680 mg/kg, mice and rats), has a local irritant effect: pronounced - on the mucous membrane of the eyes and moderately pronounced - on the skin. There are no signs of skin resorptive or cumulative effects of quetiapine fumarate. When inhaled, an aerosol of quetiapine fumarate has a general toxic and irritating effect in rats. The threshold of acute inhalation action of quetiapine fumarate is set at 6,2 mg/m³ for general toxic effect (effect on the quantitative composition of peripheral blood and the cardiovascular system) and irritating effect on the mucous membranes of the upper respiratory tract. For quetiapine fumarate, the tentative safe exposure level in the air of the working area is recommended at 0,2 mg/m³, aerosol, with «+» - special protection of the skin and eyes is required. The tentative safe exposure level in the atmospheric air of urban and rural settlements is 0,002 mg/m³.

Keywords: quetiapine fumarate, toxicity, irritant effect, laboratory animals, hygienic rationing.

Quote: M.I. Golubeva, M.V. Bidevkina, I.A. Bobrineva, I.N. Razumnaya, E.A. Fedorova, A.Yu. Savchenko, G.V. Ramenskaya, I.A. Pozharnov. Experimental study of the toxicity and hazard of quetiapine fumarate. *Toxicological Review*. 2020; 6:54-58

Материал поступил в редакцию 13.08.2019 г.



УДК 615.27:615.9

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-59-62

ТОКСИЧНОСТЬ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ АКТИВНОГО КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 3-(2-ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО- 1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

К.Т. Еримбетов^{1,2}, Р.А. Земляной¹,
Е.В. Бондаренко², А.Я. Гончарова²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 249013, РФ, Калужская обл. г. Боровск, пос. Институт

²ООО «Научно-исследовательский центр «Парк активных молекул», РФ, Калужская обл., г. Обнинск

Разработан впервые активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином в виде нанопорошка со средним размером частиц 40,5 нм, обладающий широким спектром фармакологических свойств. По результатам токсикометрии имеются все основания активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином отнести к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ по Hodge и к 5 классу токсичности, в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

Ключевые слова: роданины, 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он, β -циклодекстрин, клатратные комплексы, фармацевтическая субстанция, острая токсичность, наночастицы.

Цит: К.Т. Еримбетов, Р.А. Земляной, Е.В. Бондаренко, А.Я. Гончарова. Токсичность при однократном внутрижелудочном введении активного клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Токсикологический вестник. 2020; 6:59-62

Введение. В настоящее время весьма перспективным является класс соединений, относящихся к роданинам, на основе которых можно создать средства медицинского и ветеринарного применения. Соединения роданинового ряда – это органические молекулы, содержащие остатки 4-оксо-2-тиоксо-1,3-тиазолидина [1]. Роданины могут проявлять физиологические и фармакологические эффекты и в связи с этим они являются перспективными соединениями для разработки лекарственных средств, так и биологически активных добавок к кормам. Одним из фармакологически активных соединений из выше упомянутого класса является 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он. По данным литературы установлено его ингибирующее действие в отношении фермента киназы гликогенсинтазы 3 β (GSK3 β). Для соединения 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она ингибирующая актив-

ность, выраженная в виде IC₅₀, составляет 35 мкМ [2, 3]. GSK3 β участвует в регуляции примерно 50 белков и локализован как в цитозоле, так и внутри ядра. GSK3 β играет ключевую роль в регуляции усвоения глюкозы и ее конверсии в гликоген, усиления синтеза мышечного белка, увеличения пула рецепторов стероидных гормонов, готовых к активации агонистами, что возможно получение анаболического эффекта при применении 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она [4, 5, 6, 7].

В настоящее время 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он относится к малоизученным молекулам и по физико-химическим свойствам – к нерастворимым в водной среде соединениям. В связи с этим актуальным является разработка на основе данного соединения клатратного комплекса с β -циклодекстрином, позволяющего повысить показатели растворимости,

Еримбетов Кенес Тагаевич (Erimbetov Kenes Tagaevich) – доктор биологических наук, научный руководитель аспиранта Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, руководитель Службы доклинических и клинических исследований, ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», erimbetovkt@mail.ru

Земляной Руслан Александрович (Zemlyanoy Ruslan Alexandrovich) – аспирант, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. Л.К. Эрнста», г. Боровск, Калужская обл., ledifav@yandex.ru

Бондаренко Екатерина Валерьевна (Bondarenko Ekaterina Valer'evna) – кандидат биологических наук, кандидат биологических наук, зам. директора ИБМИ ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», тел.: 89105228624, E-mail: bondarenko@pam-alliance.ru

Гончарова Анна Яковлевна (Goncharova Anna Yakovlevna) – кандидат биологических наук, директор ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», goncharova@pam-alliance.ru

биодоступности, и проведение токсикологических исследований. Клатраты - это супрамолекулярные соединения; образующиеся при включении молекул одного вида, называемых гостями, в полости кристаллического каркаса, построенного из молекул другого вида, называемых хозяевами (решетчатые клатраты), или в полость одной большой молекулы-хозяина (молекулярные клатраты). Предлагается для токсикологических исследований так называемый молекулярный активный клатрат 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином.

Цель работы: Изучение токсичности при однократном внутрижелудочном введении нового активного клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином в экспериментах на крысах Wistar.

Материалы и методы исследования. Активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином был синтезирован твердофазным методом на шаровой мельнице Активатор 2S. Размеры полученных частиц были измерены на приборе Zetasizer Nano ZS. Анализировали наработанные клатратные комплексы 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при их разных соотношениях методами спектроскопий в УФ диапазоне.

В соответствии с методическими рекомендациями, приведенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8] и монографии [9] исследована острая токсичность фармацевтической субстанции и клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Оценку острой токсичности фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином проводили при их однократном внутрижелудочном введении крысам в возрастающих дозах с анализом причин наступления гибели и клинической картины интоксикации. Класс токсичности изучаемых веществ определяли в соответствии с ГОСТ 32644-2014 и классификацией Hodge et al. [10, 11].

Две серии экспериментов проведены на крысах Wistar обоего пола с массой тела 190-230 г, возраст 12-13 недель. В первом эксперименте проведена оценка острой токсичности фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он. Во втором эксперименте - клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. В обоих экспериментах были сформированы 6 групп крыс по 5 животных обоего пола. Крысы содержались в клетках Т-4 по 5 особей в условиях искусственного освещения (12 часов светлого и темного времени) с принудительной 16-кратной в час вентиляцией, при температуре 20-22 °С и относительной

влажности 50-65% на подстилке из древесных стружек, простерилизованных в сухожаровом шкафу. Крысы имели свободный доступ к гранулированному корму и питьевой воде. Длительность наблюдения за подопытными животными после введения фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином составила 14 суток. Крысы первые двое дней после их введения находились под непрерывным наблюдением. При этом регулярно фиксировалось общее состояние, особенности поведения и двигательной активности, регистрировались сроки развития интоксикации и гибели животных, изменения массы тела выживших особей.

Как указывалось, выше фармацевтическая субстанция 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он не растворима в водной среде. В связи с этим для лучшего дозирования фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином готовили однородную суспензию их в 3 % крахмальном геле. Для этого использовали картофельный крахмал (ГОСТ 7699-78). Свежеприготовленные суспензии фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином вводили в желудок металлическим зондом крысам (самцам и самкам) в диапазоне доз от 2000 до 14000 мг/кг и от 6000-16000 мг/кг массы тела, соответственно. Исследование острой токсичности высоких доз препаратов осуществляли путем 3-х кратного с интервалом 1 час внутрижелудочного введения крысам 1/3 указанных доз.

Параметры острой токсичности фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином при внутрижелудочном введении крысам обоего пола оценивали по методу пробит-анализа Литчфилда-Уилкоксона [12, 13].

С полученными данными была проведена статистическая обработка с применением параметрических и непараметрических методов. Различия между группами считались статистически значимыми при $P \leq 0,05$ [12].

Результаты и обсуждение. В процессе разработки впервые синтезированы новые клатратные комплексы 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при масс. соотношении от 1:5 до 1:10. Новые клатратные комплексы представляют собой порошок со средним размером частиц 40,5 нм. Для дальнейших исследований был выбран клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при масс. соотношении 1:5.

Проведенные исследования показали, что внутрижелудочное однократное введение крысам

Таблица

Результаты исследования токсичности при однократном внутрижелудочном введении крысам клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином

Дозы, мг/кг	Общее количество крыс	Количество павших животных	Клиника интоксикации
2000	5♂+5♀	0	повышенная двигательная и исследовательская активность - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке.
4000	5♂+5♀	0	признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание
6000	5♂+5♀	0	повышенная двигательная и исследовательская активность - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке, признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание
8000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, заторможенность, скученность
12000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, заторможенность, скученность, сниженная двигательная активность,
16000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, связанное с введением больших объемов жидкостей, сниженная двигательная активность, заторможенность, скученность, затрудненное дыхание

фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он в виде суспензий в 3% крахмальном геле в диапазоне испытанных доз от 2000 до 14000 мг/кг не вызывает гибели животных за 14-суточный период наблюдения. В первые 15-20 минут после ее введения отмечено повышение двигательной и исследовательской активности - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке, наблюдались также признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание. Этот период затем сменялся угнетением, заторможенностью, скученностью. В течение последующих двух недель наблюдения не выявлено каких-либо отклонений в состоянии и поведении животных. Они активны, подвижны, хорошо поедают корм, шерсть гладкая, блестящая.

В таблице представлены результаты оценки острой токсичности клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Из данных таблицы следует, что внутрижелудочное однократное его введение в дозах 2000-16000 мг/кг массы тела не вызывало гибели животных. За период наблюдения не отмечено заметных изменений во внешнем виде, в поведении крыс, подвижность и поедание корма сохраняются на прежнем уровне. Клинические признаки интоксикации носили транзиторный характер. Введение в желудок крысам фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином в макси-

мальной из испытанных дозах 14000-16000 мг/кг наблюдалось умеренное угнетение животных, связанным с введением больших объемов жидкостей. При этом гибели крыс не было отмечено. Не обнаружено различий между самками и самцами в чувствительности к токсическому действию как фармацевтической субстанции, так ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином при их внутрижелудочном введении крысам.

В связи с отсутствием гибели животных при назначении высоких доз фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином и ограничениями по максимально допустимому объему введения жидкостей в желудок для крыс – 5,0-6,0 мл не было возможности установить их ЛД₅₀.

По результатам токсикометрии можно заключить, что оригинальный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином, обладающий широким фармакологическим действием относится в соответствии с классификацией Hodge et al. к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ, а согласно ГОСТу 32644-2014 к 5 классу токсичности.

Выводы:

На основе твердофазного метода синтеза впервые получен и изучен активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином, имеющий наноразмерную форму со средним размером частиц 40,5 нм.

По результатам исследований острой токсичности клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β-циклодекстрином можно отнести к VI классу относительно без-

вредных лекарственных веществ по Hodge и к 5 классу токсичности, в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ravinder Singh Bhatti. Recent Pharmacological Developments on Rhodanines and 2,4-Thiazolidinediones // Ravinder Singh Bhatti, Sakshi Shah, Suresh, Pawan Krishan, Jagir S. Sandhu // *Int. J. Med. Chem.* 2013; 2013: 16 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/793260>.
2. Martinez A., Alonso M., Castro A., Dorronsoro L., Gelpi J. L., Luque F. J., Pérez C., Moreno F. J. SAR and 3D-QSAR Studies on Thiadiazolidinone Derivatives: Exploration of Structural Requirements for Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitors. *J Med Chem.* 2005; 48:7103-7112.
3. Martinez A., Alonso M., Castro A., Pérez C., Moreno F. J. First Non-ATP Competitive Glycogen Synthase Kinase 3 \hat{a} (GSK-3 \hat{a}) Inhibitors: Thiadiazolidinones (TDZD) as Potential Drugs for the Treatment of

Alzheimer's. *J Med Chem.* 2002; 45:1292-1299.
4. Земляной Р.А., Еримбетов К.Т., Бондаренко Е.В., Гончарова А.Я., Фрог Е.С. Создание клатратного комплекса β-циклодекстрина с производным роданина // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2018; 81:91.
5. Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Еримбетов К.Т., Подгородниченко В.К., Хомиченко В.В., Новожилова Н.Е. Производное роданина и средство для профилактики опухолевых заболеваний // Патент на изобретение РФ № 2521390. 27.06.2014 Бюл. № 18.
6. Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Еримбетов К.Т., Подгородниченко В.К., Хомиченко В.В. Средство, обладающее антипролиферативным и антиметастатическим действием, для

лечения опухолевых заболеваний // Патент на изобретение РФ № 2522449. 10.07.2014 Бюл. № 19.
7. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism // *Ukrainian Journal of Ecology.* 2019; 9 (4):651-656.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под редакцией Миронов А.Н. - М.: Гриф и К, 2012 – 944 с.
9. Безопасность лекарств: от доклиники к клинике: монография. Под редакцией А.Л. Хохлова. Москва-Ярославль: ООО «Фотолайф», 2018, - 275 с.
10. ГОСТ-32644-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции

на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности. 2015.
11. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P., Gleason M.N. *Clinical Toxicology of Commercial Products // Acute Poisoning.* 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1975; 427.
12. Жаворонков Л.П. Основы прикладной медико-биологической статистики. Методическое пособие. Обнинск: ФГБУ МРНЦ Минздрава России. 2012. - 60 с.
13. Проzorovskiy V.B. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. Психофармакология и биологическая наркологию. 2007; 7 (3):2090-2120.

REFERENCES

1. Ravinder Singh Bhatti. Recent Pharmacological Developments on Rhodanines and 2,4-Thiazolidinediones // Ravinder Singh Bhatti, Sakshi Shah, Suresh, Pawan Krishan, Jagir S. Sandhu // *Int. J. Med. Chem.* 2013; 2013: 16 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/793260>.
2. Martinez A., Alonso M., Castro A., Dorronsoro L., Gelpi J. L., Luque F. J., Pérez C., Moreno F. J. SAR and 3D-QSAR Studies on Thiadiazolidinone Derivatives: Exploration of Structural Requirements for Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitors. *J Med Chem.* 2005; 48:7103-7112.
3. Martinez A., Alonso M., Castro A., Pérez C., Moreno F. J. First Non-ATP Competitive Glycogen Synthase Kinase 3 \hat{a} (GSK-3 \hat{a})

Inhibitors: Thiadiazolidinones (TDZD) as Potential Drugs for the Treatment of Alzheimer's. *J Med Chem.* 2002; 45:1292-1299.
4. Zemlyanoy R.A., Erimbetov K.T., Bondarenko E.V., Goncharova A.Ya., Frog E.S. Development of a clathrate complex of -cyclodextrin with a derivative of rhodanine // *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* 2018; 81: 91. (In Russian)
5. Roziev R.A. et al. A derivative of rhodanine and a means for the prevention of tumor diseases // *Patent RF, N 2521390; 2014.* (In Russian)
6. Roziev R.A. et al. An agent with antiproliferative and antimetastatic action for the treatment of tumor diseases //

Patent RF, N 2522449; 2014. (In Russian)
7. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism // *Ukrainian Journal of Ecology.* 2019; 9 (4):651-656.
8. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Edited by A. Mironov - M.: Grif and K, 2012 - 944 p. (In Russian)
9. Drug safety: from preclinic to clinic: monograph. Edited by A.L. Khokhlova. Moscow-Yaroslavl: LLC Photolife, 2018, - 275 p. (In Russian)
10. GOST-32644-2014 Test methods for the effects of chemical products on the human body. Acute oral toxicity is a method for determining the class of acute toxicity.

2015. (In Russian)
11. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P., Gleason M.N. *Clinical Toxicology of Commercial Products // Acute Poisoning.* 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1975; 427.
12. Zhavoronkov L.P. *Fundamentals of applied biomedical statistics.* Toolkit. Obninsk: Federal State Budgetary Institution MRRС of the Ministry of Health and Social Development of Russia. 2012. - 60 p. (In Russian)
13. Prozorovsky V.B. *Statistical processing of pharmacological research results.* Psychopharmacology and biological narcology. 2007; 7 (3): 2090-2120. (In Russian)

K.T. Erimbetov^{1,2}, R.A. Zemlyanoy¹, E.K. Bondarenko², A.Ya. Goncharova²

TOXICITY UNDER A SINGLE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF THE ACTIVE CLATHRATE COMPLEX OF β-CYCLODEXTRIN WITH 3-(2-PHENYLETHYL)-2-THIOXO-1,3-THIAZOLIDIN-4-ONE

¹All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition - a branch of the Federal Science Center of Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst, 249013, Kaluga Region, Russian Federation

²Research Center «Park of Active Molecules», Obninsk, Kaluga region, Russian Federation

The clathrate complex of 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one with β-cyclodextrin in the form of a nanopowder with an average particle size of 40.5 nm, with a wide range of pharmacological properties, was developed for the first time. It belongs to class VI of relatively harmless drugs according to Hodge and to class 5 in accordance with GOST 32644-2014.

Keywords: rodanins, 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one, β-cyclodextrin, clathrate complexes, pharmaceutical substance, acute toxicity, nanoparticles.

Quote: K.T. Erimbetov, R.A. Zemlyanoy, E.K. Bondarenko, A.Ya. Goncharova. Toxicity under a single intragastric administration of the active clathrate complex of β-cyclodextrin with 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one. *Toxicological Review.* 2020; 6:59-62

Переработанный материал поступил в редакцию 04.07.2020 г.

ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ, ПОМЕЩЕННЫХ В ЖУРНАЛЕ «ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК» В 2020 ГОДУ

- М.В. Александров, Т.В. Александрова, В.С. Черный, М.А. Луцык**
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАМИОНА НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТАНОЛОМ 18 (2)
- Е.Г. Батоцрыренова, О.А. Вакуненко, Е.А. Золотоверхая, В.А. Кашуро, Т.А. Кострова, Л.Г. Кубарская, Н.В. Лапина, К.М. Щепеткова**
ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ НИТРАТОМ РТУТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ..... 36 (2)
- Д.А. Белинская, Ю.В. Челуснова, В.В. Абзианидзе, Н.В. Гончаров**
ОСОБЕННОСТИ ИММОБИЛИЗАЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ЧЕРЕЗ СТРЕПТАВИДИН-БИОТИНОВУЮ СИСТЕМУ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО СЕЛЕКЦИИ АПТАМЕРОВ 12 (4)
- О.В. Бударина, Л.А. Федотова, З.В. Шипулина, Т.Д. Потапченко**
ОБОСНОВАНИЕ МАКСИМАЛЬНЫХ РАЗОВЫХ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ 1-МЕТИЛ-4-ИЗОПРОПЕНИЛЦИКЛОГЕКСЕНА-1 (ЛИМОНЕН), 3,7,7-ТРИМЕТИЛБИЦИКЛО[4.1.0]ГЕПТ-2-ЕНА (3-КАРЕН) И 2,2-ДИМЕТИЛ-3-МЕТИЛЕНБИЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТАНА (КАМФЕН) В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ 39 (1)
- Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С.**
РОЛЬ ЧАСТОТЫ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ В ПЕРЕНОСИМОСТИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ 43 (6)
- Г.Н. Зарафьянц, В.Д. Исаков, Т.В. Горбачева**
ВОПРОСЫ ДИНАМИКИ, СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ И СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОТРАВЛЕНИЙ МЕТАДОНОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ В 2009-2018 ГОДАХ..... 2 (1)
- М.М. Зиятдинова, Т.Г. Якупова, Я.В. Валова, Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, Л.Ш. Назарова, Д.А. Смолянкин**
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МТ2А И МТ3 В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРЫС В ОТВЕТ НА ОТРАВЛЕНИЕ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ..... 38 (6)
- М.Б. Иванов, М.В. Александров, В.С. Черный**
ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ПЕРЕНОСЕННОГО ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВАМИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ 8 (1)
- Ю.Ю. Ивницкий, К.А. Краснов, В.Л. Рейнюк, Н.В. Лапина, М.В. Мелихова, А.И. Головкин, А.А. Краснова**
ПЕКТИНЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ 30 (2)
- Ю.Ю. Ивницкий, К.А. Краснов, М.Б. Иванов, В.Л. Рейнюк, А.И. Головкин**
ПЕРСПЕКТИВЫ НАЗАЛЬНОГО СПРЕЯ В АРСЕНАЛЕ СРЕДСТВ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ..... 4 (2)
- Н.А. ИЛЮШИНА, Ю.А. РЕВАЗОВА**
ГЕНОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СМЕСЕЙ ПЕСТИЦИДОВ.....9 (3)
- А.Ю. Каретникова, Е.С. Терехина, Н.В. Шляпников, А.А. Войтович**
ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ..... 16 (5)
- С.В. Клинова, И.А. Минигалиева, Л.И. Привалова, М.П. Сутункова, В.Б. Гурвич, Ю.В. Рябова, С.Н. Соловьёва, В.Г. Панов, И.Е. Валамина, И.Н. Чернышов, Б.А. Кацнельсон**
СУБХРОНИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС СВИНЦОМ И КАДМИЕМ КАК ФАКТОР ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ..... 3 (4)
- К.А. Краснов, А.С. Гладчук, М.Л. Александрова, О.А. Кельциева, М.А. Зайцева, М.В. Мельникова, В.Л. Рейнюк, Е.П. Подольская**
ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛИПИДНЫХ ПИГМЕНТОВ БЕЛОМОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ SACCHARINA LATISSIMA МЕТОДАМИ ТСХ И МАЛДИ-МС 50 (5)
- Д.А. Лебедева, Ю.А. Щеглов**
ПРАВОВЫЕ И БИОЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В НАУЧНЫХ ЦЕЛЯХ..... 10 (5)
- Б.С. Литвинцев, Д.П. Константинов, А.Ю. Ефимцев, А.Д. Петров, А.В. Фомичев, А.Е. Сосюкин, Е.В. Малышева, М.Н. Воробьева**
НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ НАРКОМАНИИ 25 (2)
- Д.В. Мальцев, А.А. Спасов, В.А. Косолапов, К.Т. Султанова, М.В. Мирошников, С.К. Котовская, И.М. Сапожникова, В.Л. Русинов**
НЕЙРОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЯ АВ-19 ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА 39 (4)
- Е.В. Мельник, М.В. Белова, А.Н. Лодягин, А.В. Сабаев, Б.Б. Яцинюк, И.А. Афонькин, И.А. Тюрин, Г.В. Раменская**
СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ЧЕМЕРИЦЕЙ ЗА 2014-2018 ГОДЫ В ГОРОДАХ МОСКВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, ОМСК, ЧИТА И ХАНТЫ-МАНСКИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – ЮГРЕ..... 32 (5)
- В.Г. Панов, И.А. Минигалиева, Т.В. Бушуева, Л.И. Привалова, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, М.П. Сутункова, Б.А. Кацнельсон**
О СМЫСЛЕ ПОНЯТИЯ «ГОРМЕЗИС» И ЕГО МЕСТЕ В ОБЩЕЙ ТЕОРИИ ЗАВИСИМОСТИ ОТВЕТА ОРГАНИЗМА НА ПОТЕНЦИАЛЬНО ВРЕДНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ОТ ЕГО СИЛЫ 2 (5)
- Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева, В.Б. Попов**
КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ..... 21 (4)
- А.С. Радилов, С.А. Солнцева, И.Е. Шкаева, С.А. Дулов, Е.В. Вивуланец, Г.А. Протасова, Л.В. Шабашева, О.С. Никулина**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (ПДК) ДИОКИЛТЕРЕФТАЛАТА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ..... 34 (1)
- Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Г.В. Тимашева, Н.Ю. Хуснутдинова, Л.А. Мусина, А.Р. Гимадиева, С.С. Байгильдин, Д.А. Смолянкин, Я.В. Валова**
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА В КОМБИНАЦИИ С ИЗВЕСТНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ (МЕКСИДОЛ, ТОНАРОЛ, АЦЕТИЛЦИСТЕИН) 14 (6)
- Н.Ю. Роговская, А.Ю. Горбунов, Я.А. Дубровский, Н.С. Хлебников, В.Н. Бабаков**
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИЦИНА В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТИРОВАНИЯ..... 43 (5)
- К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гусьнова, Г.Н. Кульбицкий, М.Л. Александрова**
БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И МОРФОГЕНЕЗ ОСТРОГО ПОЧЕЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КРЫС ДИХЛОРЕТАНОМ..... 20 (1)
- Г.И. Сидорин, Л.В. Луковникова, Л.И. Дьякова, Г.В. Шестова**
ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ РАЗВИТИЯ НЕЙРОПАРАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ОГНЕСТОЙКИХ ТУРБИНЫХ МАСЕЛ НА ОСНОВЕ ТРИАРИЛФОСФАТОВ..... 27 (1)
- Г.А. Софронов**
85 ЛЕТ ФЕДЕРАЛЬНОМУ ГОСУДАРСТВЕННОМУ БЮДЖЕТНОМУ УЧРЕЖДЕНИЮ НАУКИ «ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»..... 2 (2)
- М.С. Степанков**
ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАГНИЯ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ..... 45 (1)
- К.И. Стосман, Л.В. Луковникова, Г.И. Сидорин, Л.И. Дьякова, Э.П. Зацепин, Г.В. Шестова, Б.С. Литвинцев**
О ВОЗМОЖНОСТИ РАЗВИТИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРИ КОНТАКТЕ С ПРОИЗВОДНЫМ N-НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИНЫ – ЛИЗОМУСТИНОМ..... 34 (4)
- М.П. Сутункова, С.Н. Соловьёва, И.Н. Чернышов, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина, И.В. Зубарев, Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон**
ПРОЯВЛЕНИЯ ПОДОСТРОЙ СИСТЕМНОЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА СВИНЦА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ КРЫС..... 3 (6)
- Г.В. Тимашева, Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов, Н.Ю. Хуснутдинова, Г.Ф. Мухаммадиева, А.Б. Бакиров, Д.А. Смолянкин, С.С. Байгильдин**
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА РАННИХ СРОКАХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ..... 13 (1)

Н.В. Томилин, О.А. Филько, О.Н. Гайкова, А.В. Храброва, Н.Е. Соловьева, К.А. Краснов, В.А. Утсаль

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ 54 (2)

А.М. Фомин

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО ГЕМОСОРБЕНТА ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ АМИТРИПТИЛИНОМ И ЦИКЛОДОЛОМ 14 (3)

А.В. Фомичев, А.Е. Сосюкин, Е.В. Малышева, Б.С. Литвинцев, Н.В. Лапина, В.Ф. Пимбурский, А.Е. Чухарев
НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ 42 (2)

Х.Х. Хамидулина

СЛОВО ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА 2 (3), (4), (6)

Х.Х. Хамидулина, А.С. Проскурина

О МЕРАХ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ЦИАНОТОКСИНА НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ ПУТЕМ РЕГУЛИРОВАНИЯ ФОСФАТОВ В СОСТАВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ МОЩНЫХ СРЕДСТВ 3 (3)

Х.Х. Хамидулина, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина, А.Р. Егизарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева, Е.А. Ринчиндоржиева, С.А. Швыкина, Е.С. Петрова

О НЕОБХОДИМОСТИ РАЗРАБОТКИ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ (ПДК) В ВОДЕ И ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ПЕРФОРОКТАНОВОЙ КИСЛОТЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 21 (5)

Х.Х. Хамидулина, А.С. Радилов, С.А. Дулов, А.В. Земляной, П.П. Бельтюков, Е.В. Вивуланец, С.А. Кучерской, М.Ф. Шишонок, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина, А.Р. Егизарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева, Е.А. Ринчиндоржиева, Д.Н. Рабикова, С.А. Швыкина
ПЕРЕСМОТР ПДК В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ТЕРЕФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ 21 (6)

Н.И. Чалисова, В.К. Козлов, А.Б. Мулик, Э.П. Зацепин, Т.А. Кострова
ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ КОДИРУЕМЫХ АМИНОКИСЛОТ НА РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ ПЕЧЕНИ В ПРИСУТСТВИИ ЦИТОСТАТИКА 48 (2)

С.В. Челур, С.Е. Галан, М.С. Вахвияйнен, Р.Н. Хромов, А.Н. Семёнов
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИКОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АГОНИСТОВ КАППА-ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ 27 (4)

В.В. Шилов, В.А. Лукин, Л.П. Пивоварова, М.И. Громов
ОСОБЕННОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЯДОМ МЕДУЗЫ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ) 38 (5)

Е.Б. Шустов, А.Е. Ким, М.Б. Иванов
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ИММУНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ 11 (2)

□ Экологическая токсикология

Л.С. Бондаренко, П.В. Учанов, Н.Г. Чистякова, В.А. Терехова, К.А. Кыдралиева
ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА МОДИФИКАЦИЮ БИОАКТИВНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ 54 (1)

Т.В. Герунов
ИММУНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИВЕРМЕКТИНА У ПРОДУКТИВНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ 49 (1)

Г.А. Даллакян
СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ШУНГИТА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ 19 (3)

Н.П. Подосиновикова, К.А. Краснов, А.А. Бондаренко, М.Л. Александрова, М.А. Зайцева, В.В. Халаман
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ БЕЛОМОРСКИХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ – ФУКУСА ПУЗЫРЧАТОГО И ЛАМИНАРИИ САХАРИСТОЙ НА МОДЕЛИ DAPHNIA MAGNA STRAUS 49 (4)

□ Конкурс научных работ молодых ученых и специалистов

Е.А. Белинская, С.Е. Мазина, Е.К. Пичугина, Г.В. Зыкова
ВЛИЯНИЕ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ И БЕНЗ[А]ПИРЕНА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО (HORDEUM VULGARE L.) 44 (4)

А.М. Игнатова, М.А. Землянова
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРО- И НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ 33 (3)

П.Г. Толкач

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ПУЛЬМОНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИХЛОРАНГИДРИДА УГОЛЬНОЙ КИСЛОТЫ 26 (3)

□ Химическая безопасность

Е.В. Тарасова
ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВА ЕС В ОБЛАСТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ ПЕСТИЦИДОВ 41 (3)

Х.Х. Хамидулина, Рабикова
ЗЕЛЕННЫЕ ПЕСТИЦИДЫ (ПРЕИМУЩЕСТВА И ПРОБЛЕМЫ ВНЕДРЕНИЯ) 53 (3)
ИНФОРМАЦИЯ О РЕАЛИЗАЦИИ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ» ОТ 03.03.2017 № ТР ЕАЭС 041/2017 В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 61 (5)

□ Съезды, конференции, совещания, семинары
60-Е СОВМЕСТНОЕ ЗАСЕДАНИЕ КОМИТЕТА ОЭСР ПО ХИМИИ И РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ОЭСР ПО ХИМИИ, ПЕСТИЦИДАМ И БИОТЕХНОЛОГИИ 62 (1)
СЕССИЯ «ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ GXP В ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ВКЛЮЧАЯ ПЕСТИЦИДЫ» НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ GXP КАК ГАРАНТИЯ БЕЗОПАСНОСТИ» 62 (3)

□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ

М.В. Бидевкина, М.И. Голубева, А.В. Лиманцев, И.Н. Разумная, Т.Н. Потапова, Э.А. Федорова
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ НАТРИЯ ЛАУРИЛСУЛЬФАТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ 56 (4)

М.В. Бидевкина, М.И. Голубева, И.А. Бобринева, А.В. Лиманцев, Т.Н. Потапова, И.Н. Разумная, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская
ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ЗОЛМИТРИПАНА (ДАННЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ) 57 (5)

М.И. Голубева, М.В. Бидевкина, И.А. Бобринева, И.Н. Разумная, Э.А. Федорова, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, И.А. Пожарнов
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ КВЕТАПИНА ФУМАРАТА 54 (6)

К.Т. Еримбетов, Р.А. Земляной, Е.В. Бондаренко, А.Я. Гончарова
ТОКСИЧНОСТЬ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ АКТИВНОГО КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 3-(2-ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С β-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ 59 (6)

А.В. Истомин, Л.А. Румянцева, О.В. Ветрова, И.Г. Михайлов
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ОРГАНОМИНЕРАЛЬНОГО МИКРОУДОБРЕНИЯ 57 (3)
А.Н. Стуков, С.Ф. Вершинина, Н.Н. Харитоновна, Л.В. Филатова, Д.Х. Латипова, М.Л.Тындык, Ю.Г. Змитриченко, А.Л. Семенов, В.Г. Беспалов, Т.Ю. Семиглазова
ОТЕЧЕСТВЕННОЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СОЕДИНЕНИЕ 2-[3-(2-ХЛОРЕТИЛ)-3-НИТРОЗОУРЕИДО] 1,3-ПРОПАДИОЛ (ХЛОНИЗОЛ). ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ 49 (6)

□ Юбилейные даты

ПЕТРОВ АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ (К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ) 60 (4)
РАКИТСКИЙ ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ (К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ) 64 (3)
РЕМБОВСКИЙ ВЛАДИМИР РОМАНОВИЧ (К 75-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ) 62 (2)

□ Некролог

ПАМЯТИ ЛИВАНОВА ГЕОРГИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА 61 (1)

□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам

..... 64 (5)

□ Перечень публикаций, помещенных в журнале

«Токсикологический вестник» в 2020 году 63 (6)