

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Российский регистр потенциально опасных
химических и биологических веществ

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

№ 5 (146), 2017

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

**Л.В. Луковникова, Г.И. Сидорин, Л.А. Аликбаева,
А.В. Галошина**

О РОЛИ БИОМОНИТОРИНГА ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ
ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ, ПОДВЕРЖЕННОГО ЭКСПОЗИЦИИ
РТУТЬЮ.....2

О.С. Литвинова, М.В. Калиновская

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПОДРОСТКОВ ХРОНИЧЕСКИМ
АЛКОГОЛИЗМОМ И НАРКОМАНИЕЙ В РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ В 2011-2015 ГГ. (ПО ДАННЫМ СОЦИАЛЬНО-
ГИГИЕНИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА)8

А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк, Д.А. Халютин, А.А. Ярцева
ВЛИЯНИЕ ИНОЗИНА ГЛИЦИЛ-ЦИСТЕИНИЛ-ГЛУТАМАТ
ДИНАТРИЯ НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ И ИСХОД
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛКОГОЛЬ-ИНДУЦИРОВАННОГО
ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ.....14

**В.А. Грынчак, С.И. Сычик, Е.К. Власенко, И.И. Илюкова,
С.Н. Рябцева**

ИЗУЧЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И ТЕРАТОГЕННОГО
ДЕЙСТВИЯ ДИИЗОНОНИЛФТАЛАТА.....22

Н.Ю. Роговская, В.Н. Бабаков

МАРКЕРЫ АПОПТОЗА - МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ
ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СЕРНИСТОГО ИПРИТА28

**И.А. Минигалиева, Т.В. Бушуева, Э. Фрёлх, К. Майндл,
К. Элингер, В.Г. Панов, А.Н. Вараксин, В.Я. Шур,
Е.В. Шишкина, В.Б. Гурвич, Б.А. Кацнельсон**

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛО-
ОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ (НА
ПРИМЕРЕ NiO И Mn₃O₄).....35

**А.С. Радилев, И.Е. Шкаева, С.А. Солнцева,
О.С. Никулина, А.И. Николаев, Х.Х. Хамидулина,
В.Б. Попов, Г.А. Протасова**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СМЕСИ ПРЕДЕЛЬНЫХ
УГЛЕВОДОРОДОВ C₆-C₁₀ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ
НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ44

□ Химическая безопасность

Х.Х. Хамидулина, П.А. Щербakov

РАЗВИТИЕ «ЗЕЛЕНОЙ» ХИМИИ В РАМКАХ СТРАТЕГИЧЕСКОГО
ПОДХОДА К МЕЖДУНАРОДНОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ
ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ (СПМРХВ/SAICM)50

□ Юбилейные даты

Юрий Семенович Гольдфарб56

□ Некролог

Памяти Юрия Ивановича Мусийчука57

□ Новые публикации по токсикологии и смежным
дисциплинам.....59

**L.V. Lukovnikova, G.I. Sidorin, L.A. Alikbaeva,
A.V. Galochina**

ON THE ROLE OF BIOMONITORING IN THE ASSESSMENT
OF THE HEALTH OF THE POPULATION EXPOSED
TO MERCURY2

O.S. Litvinova, M.V. Kalinovskaya

ANALYSIS OF ADOLESCENTS MORBIDITY ATTRIBUTABLE TO
CHRONIC ALCOHOLISM AND DRUG ADDICTION IN THE RUSSIAN
FEDERATION IN 2011-2015 (BASED ON DATA FROM SOCIO-
HYGIENIC MONITORING).....8

**A.E. Antushevich, A.N. Grebenyuk, D.A. Halyutin,
A.A. Yarseva**

INFLUENCE OF INOSINE GLYCYL-CYSTEINYL-GLUTAMATE
DISODIUM ON THE CLINICAL COURSE AND OUTCOME OF THE
EXPERIMENTAL ALCOHOL-INDUCED LIVER CIRRHOSIS.....14

**V.A. Grynchak, S.I. Sychik, E.K. Vlasenko, I.I. Ilyukova,
S.N. Ryabceva**

THE STUDY OF EMBRYOTOXIC AND TERATOGENIC EFFECTS
OF DIISONONYL PHTHALATE.....22

N. Yu. Rogovskaya, V.N. Babakov

APOPTOSIS MARKERS ARE MOLECULAR TARGETS OF SULFURE
MUSTARD TOXIC ACTION28

**I.A. Minigalieva, T.V. Bushueva, E. Fröhlich, C. Meindl,
K. Öhlinger, V.G. Panov, A.N. Varaksin, V.Ya. Shur,
E.V. Shishkina, V.B. Gurchich, B.A. Katsnelson**

SOME ASPECTS OF METAL OXIDE NANOPARTICLES TOXICITY
ASSESSMENT ON CELL CULTURES AS EXEMPLIFIED BY NiO AND
Mn₃O₄35

**A.S. Radilov, I.E. Shkaeva, A.I. Nikolaev,
Kh.Kh. Khamidulina, S.A. Solntseva, O.S. Nikulina,
V.B. Popov, G.A. Protasova**

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF HYGIENIC REGULATORY
STANDARDS FOR A MIXTURE OF C₆-C₁₀ SATURATED
HYDROCARBONS IN THE ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL
AREAS44

□ Chemistry toxicology

Kh.Kh. Khamidulina, P.A. Shcherbakov

THE DEVELOPMENT
OF GREEN CHEMISTRY
IN SAICM FRAMEWORK.....50

□ Anniversaries

Anniversary of Yuriy Semyonovich Goldfarb56

□ Obituary

In memory of Yuriy Ivanovich Musiychuk57

□ New publications on toxicology and related
disciplines59

УДК 546.49 : 57.04 : 615.91

О РОЛИ БИОМОНИТОРИНГА ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ, ПОДВЕРЖЕННОГО ЭКСПОЗИЦИИ РТУТЬЮ

Л.В. Луковникова¹, Г.И. Сидорин¹,
Л.А. Аликбаева², А.В. Галошина¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

При обследовании населения, экспонированного органическими и неорганическими соединениями ртути, предлагается комплексный подход, включающий, проведение химического мониторинга объектов окружающей среды, биологического мониторинга, клиническое обследование лиц, подверженных действию ртути, выявление групп повышенного риска.

Ключевые слова: опасность органических и неорганических соединений ртути, химический и биологический мониторинг.

Целью государственной политики в проблеме сохранения здоровья нации является последовательное снижение до приемлемого уровня риска негативного воздействия опасных химических и биологических факторов на население и окружающую среду. Реализация поставленной цели осуществляется в соответствии с такими принципами как соблюдение законодательства Российской Федерации, а также принятых Российской Федерацией обязательств по международным соглашениям в области обеспечения химической и биологической безопасности.

Одним из международных соглашений в области обеспечения химической безопасности, в котором с 24 сентября 2014 года участвует Российская Федерация, является конвенция Минамата – *Minamata Convention on Mercury* — межгосударственный договор, направленный на защиту здоровья людей и окружающей среды от антропогенных выбросов и высвобождений ртути и её соединений, которые могут приводить к отравлениям ртутью [1]. Согласно Конвенции правительства стран, являющиеся ее Сторонами, должны принимать ряд мер по предотвращению развития неблагоприятных последствий для здоровья населения: ограничивать выделение ртути в воздух

благодаря использованию «чистых» технологий без сжигания угля, снятию с производства ртутьсодержащих изделий, прекращение использования ртути при добыче золота и других металлов, синтезе хлора. В конвенции Минамата, работах отечественных и зарубежных исследователей подчеркивается, что ртуть является химическим веществом, вызывающим беспокойство в глобальном масштабе вследствие ее переноса в атмосфере на большие расстояния, стойкости в окружающей среде, ее способности к биоаккумуляции в экосистемах, высокой токсичностью и опасностью ртути и ее соединений для человека [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

Источники поступления неорганических соединений ртути в окружающую среду разделяются на природные и антропогенные. Основным природным источником поступления ртути в среду обитания человека является естественный процесс ее испарения из земной коры в количестве от 2700 до 6000 тонн ежегодно [4, 9]. К антропогенным источникам ртути в атмосфере относятся: производство ртути, хлора, сжигание всех видов топлива, коксохимические предприятия, цветная металлургия, применение ртути в судостроении и машиностроении [4, 5, 8]. На предпри-

Луковникова Любовь Владимировна (Lukovnikova Lubov Vladimirovna), д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, lukovnikova@toxicology.ru

Сидорин Геннадий Иванович (Sidorin Gennadiy Ivanovich), д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, sidorin.g@mail.ru

Аликбаева Лилия Абдулняимовна (Alikbaeva Liliya Abdunajimovna), д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и военной гигиены ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, alikbaeva@mail.ru

Галошина Анна Владимировна (Galochina Anna Vladimirovna), аспирант ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, kritich@mail.ru

ятиях металлургии в атмосферный воздух выделяется от 5 до 7% ртути от общего объема получаемого металла. При получении 1 тонны черновой меди в воздух атмосферы выбрасывается около 2,09 тонн аэрозолей с содержанием до 4% ртути [8].

В организм человека ртуть и ее соединения поступают в виде паров металлической ртути, ее неорганических и органических соединений. В производственных условиях наибольшее значение имеет ингаляция ртути и ее соединений в виде паров и аэрозолей [5, 8, 9].

Источниками поступления органических соединений ртути (ОСР) в окружающую среду являются предприятия химической промышленности, синтез и применение ртутьорганических пестицидов. Попадая в атмосферный воздух, водоемы, почву органические соединения ртути представляют реальную угрозу для окружающей среды и здоровья человека. Еще одним источником образования ОСР в объектах окружающей среды является процесс метилирования неорганической ртути в почве, донных отложениях озер, рек и других водоемов, с включением в трофические цепи и концентрированием по мере продвижения от низших к высшим трофическим уровням, накоплением более всего в рыбе и морепродуктах [6, 10, 11, 12]. Основными путями поступления ОСР в организм животных и человека являются пероральный (в результате потребления рыбы и морепродуктов) и ингаляционный (при синтезе и применении ртутьорганических ядохимикатов).

Общая схема поступления ртути в объекты окружающей среды и организм человека и животных представлена на рисунке 1 [6].

Отравления ртутью известны давно. Токсические свойства металлической ртути знали греки и римляне еще за 300 лет до нашей эры. Со времен Римской империи известны случаи отравления рабов, занятых на добыче ртути. Основной симптомокомплекс ртутной интоксикации хорошо иллюстрируется известной английской поговоркой – «Безумен, как шляпник», которая отражает выраженные расстройства нервной си-

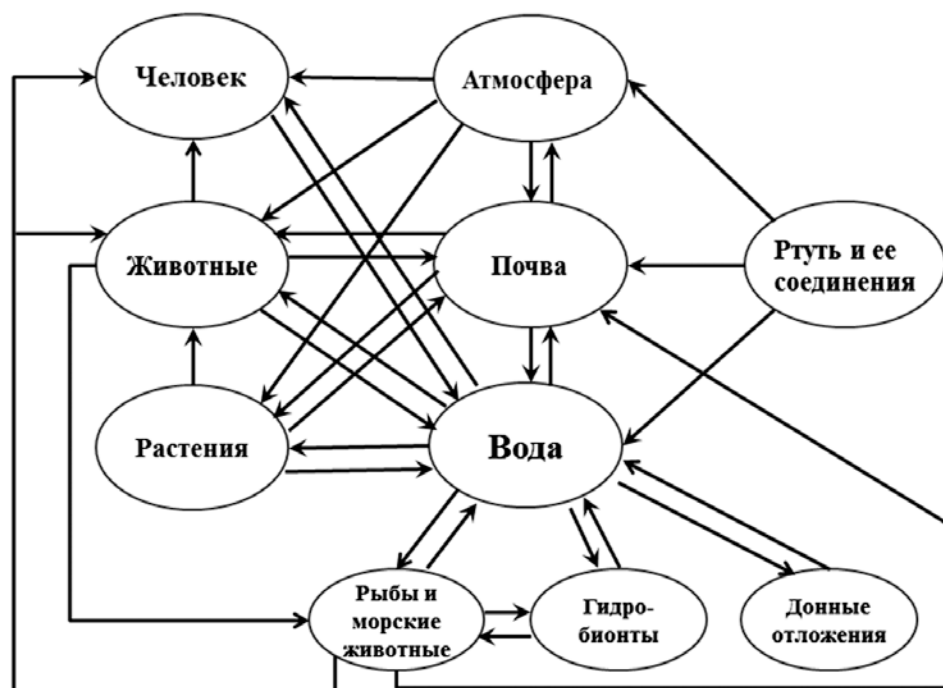


Рис. 1. Схема циркуляции ртути и ее соединений в окружающей среде

стемы у лиц, занятых обработкой фетра нитратом ртути [6]. Действие ртути на здоровье рабочих подробно представлено в классическом труде Б. Рамаццини «Рассуждение о болезнях ремесленников» (1700). Описывая труд людей, занятых изготовлением зеркал, он указывал, что вследствие применения ртути у них развивались «...параличи, астма и другие страдания». Автор особо отмечал, что «...самой губительной вредностью для шахтеров являются пары, выделяющиеся из рудников, где добывается ртуть» [6].

В настоящее время острые отравления парами ртути встречаются редко. Хронические отравления ртутью развиваются постепенно и проявляются в виде признаков микромеркуриализма и меркуриализма, подробно представленные в работах отечественных и зарубежных авторов [5, 6, 8, 12, 13].

Однако не все авторы применяют термин меркуриализм и микромеркуриализм обоснованно. Известны работы, в которых диагноз ртутной интоксикации ставится достаточно свободно без оценки уровня внешнего воздействия, который мог быть причиной развития отравления, без результатов клинического обследования пострадавших, без критического анализа уровня содержания ртути в биосредах, не отмечая различий в характере токсического действия неорганических и органических соединений ртути [14, 15, 16, 17].

Одно из самых массовых отравлений органическими соединениями ртути получило название болезни Минамата. Причиной болезни явилось

накопление метилртути в рыбе и морепродуктах, которые были основной пищей жителей поселка на берегу залива Минамата (Япония). Как стало известно, к трагедии привели многолетние сбросы в залив ртутьсодержащих стоков. С 1932 года по 1968 год в залив поступило около 200 тонн ртути [5, 6, 11, 12]. Превращение неорганической ртути в метилированные соединения является решающим моментом в процессе водного биоаккумуляции. Далее метилртуть накапливаясь водной биотой и, достигая наивысшей концентрации в тканях рыб, креветок и других морских животных, поступая в организм жителей поселка Минамата, привела к известной трагедии [11, 12]. Отравления ОСП были зарегистрированы в Ираке, Гане и других странах, вследствие употребления в пищу зерна, обработанного ртутьорганическими пестицидами [10, 11, 12, 18].

В отличие от неорганических соединений ртути токсичность ОСП не зависит от пути поступления в организм. Особенностью интоксикации ОСП, в сравнении с клиникой отравления неорганическими соединениями ртути, является стойкость неврологической симптоматики: преобладание жалоб, указывающих на патологию гипоталамических структур мозга и уменьшение симптомов, свидетельствующих о патологии периферической нервной системы [6, 8, 11, 12, 13, 18, 19]. Наряду с поражением центральной нервной системы, интоксикация ОСП характеризуется выраженным кардиотоксическим действием, которое проявляется в виде кардиомиодистрофии и гипотонии. Способность ОСП к взаимодействию с SH-группами тканевых белков, а также с аминок- и карбоксильными группами, приводит к нарушению активности многих ферментных систем. Наличие углеводородного радикала обеспечивает проникание в богатые липоидами ткани, в том числе и в мозг [6, 11, 12, 19]. По данным многих авторов органические соединения ртути проявляют гонадотоксическое действие, проникают через плаценту, вызывают повреждение развития плода [4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 19, 20, 21].

В связи с распространенностью ртути и ее соединений в различных объектах окружающей среды и реальной возможностью их поступления в организм человека, контроль за содержанием ртути и ее соединений в биосредах организма может быть объективным методом, отражающим не только уровень токсиканта в организме человека, но и критерием, характеризующим загрязнение окружающей среды ртутью [3, 5, 6, 22, 23, 24, 25].

В странах Евросоюза и США в практику оценки опасности профессионального воздействия химических веществ наряду с химическим мониторингом внедряются методы биомониторинга. В США приняты и обоснованы основные

количественные характеристики биомониторинга – биологические индексы экспозиции (БИЭ) или Biological Exposure Indices (BEI). В 80-е годы прошлого столетия Американская конференция правительственных промышленных гигиенистов (American Conference of Governmental Industrial Hygienists – ACGIH) включила в свои перечни химических веществ, помимо величин порогового предела (TLV), значения биологических индексов экспозиции (BEI), которые постоянно пополняются [26, 27]. В издании ACGIH 2011 года содержится 50 значений BEI более чем для 80 химических веществ [28].

В России биомониторинг как система оценки потенциальной опасности действия токсиканта для здоровья работающих до настоящего времени не имеет должного распространения и «... остается предметом обсуждения лишь в научных кругах» [29], несмотря на то, что именно биомониторинг как научное направление отечественной токсикологии имеет давнюю историю, прославленную такими именами как И.Д. Гадаскина, В.А. Филов, И.М. Трахтенберг. Более 30 лет назад были опубликованы первые отечественные монографии, в которых впервые были изложены количественные подходы по обоснованию биологических тестов (индексов) экспозиции при действии органических и неорганических веществ [30, 31]. Современные публикации по использованию кинетических и метаболических критериев действия химических веществ появились значительно позднее [25, 26, 27, 32].

Еще реже используется биомониторинг как система оценки потенциальной опасности действия токсикантов для здоровья неработающего населения, хотя именно биомониторинг обеспечивает гигиенистов и клиницистов объективными данными о количестве поступившего в организм химического вещества, включая все пути: через легкие, кожу и позволяет наиболее полно представить суммарное воздействие токсиканта на человека. Применение этого методологического подхода для прогнозирования риска здоровью человека в результате химического воздействия может быть весьма информативным, о чем свидетельствуют исследования отечественных и зарубежных авторов [3, 6, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 33].

Европейский центр ВОЗ по окружающей среде и охране здоровья координирует и внедряет разработку показателей на основе биомониторинга для эффективного обследования населения регионов, в которых существуют проблемы с химическим загрязнением. В своем отчете «Показатели экспозиции к химическим веществам на основе биомониторинга» анализируя экологическую ситуацию, одного из регионов Италии (Сицилия, Катанья, 2012), эксперты ВОЗ разработали список приоритетных загрязните-

лей, биомаркеров экспозиции для обследования населения и выделили наиболее уязвимые контингенты – беременные женщины и дети [23, 25]. В качестве биомаркеров экспозиции ртутью рекомендованы: определение ртути в волосах, пуповинной крови, крови, моче [25]. В отдельных случаях биомаркером экспозиции может быть определение ртути в грудном молоке [11].

Примером подобного исследования может быть определение содержания ртути в крови жителей центральной части Санкт-Петербурга и пригородных районов, которое показало, что среднее значение содержания ртути в крови взрослых жителей мегаполиса составило $1,79 \pm 0,32$ мкг/дм³ (n=53), в крови детей содержание ртути определялось на уровне $1,82 \pm 0,42$ мкг/дм³, (n=31), среднее значение ртути в крови беременных женщин оказалось равным $1,25 \pm 0,33$ мкг/дм³, (n=47) [14,15]. В норме у лиц, без признаков интоксикации, по данным отечественных и зарубежных авторов количество ртути в крови определяется на уровне от 5 до 12 мкг/дм³ [23,25]. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что в организме обследованных лиц содержание ртути не превышает допустимых уровней, т.е. из объектов окружающей среды (воды, воздуха, пищевых продуктов) не поступает опасных для здоровья названных контингентов количеств ртути.

В работах И.Н. Ильченко, А.И. Егорова предлагается проводить регулярные национальные исследования по оценке содержания ртути в организме человека, используя рекомендации ВОЗ с применением методов биомониторинга [22, 23]. Анализ пуповинной крови, определение содержания ртути в крови, моче, волосах обследуемых, продуктах питания (прежде всего в рыбе как источнике метилртути) позволяет представить представление об уровне ртутной экспозиции в различных регионах и выделить группы риска среди населения, подверженного действию ртути. Авторы обращают внимание, что в Европе, США, существующие официально принятые нормативы содержания ртути в различных биосредах организма, не вызывающие неблагоприятных изменений здоровья человека, постоянно пересматриваются, что объясняется вполне объективными причинами: изменением содержания ртути в объектах окружающей среды, например, в морской воде, в рыбе и морепродуктах, недостаточным количеством биомониторинговых исследований, особенно исследований выполненных в динамике [23].

Еще одной причиной является несовершенство методологии обоснования величины безопасного содержания ртути в организме, что является непростой задачей, успешное решение которой возможно при использовании междисциплинарного подхода с привлечением гигиени-

стов, токсикологов, клиницистов, выполнением необходимых химических и биохимических исследований.

В работах, посвященных разработке теоретических принципов биомониторинга, неоднократно отмечается, что биомониторинг как система оценки риска здоровью, является вспомогательным инструментом токсиколого-гигиенических исследований, результаты которого необходимо сопоставлять с уровнем внешнего воздействия и обязательным подтверждением данными клинического обследования лиц, подверженных химическому воздействию [3, 30, 31, 34, 35, 36]. Один из самых признанных специалистов по оценке токсического действия ртути И.М.Трахтенберг подчеркивал, что определение даже повышенных концентраций ртути в крови на уровне $0,14-0,40$ мкг/дм³ не всегда подтверждается клиническими проявлениями интоксикации [6, 7].

Количественные характеристики определения токсикантов в биосредах зависят от множества причин, среди которых немаловажное значение имеют параметры легочной вентиляции, особенности гемодинамики, конституции индивидуумов, состояние функции почек, активность ферментов метаболизирующих систем, различия в степени физической нагрузки. Изменять показатели биологического мониторинга могут вредные привычки (алкоголь, курение), прием лекарственных препаратов, социально-бытовые условия проживания, качество потребляемых продуктов питания, питьевой воды. Все перечисленные факторы, несомненно, могут быть причиной колебаний величин биологических индексов экспозиции и способны исказить представление о степени опасности химического загрязнения внешней среды. В этой связи следует еще раз привлечь внимание исследователей к тому, что данные биомониторинга служат дополнением к химическому мониторингу объектов окружающей среды, клиническому обследованию населения и широко используются для подтверждения результатов исследования даже в спорных и экспертных ситуациях. Привлечение гигиенистов, токсикологов, клиницистов, выполнение необходимых химических и биохимических исследований, отражающих не только наличие токсиканта в биосредах, но и ответную реакцию организма позволяет объективно обосновать уровень безопасного содержания токсиканта в организме человека.

Оценку состояния здоровья населения, подверженного токсическому действию ртути, можно представить как последовательное выполнение комплекса исследований: контроль за уровнем внешнего воздействия (химический мониторинг воздуха, почвы, воды, пищевых продуктов), определение биомаркеров экспозиции

(определение содержания ртути в биосредах), клиническое обследование наиболее уязвимых групп населения и выявление биомаркеров эффекта. В общем виде для выявления групп

повышенного риска среди населения можно рекомендовать определенный алгоритм токсиколого-гигиенических исследований, представленный на рисунке 2.



Рис. 2. Алгоритм исследований для выявления групп повышенного риска среди населения

Предлагаемый алгоритм может быть применен для выявления групп повышенного риска здоровью населения в результате токсического действия не только ртути, но и любого другого токсиканта, представляющего опасность для здоровья человека.

Заключение. Таким образом, количественные показатели биомониторинга, наряду с результатами химического контроля за содержанием токсиканта в объектах окружающей среды, и данными клинического обследования населения могут быть не только объективными характеристиками загрязнения среды обитания человека, но критериями оценки коллективного и персонализированного риска здоровью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The Minamata Convention on Mercury. Available at: <http://www.mercuryconvention.org/> (accessed 12 May 2014).
2. Курляндский Б.А., Хамидулина Х.Х., Кудинова О.Н. Современные тенденции промышленного развития России и токсикологические проблемы химической безопасности. Токсикологический вестник. 2005; 1: 2-7.
3. Луковникова Л.В., Фролова А.Д., Чекунова М.П. Металлы в окружающей среде: проблемы мониторинга. Эффективная терапия. 2004; 1: 74-79.
4. Сидорин Г.И. Ртуть как ксенобиотик. Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И.Мечникова. 2001; 1: 78-86.
5. Трахтенберг И.М., Коршун М.И., Козлов К.П. Ртуть как глобальный химический загрязнитель. Токсикологический вестник. 2006; 3: 2-7.
6. Трахтенберг И.М. Книга о ядах и отравлениях. Очерки токсикологии. Киев: Наукова думка; 2000.
7. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. Тяжелые металлы во внешней среде. Минск: Наука и Техника; 1994.
8. Ртуть. МРПТХВ Научные обзоры советской литературы по токсичности и опасности химических веществ. Программа ООН по окружающей среде (ЮНЕП), №Москва: Центр международных проектов ГНТ; 1982.
9. Ершов Ю.А., Плетнева Т.В. Механизм токсического действия неорганических соединений. М.: Медицина; 1989.
10. Борисенко Н.Ф., Кучак Ю.А. Влияние ртутьорганических пестицидов на окружающую среду и здоровье населения. Гигиена и санитария. 1989; 12: 65-69.
11. Луковникова Л.В., Сидорин Г.И., Аликбаева Л.А. Опасность острых и хронических отравлений органическими соединениями ртути. Профилактическая и клиническая медицина. 2013; 2: 16-19.
12. Метилртуть. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Женева: ВОЗ; 1993.
13. Дрогичина Э.А., Садчикова М.Н. Интоксикация ртутью и ее органическими соединениями. М.: Медицина; 1966.
14. Малов А.М., Карпова Л.С., Петров А.Н., Семенов Е.В. Содержание ртути в крови женщин с различными сроками беременности г. Санкт-Петербурга. Токсикологический вестник. 2001; 5: 5-11.
15. Малов А.М., Сибиряков В.К., Муковский Л.А., Семенов Е.В. Ртуть как фактор риска для здоровья человека. Известия Самарского научного центра РАН. 2014; Т.16, 5(2): 907-910.
16. Семенов А.С., Скальный А.В. Иммунопатологические и патобиохимические аспекты патогенеза перинатального поражения мозга. Санкт-Петербург: Наука; 2000.
17. Шилов В.В. Экологическая токсикология ртути. Эколого-эпидемиологическая экспертиза здоровья населения – основа рациональной профилактики болезней. Материалы XXXV научной конференции СПбМАПО «Хлопнистые чтения» под ред. А.П. Щербо и С.С. Першина. СПб.: СПбМАПО; 2002.
18. Русских В.А., Фролова И.Н. Материалы к обоснованию предельно допустимой концентрации диэтилртути в воздухе рабочей зоны. Гигиена и санитария. 1973; 1: 100-102.
19. Элленхорн Метью Дж. Медицинская токсикология: Диагностика и лечение отравлений у человека: в 2 томах. Т.2: пер с англ. М.: Медицина; 2003: 1044.
20. Вашакидзе В.И. Экспериментальные данные о гонадотропном, эмбриотропном и мутагенном действии гранозана. Вопросы гигиены и токсикологии пестицидов. М.: Медицина; 1970: 134-139.
21. Гончарук Г.А. Влияние ртутьорганических пестицидов ртути на организм человека. Гигиена и санитария. 1968; 6: 111-119.
22. Егоров А.И., Ильченко И.Н., Ляпунов С.М., Марочкина Е.Б., Окينا О.И., Ермолаев Б.В., Карамышева Т.В. Применение стандартизованной методологии биомониторинга человека для оценки пренатальной экспозиции к ртути. Гигиена и санитария. 2014; 5: 10-18.
23. Ильченко И.Н. Обзор исследований по оценке воздействия ртути на население в постсоветских странах с использованием данных биомониторинга человека. Здравоохранение Российской Федерации. 2015; 59(1): 48-53.
24. Луковникова Л.В., Галошина А.В. Показатели биомониторинга при оценке загрязнения территории мегаполиса ртутью. Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии. Тезисы докладов Российской Федерации. 2015; 59(1): 36-37.
25. Показатели экспозиции к химическим веществам на основе биомониторинга. Отчет о совещании в Катании, Италия, 19-20 апреля 2012 г. ВОЗ; 2012.
26. Biological Monitoring of Chemical Exposure in Workplace. Guidelines. Geneva: WHO, 1996; 1.
27. TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices. ACGIH. WORLDWIDE; 1999.
28. TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices. ACGIH. WORLDWIDE; 2011.
29. Российская энциклопедия по медицине труда / гл. редактор академик РАН Н.Ф.Измержев. М.: Медицина; 2005.
30. Гадаскина И.Д., Гадаскина Н.Д., Филов В.А. Определение промышленных неорганических ядов в организме. Ленинград: Медицина; 1975.
31. Гадаскина И.Д., Филов В.А. Превращение и определение промышленных органических ядов в организме. Ленинград: Медицина; 1971.
32. Ткачева Т.А. Биомаркеры в токсикологии и оценке риска. Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России; 2003: 256-2.
33. Луковникова Л.В., Сидорин Г.И., Баринов В.А., Галошина А.В. Развитие представлений о роли биомониторинга в промышленной токсикологии от Н.В.Лазарева до наших дней. Актуальные вопросы промышленной токсикологии. Материалы науч-

но-практической конф., приуроченной к 10-летию токсикологического центра Федерального медико-биологического агентства (Москва, 26-27 ноября 2014 г.) М.: Издательство Перо; 2014: 16-21.

REFERENCES:

- The Minamata Convention on Mercury. Available at: <http://www.mercuryconvention.org/> (accessed 12 May 2014).
- Kurljandskij B.A., Hamidulina H.H., Kudinova O.N. Modern trends of industrial development of Russia and Toxicological problems of chemical safety. *Toksikologicheskij vestnik*. 2005;1: 2-14 (in Russian).
- Lukovnikova L.V., Frolova A.D., Chekunova M.P. Metals in the environment: problems monitoring. *Jefferentnaja terapija*. 2004; 1: 74-79 (in Russian).
- Sidorin G.I. Mercury as a xenobiotic. *Vestnik Sankt-Peterburgskoj medicinskoj akademii im. I.I.Mechnikova*. 2001; 1: 78-86 (in Russian).
- Trahtenberg I.M., Korshun M.I., Kozlov K.P. Mercury as a global pollutant chemical. *Toksikologicheskij vestnik*. 2006; 3: 2-7 (in Russian).
- Trahtenberg I.M. A book about poisons and poisonings. *Essays on toxicology*. Kiev: Naukova dumka; 2000 (in Russian).
- Trachtenberg I.M., Kolesnikov V.S., Lukovenko V.P. Heavy metals in the environment. Minsk: Navuka i Tjehnika; 1994 (in Russian).
- Mercury. *Mcdv Scientific reviews of Soviet literature on toxicity and hazards of chemical substances. The UN environment programme (UNEP), No. Moscow: Centre of international projects GKNT; 1982 (in Russian).*
- Ershov Ju. A., Pletneva T.V. Mechanism of toxic action of inorganic compounds. M.: Medicina; 1989 (in Russian).
- Borisenko N.F., Kuchak Ju.A. The effect of organomercury pesticides on the environment and health of population. *Gigiena i sanitarij*. 1989; 12: 65-69 (in Russian).
- Lukovnikova L.V., Sidorin G.I., Alikbaeva L.A. The risk of acute and chronic poisoning with organic mercury compound. *Profilakticheskaja i klinicheskaja medicina*. 2013; 2: 16-19 (in Russian).
- Metilirtut'. *Gigienicheskie kriterii sostojanija okruzhajushhej sredy* 1Zheneva: VOZ; 1993.
- Drogichina Je.A., Sadchikova M.N. Intoxication with mercury and its organic compounds. M.: Medicina; 1966 (in Russian).
- Malov A.M., Karpova L.S., Petrov A.N., Semenov E.V. Mercury in blood of women with different pregnancy St. Petersburg. *Toksikologicheskij vestnik*. 2001; 5: 5 - (in Russian).
- Malov A.M., Sibirjakov V.K., Mukovskij L.A., Semenov E.V. Mercury as a risk factor for human health. *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra RAN*. 2014; 16, 5(2): 907-9(in Russian).
- Semenov A.S., Skal'nyj A.V. Immunopathological and pathobiochemical aspects of the pathogenesis of perinatal brain damage. Sankt-Peterburg: Nauka; 2009 (in Russian).
- Shilov V.V. The environmental toxicology of mercury. *Jekologo-jepidemiologicheskaja jekspertiza zdorov'ja naselenija - osnova racional'noj profilaktiki boleznej. Materialy XXX nauchnoj konferencii SPbMAPO «Hlopinskie chtenija» pod red. A.P. Shherbo i S.S. Pershina. SPb.: SPbMAPO; 2002 (in Russian).*
- Russkih V.A., Frolova I.N. Materials for substantiation of maximum permissible concentration of diesel ducy in working zone air. *Gigiena i sanitarija*. 1973; 1: 100-102 (in Russian).
- Jellenhorn Matthew J. MD. Medical toxicology: Diagnosis and treatment of poisoning in man: in 2 vols. Vol. 2: translated from English. M.:Medicina; 2003 (in Russian).
- Vashakidze V.I. Experimental data on the gonadotropic, abrotanum and mutagenic action granosan. *Voprosy gigieny i toksikologii pesticidov*. M.: Medicina; 1970: 134-139 (in Russian).
- Goncharuk G.A. The effect of organomercury pesticides mercury and mercurhexane on the offspring of albino rats. *Gigiena i sanitarija*. 1968; 6: 111-113 (in Russian).
- Egorov A.I., Il'chenko I.N., Ljapunov S.M., Marochkina E.B., Okina O.I., Ermolaev B.V., Karamysheva T.V. Apply a standardized methodology of human bio-monitoring to assess prenatal exposure to mercury. *Gigiena i sanitarija*. 2014; 5: 10-18 (in Russian).
- Il'chenko I.N. A review of studies assessing the impact of mercury on the population in post-Soviet countries using data from biomonitoring of human. *Zdravoohranenie Rossijskoj Federacii*. 2015; 59(1): 48-53 (in Russian).
- Lukovnikova L.V., Galoshina A.V. Indicators of biomonitoring in the assessment of pollution within the metropolis by mercury. *Mediko-biologicheskie problemy toksikologii i radiobiologii: Tezisy dokladov Rossijskoj nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Sankt-Peterburg; 2015: 36-37 (in Russian).*
- Indicators of exposure to chemicals based on biomonitoring. *Otchet o soveshhanii v Katani', Italija, 19-20 aprelja 2012 g. VOZ; 2012 (in Russian).*
- Biological Monitoring of Chemical Exposure in Workplace. Guidelines. Geneva: WHO. 1996; 1.
- TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices. ACGIH. WORLDWIDE; 1999.
- TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices. ACGIH. WORLDWIDE; 2011.
- Russian encyclopedia of occupational medicine / gl. redaktor akademik RAMN N.F. Izmerov. M.: Medicina; 2005 (in Russian).
- Gadaskina I.D., Gadaskina N.D., Filov V.A. The definition of industrial inorganic poisons in the body. Leningrad: Medicina; 1975 (in Russian).
- Gadaskina I.D., Filov V.A. Transformations and definition of industrial organic poisons in the body. Leningrad: Medicina; 1971 (in Russian).
- Transformations and definition of industrial organic poisons in the body. *Tezisy dokladov 2-go sezda toksikologov Rossii. M.: Rossijskij registr potencial'no opasnyh hi-micheskij i biologicheskij veshhestv Minzdrava Rossii; 2003: 256-258 (in Russian).*
- Lukovnikova L.V., Sidorin G.I., Barinov V.A., Galoshina A.V. The development of ideas about the role of biomonitoring in industrial toxicology from N.V. Lazareva to the present day. *Aktual'nye voprosy promyshlennoj toksikologii. Materialy nauchno-prakticheskoi konf., priurochennoj k 10-letiju toksikologicheskogo centra Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva (Moskva, 26-27 nojabrja 2014 g.) M.: Izdatel'stvo Pero; 2014: 16-21 (in Russian).*
- Frolova A. D., Lukovnikova L.V., Chashhin V.P., Sidorin G.I. To the problem of monitoring chemical substances. *Medicina truda i promyshlennaja jekologija*. 2003; 8: 1-6 (in Russian).
- Cirk M. Biological evaluation of privredna. *Preventive current-sicologia. Sbornik uchebno-metodicheskij materialov. T.Centr mezhdunarodnyh pro-ektov. Moskva: GKNT; 1984: 165-185 (in Russian).*
- Piotrowski E. Use of the kinetics of metabolism and excretion of toxic substances in solution of problems of industrial toxicology. M.: Medicina; 1976 (in Russian).

L.V. Lukovnikova¹, G.I. Sidorin¹, L.A. Alikbaeva², A.V. Galochina¹

ON THE ROLE OF BIOMONITORING IN THE ASSESSMENT OF THE HEALTH OF THE POPULATION EXPOSED TO MERCURY

¹«Institute of Toxicology» of Federal Medico-Biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation, 192019, Saint-Petersburg, Russian Federation

² The Federal State Budgetary Educational Institution for Higher Education «North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 191015, Saint-Petersburg, Russian Federation

When examining the population exposed to organic and inorganic compounds of mercury, a comprehensive approach is proposed, including chemical monitoring of environmental objects, biological monitoring, clinical examination of persons exposed to mercury, identification of high-risk groups.

Keywords: danger of organic and inorganic mercury compounds, chemical and biological monitoring.

Материал поступил в редакцию 14.04.2017 г.

УДК 615.099-053 : 615.015.6

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПОДРОСТКОВ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ И НАРКОМАНИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2011-2015 ГГ. (ПО ДАННЫМ СОЦИАЛЬНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА)

О.С. Литвинова^{1,2},
М.В. Калиновская^{1,3}

¹ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 117105, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, 125993, г. Москва, Российская Федерация;

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, Российская Федерация

В статье изложены результаты оценки данных федерального информационного фонда социально-гигиенического мониторинга, сформированного ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, за период 2011-2015 гг., о заболеваемости хроническим алкоголизмом и наркоманией среди подростков по России, федеральным округам и субъектам Российской Федерации. Заболеваемость синдромом зависимости от алкоголя (хронический алкоголизм) подростков в возрасте от 15 до 17 лет в Российской Федерации в 2015 году составила 2,98 на 100 тыс. подростков соответствующего возраста (2014 г. – 5,65, 2013 г. – 3,74, 2012 г. – 5,13, 2011 г. – 9,50). По сравнению с 2011 годом в 2015 году заболеваемость синдромом зависимости от алкоголя среди подростков достоверно снизилась в 3,2 раза ($P < 0,0001$). В то же время синдром зависимости от наркотических веществ (наркомания) среди подростков в возрасте от 15 до 17 лет в Российской Федерации в 2015 году составил 9,17 на 100 тыс. подростков и на протяжении анализируемого периода отмечен достоверный рост этого показателя в 2,0 раза ($P < 0,0001$).

Ключевые слова: хронический алкоголизм, наркомания, подростки, субъекты РФ.

Введение. Чрезмерное потребление алкоголя и пьянства (еженедельные эпизоды употребления больших доз алкоголя, из расчета свыше 50 г чистого спирта), по оценкам ВОЗ, оказывает негативное воздействие на здоровье [1]. Вредное употребление алкоголя является одной из причин более чем 200 патологических состояний, в первую очередь алкогольной зависимости, цирроза печени, онкологических заболеваний и травм [2].

В Российской Федерации, по данным токсикологического мониторинга, проводимого ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора в рамках ведения социально-гигиенического мониторинга (СГМ), показатель острых отравлений химической этиологии (ООХЭ) среди подросткового населения, что вызывает особую озабоченность, возрастает из

года в год, так же как и показатель острых отравлений химической этиологии с летальным исходом (ООХЭЛИ). Одновременно с этим возросло и количество отравлений от спиртосодержащей продукции среди подростков 15-17 лет в 2015 г. [3].

Не менее острой является проблема незаконного употребления наркотиков. Современная наркоситуация в Российской Федерации характеризуется расширением масштабов незаконного оборота и немедицинского потребления наркотиков, а также их влиянием на распространение ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов, что представляет серьезную угрозу безопасности государства, экономике страны и здоровью ее населения [4]. Показано, что наркомания смещается на более ранние возрастные группы. В возрас-

Литвинова Ольга Сергеевна (Litvinova Olga Serqeyevna), заведующий отделением гигиены питания ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, доцент кафедры гигиены ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Москва, pitan@scgie.ru

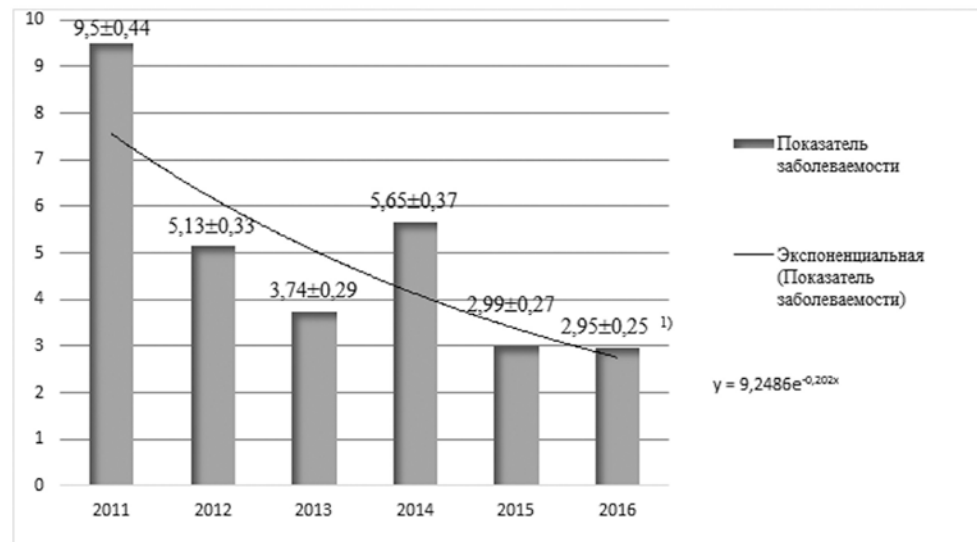
Калиновская Марина Витальевна (Kalinovskaya Marina Vitalievna), заведующий отделом социально-гигиенического мониторинга и оценки риска питания ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, доцент кафедры социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, mv_kalin@mail.ru

те 15-17 лет (время поисков себя, увлечений, проб и ошибок) наблюдается резкое увеличение потребления психоактивных веществ подростками [5]. В этой связи представляется интересным и актуальным с точки зрения принятия превентивных управленческих решений изучение последствий как от вредного употребления алкогольной продукции подростками, так и анализ заболеваемости наркоманией среди населения этой возрастной группы.

Материалы и методы исследования. Для оценки заболеваемости подростков синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) и синдромом зависимости от наркотических веществ (наркоманией) нами использованы данные федерального информационного фонда социально-гигиенического мониторинга, сформированного ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, за период 2011-2015 гг. Проводился анализ заболеваемости алкоголизмом и наркоманией среди подростков в целом по России, федеральным округам и субъектам Российской Федерации.

Результаты и обсуждение. Заболеваемость синдромом зависимости от алкоголя (хронический алкоголизм) подростков в возрасте от 15 до 17 лет в Российской Федерации в 2015 году составила 2,98‰ (2014 г. – 5,65‰, 2013 г. – 3,74‰, 2012 г. – 5,13‰, 2011 г. – 9,50‰). Показатели в динамике в целом по России также достаточно оптимистичны: по сравнению с 2011 годом в 2015 году заболеваемость синдромом зависимости от алкоголя среди подростков была ниже в 3,2 раза. Проведение статистического анализа позволило прогнозировать тенденцию к её снижению в этой возрастной группе и в 2016 году (рис. 1).

Однако обращает на себя внимание вариабельность данных по субъектам Российской Федерации. Так, в течение анализируемого периода в Белгородской, Магаданской, Мурманской областях, Республиках Ингушетия, Калмыкия, Тыва, Чеченской Республике, Чукотском автономном округе, г. Севастополь заболеваемость хроническим алкоголизмом у подростков не регистрировалась. При этом в 16-ти субъектах



Примечание: 1)-расчётные данные (прогноз)

Рис. 1. Динамика показателей заболеваемости синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) среди подростков в Российской Федерации, 2011-2015 гг.

Российской Федерации имело место достоверное превышение среднего по России показателя от 1,1 до 16,0 раз ($P < 0,0001$). Наиболее значительное его превышение установлено в Свердловской (18,652‰), Ивановской (21,482‰), Челябинской (21,832‰), Сахалинской (49,877‰) областях, Ненецком автономном округе (86,142‰).

Наиболее неблагополучными субъектами РФ по показателю заболеваемости синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) среди подростков 15-17 лет в Уральском федеральном округе можно считать Ямало-Ненецкий автономный округ, Курганскую, Свердловскую и Челябинскую области; в Дальневосточном – Сахалинскую область, Еврейскую автономную область, Приморский край; в Центральном – Ивановскую, Владимирскую, Московскую, Воронежскую, Тамбовскую и Липецкую и области; в Сибирском – Забайкальский и Красноярский края, Томскую, Новосибирскую, Кемеровскую области, Республику Хакасия; в Приволжском – Пермский край, Республику Башкортостан; в Северо-Кавказском – Карачаево-Черкесскую и Кабардино-Балкарскую Республики; в Северо-Западном – Калининградскую и Архангельскую области; в Южном – Волгоградскую область (рис.2).

Вызывает особую обеспокоенность положение дел в ряде субъектов РФ, показатели заболеваемости хроническим алкоголизмом среди подростков в которых возросли по сравнению с 2011 годом. Так, в Еврейской АО произошел рост заболеваемости хроническим алкоголизмом с 16,31 до 20,62‰; Новосибирской облас-



Рис. 2. Территории «риска» по показателю заболеваемости хроническом алкоголизмом подростков в 2011 – 2015 гг. (на 100 тыс. населения соответствующего возраста).

ти – с 6,39 до 8,96‰, в Забайкальском крае – с 7,08 до 10,88‰; ЯНАО – с 12,88 до 50,06‰; Курганской области – с 8,15 до 25,09‰; Владимирской области – с 7,40 до 8,83‰; Тамбовской области – с 2,83 до 3,69‰; Липецкой области – с 2,79 до 3,35‰.

Показатель заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ (наркоманией) подростков в возрасте от 15 до 17 лет в Российской Федерации возрастал из года в год на протяжении 5-летнего (2011-2015 гг.) периода, и в 2015 году составил 9,17‰ (2014 г. – 8,42‰, 2013 г. – 4,92‰, 2012 г. – 3,29‰, 2011 г. – 4,64‰).

Иными словами, в 2015 году имело место достоверное превышение показателя заболеваемости наркоманией среди подростков в 2 раза по сравнению с 2011 годом ($P < 0,0001$).

Статистический прогноз также неутешителен: прогнозируется тенденция к росту этого показателя и в 2016 году (рис. 3).

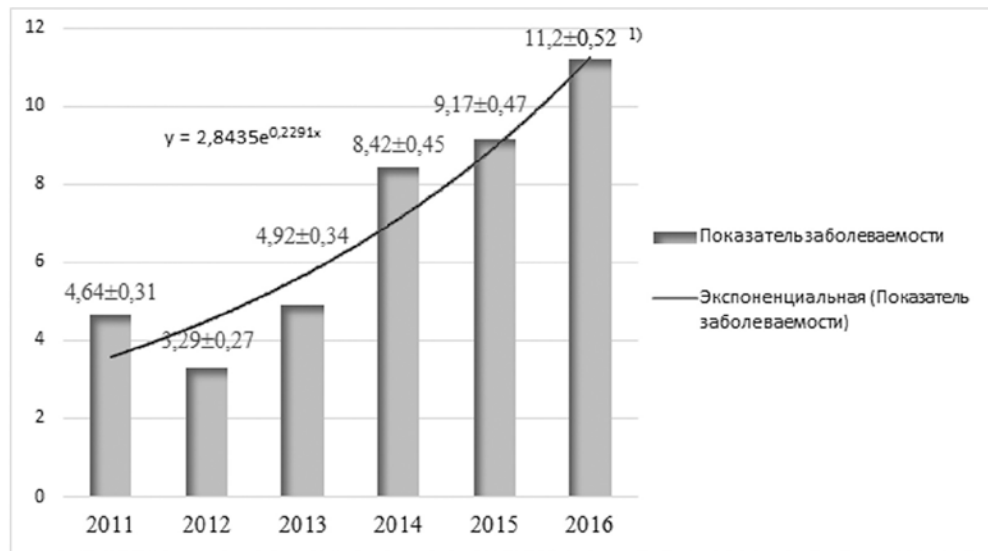
Анализ территориального распространения синдрома зависимости от наркотических ве-

ществ показал, что в течение всего анализируемого периода в 15-ти субъектах Российской Федерации заболеваемость наркоманией среди подростков не регистрировалась (Магаданская, Калининградская, Белгородская, Орловская, Тамбовская, Тверская, Астраханская области, Чукотский АО, Чувашская Республика, Республики Адыгея, Тыва, Ингушетия, Северная Осетия-Алания, Калмыкия, Чеченская Республика), а в 2015 году – в 35-ти субъектах Российской Федерации.

Вместе с тем к территориям «риска» по заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ среди подростков можно отнести 14 субъектов Российской Федерации (Красноярский край, Кемеровская, Новосибирская, Челябинская, Свердловская, Курганская, Архангельская, Новгородская, Ленинградская, Нижегородская, Рязанская, Московская, Волгоградская области, Республика Коми), на которых отмечался достоверный рост этого показателя от 1,1 до 5 и более раз ($P < 0,0001$) и достоверное

превышение среднего показателя по России в 2,0 и более раз ($P < 0,0001$) (рис.4).

Заболеваемость наркоманией среди подростков весьма ощутимо (в разы) возросла по сравнению с 2011 годом в Республике Татарстан (в 12 раз, с 1,5‰ до 17,8‰); Архангельской области (в 11 раз, с 2,6‰ до 29,1‰); Красноярском крае (в 9 раз, с 6,4‰ до 59,5‰); в Рязанской области (в 9 раз, с 2,9‰ до 25,3‰); Республике Башкортостан (в 5 раз, с 2,0‰ до 10,2‰); Воронеж-



Примечание: 1)-расчётные данные (прогноз)

Рис. 3. Динамика заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ (наркоманией) среди подростков на территории Российской Федерации, 2011-2015 гг.



Рис. 4. Территории «риска» по показателю заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ (наркоманией), 2011 – 2015 гг. (на 100 тыс. подростков соответствующего возраста).

ской области (в 2,8 раз, с 5,6‰ до 15,8‰); Челябинской области (в 2,8 раз, с 11,0‰ до 30,5‰); Республике Коми (в 2,8 раз, с 6,9‰ до 19,1‰); Свердловской области (в 2,5 раза, с 10,3‰ до 26,1‰); Курганской области (в 2,3 раза, с 10,9‰ до 25,1‰); Нижегородской области (в 2 раза, с 6,4‰ до 12,7‰).

Нами установлено также, что в ряде субъектов Российской Федерации среди подростков диагностируется хронический алкоголизм и наркомания одновременно. Более того, в ряде субъектов РФ в 2015 году по сравнению с 2011 годом такая «сочетанная» заболеваемость возросла весьма существенно. Так, в Курганской, Иркутской, Сахалинской областях, Приморском крае, Ненецком автономном округе, Республике Хакасия отмечался достоверный рост заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ в сочетании с хроническим алкоголизмом, у подростков анализируемой возрастной группы более чем в 2,0 раза ($r=0,267$ $P<0,0001$).

Предупреждение заболеваний, связанных с вредным употреблением алкоголя и незаконным употреблением наркотических веществ, особенно среди подростков – стратегически значимая работа, приоритетными направлениями которой, по нашему мнению, должны служить мероприятия по сокращению доступности алкогольной продукции и предложения наркотических средств.

В настоящее время органам государственной власти субъектов Российской Федерации законодательно дано право устанавливать дополнительные ограничения времени, условий и мест розничной продажи алкогольной продукции, в том числе полный запрет на её розничную продажу [7].

В 2014 году государствами – членами Организации Договора о коллективной безопасности (ОДКБ) и Афганистаном в сотрудничестве с Федеральной службой по контролю над наркотиками Российской Федерации были проведены крупномасштабные операции по борьбе с наркотиками, в результате которых было изъято 16,5 тонны наркотических средств [7].

Примером положительной реализации профилактических мер могут служить результаты, полученные в Калининградской области [8], где в структуру поликлиник введен кабинет врача психиатра-нарколога участкового по обслуживанию детского и подросткового населения, что позволило адекватно организовать работу с несовершеннолетними, имеющими опыт употребления ПАВ и алкоголя. В отделе социально-психологической работы ГБУЗ «Наркологический диспансер Калининградской области» организован «Кабинет раннего выявления

потребителей наркотических, психотропных веществ, алкоголя и вторичной профилактики среди несовершеннолетних» с целью оказания амбулаторной помощи несовершеннолетним, употребляющим ПАВ, и их семьям, что отражает современный биопсихосоциодуховный подход к лечению алкоголизма и наркомании. Наряду с решением медицинских проблем пациента решаются психологические и социальные проблемы что, несомненно, повышает эффективность оказываемой медицинской помощи, а также способствует повышению качества жизни пациентов.

В результате проводимой профилактической работы, как показало проведенное анкетирование, среди причин, которые удерживают молодежь области от употребления наркотиков, продолжает расти значимость осознанного отношения к употреблению наркотиков (64%), страх ранней смерти пугает 31,2% респондентов, каждый четвертый боится заболеть ВИЧ инфекцией, полное привыкание назвали 23,6% респондентов [8].

В Российской Федерации создано более 700 центров здоровья, призванных мотивировать граждан к личной ответственности за свое здоровье и здоровье своих детей, динамичное наблюдение за пациентами группы риска развития неинфекционных заболеваний, а также, что особенно важно, проводить мониторинг результатов проводимой работы [9].

Только в комплексе превентивные меры, направленные на снижение потребления алкоголя и наркотических веществ подростками, в том числе вследствие принимаемых правоохранительными органами мер, мероприятий, проводимых в образовательных учреждениях, пропаганда здорового образа жизни и создание условий для его реализации, способны привести к ожидаемым положительным результатам.

Выводы.

1. В 2015 году по сравнению с 2011 годом в целом по РФ заболеваемость синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) среди подростков 15-17 лет в Российской Федерации снизилась в 3,2 раза.

2. В 8-ми субъектах РФ показатели заболеваемости синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) среди подростков в 2015 году возросли по сравнению с 2011 годом.

3. Наиболее неблагополучными по показателю заболеваемости синдромом зависимости от алкоголя (хроническим алкоголизмом) среди подростков 15-17 лет в 2015 г. были 26 субъектов Российской Федерации.

4. В целом по РФ показателя заболеваемости синдромом зависимости от наркотических веществ (наркоманией) среди подростков 15-17 лет

в 2015 году в 2 раза превысили аналогичные показатели 2011-го года, от 2 до 12 раз – по субъектам Российской Федерации.

5. Проблема заболеваемости алкоголизмом и наркоманией среди подростков требует про-

ведения совместных усилий медицинского сообщества, правоохранительных органов, органов местного самоуправления по принятию мер к сокращению доступности алкогольной продукции и предложения наркотических средств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклад о состоянии здравоохранения в Европе. 20[Электронный ресурс] http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/234911/The-European-health-report-2012.-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1].
2. Global status report on alcohol and health – 20[Электронный ресурс] http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/.
3. О.С. Литвинова, М.В. Калиновская Токсикологический мониторинг причин острых отравлений химической этиологии в Российской Федерации// Токсикологический вестник №1 (142), 2017.С. 5-9.
4. Стратегия государственной антинаркотической политики Российской Федерации до 2020 года (утв. Указом Президента РФ от 9 июня 2010 г. № 690) с изменениями и дополнениями от 1 июля 2014 г., 7 декабря 2016 г.
5. Абрамов С. Ю. Совершенствование механизма регулирования оборота наркотических средств и психотропных веществ в Российской Федерации // автореферат дисс. д.м.н., 2015. Федеральный закон от 22.11.1995 № 171-ФЗ (ред. от 03.07.2016) «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции» [Электронный ресурс]. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_8368/c04d402cea98806b633367d6448788ace7f6c20e/
6. Доклад международного комитета по контролю над наркотиками за 2015 год [Электронный ресурс]. http://www.incb.org/documents/Publications/AnnualReports/AR2015/Russian/AR_2015_R.pdf
7. Доклад Антинаркотической Комиссии Калининградской области [Электронный ресурс]. Режим доступа https://gov39.ru/vlast/ank/zip/doklad_2015.pdf.
8. Приказ Минздравоохранения от 19 августа 2009 г. № 597н «Об организации деятельности центров здоровья по формированию здорового образа жизни у граждан Российской Федерации, включая сокращение потребления алкоголя и табака» [Электронный ресурс]. <http://base.garant.ru/12169847/>.

REFERENCES:

1. Report on health in Europe. 20[Electronic resource] http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/234911/The-European-health-report-2012.-Charting-the-way-to-well-being-Rus.pdf?ua=1].
2. Global status report on alcohol and health – 20[Electronic resource] http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/.
3. O. S. Litvinov, M. V. Kalinovskaya Toxicological monitoring of the causes of acute intoxications of chemical etiology in the Russian Federation//Toxicological Review No. 1 (142), 2017. With. 5-9 (in Russian)
4. Strategy of state antidrug policy of Russian Federation until 2020 (approved. By the decree of the President of the Russian Federation from June 9, 2010 № 690) with changes and additions from 1 July 2014 to 7 December 2016 (in Russian)
5. Abramov, S. Y. improvement of the mechanism of regulation of traffic in narcotic drugs and psychotropic substances in the Russian Federation //abstract of Diss. M. D., 20Federal law of 22.11.1995 № 171-FZ (ed. from 03.07.2016) "On state regulation of production and turnover of ethyl alcohol, alcoholic and alcohol-containing products and about restriction of consumption (drinking) of alcoholic production" [Electronic resource]. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_8368/c04d402cea98806b633367d6448788ace7f6c20e/ (in Russian)
6. Report of the international Committee for drug control in 2015 [Electronic resource]. http://www.incb.org/documents/Publications/AnnualReports/AR2015/Russian/AR_2015_R.pdf (in Russian)
7. Report of the anti-drug Commission of the Kaliningrad region [Electronic resource]. Access mode https://gov39.ru/vlast/ank/zip/doklad_2015.pdf. (in Russian)
8. The order of the health Ministry on 19 August 2009 No. 597n "On organization of activities of health centers to promote healthy lifestyle among citizens of the Russian Federation, including reduction of alcohol consumption and tobacco use" [Electronic resource]. <http://base.garant.ru/12169847/>(in Russian)

O.S. Litvinova^{1,2}, M.V. Kalinovskaya^{1,3}

ANALYSIS OF ADOLESCENTS MORBIDITY ATTRIBUTABLE TO CHRONIC ALCOHOLISM AND DRUG ADDICTION IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2011-2015 (BASED ON DATA FROM SOCIO-HYGIENIC MONITORING)

¹ Federal Hygienic and Epidemiological Center, Federal Service on Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 117105, Moscow, Russian Federation

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

³ I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russian Federation

The article presents results of assessing data on morbidity attributable to chronic alcoholism and drug addiction among teenagers over Russia, in federal districts and subjects of the Russian Federation over 2011-2015. The data are reported by the Federal Information Fund of Socio-Hygienic Monitoring, set up by the Federal Hygienic and Epidemiological Center of Rospotrebnadzor In the Russian Federation in 2015 the incidence of the of alcohol dependence syndrome (alcoholism) in adolescents aged of 15 to 17 years was 2.98 per 100 thousand ; this value for adolescents of the same age was 5.6 g.b. 5.65 in 2014, 3.74 in 2013 , 5.13 in 2012, 9.50 in 2011). As compared with 2011, in 2015 the incidence of alcohol dependence among adolescents significantly decreased by 3.2-fold ((P <0.0001). At the same time in the Russian Federation in 2015 the addiction syndrome among adolescent drug users aged of 15-17 was 9.17 per 100,000 adolescents and during the analyzed period an authentic 2-fold increase of that indicator was observed. (P <0.0001).

Keywords: *alcoholism, drug addiction, adolescents, subjects of the Russian Federation.*

Материал поступил в редакцию 03.10.2017 г.

УДК 547.262 : 615.91 : 616.36-004

ВЛИЯНИЕ ИНОЗИНА ГЛИЦИЛ-ЦИСТЕИНИЛ- ГЛУТАМАТ ДИНАТРИЯ НА КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ И ИСХОД ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛКОГОЛЬ-ИНДУЦИРОВАННОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

А.Е. Антушевич¹,
А.Н. Гребенюк^{1,2}, Д.А. Халютин¹,
А.А. Ярцева¹

¹Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044,

г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное бюджетное учреждение науки «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

В экспериментах на белых беспородных крысах проведена оценка эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в качестве средства терапии токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени. Экспериментальное моделирование цирроза печени осуществляли путем введения крысам в течение трех недель двух гепатотоксикантов – 40% раствора этанола в дозе 3 г/кг, внутривенно, через день, и 1% раствора диметилнитрозамина в дозе 5 мг/кг, внутривенно, первые 4 суток каждой недели. Инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия вводили подкожно в дозе 30 мг/кг в течение трех недель ежедневно; применение препарата начинали после окончания введения гепатотоксикантов и клинико-морфологического подтверждения токсического цирроза печени. Оценку эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в качестве средства терапии алкоголь-индуцированного цирроза печени проводили морфологическими, гистологическими и биохимическими методами. Установлено, что комбинированное действие этанола и диметилнитрозамина приводило к развитию токсического цирроза печени, который проявлялся повышением массы тела крыс, характерными морфологическими и гистологическими изменениями тканей печени, повышением активности аланин- и аспартатаминотрансферазы, гамма-глутамил-транспептидазы, щелочной фосфатазы и уровня общего билирубина, а также увеличением концентрации в плазме крови интерлейкина-1 β , интерферона- γ и фактора некроза опухолей- α . Курсовое введение инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия способствовало уменьшению объема соединительной ткани в печени животных, снижению активности печеночных ферментов, уменьшению уровня общего билирубина и концентрации провоспалительных цитокинов в плазме крови. Полученные данные свидетельствуют об эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия как средства лечения алкоголь-индуцированного цирроза печени.

Ключевые слова: этанол, диметилнитрозамин, отравление, цирроз печени, лечение, инозин, окисленный глутатион.

Введение. Одним из главных направлений деятельности современной токсикологии как науки является разработка новых методов профилактики, диагностики и терапии наиболее часто встречающихся отравлений и заболеваний химической

этиологии. Для нашей страны, как, впрочем, и для всего западного мира, в качестве ведущей этиологической причины химически обусловленной заболеваемости и смертности работоспособного населения выступает алкоголь и его суррогаты [1, 2].

Антушевич Александр Евгеньевич (Antushevich Aleksandr Evgenyevich), доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, a.antushevich@mail.ru

Гребенюк Александр Николаевич (Grebenuk Aleksandr Nikolaevich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры военно-медицинского снабжения и фармации Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, заведующий лабораторией токсикологии Северо-Западного научного центра гигиены и общественного здоровья Роспотребнадзора, 194044, 191036, г. Санкт-Петербург, grebenuk_an@mail.ru

Халютин Денис Александрович (Halutin Denis Aleksandrovich), кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, hal-denis81@yandex.ru

Ярцева Анна Александровна (Yarceva Anna Aleksandrovna), доктор медицинских наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, antu-anna@yandex.ru

По данным Всемирной организации здравоохранения, в связи с употреблением алкогольной продукции в мире ежегодно умирает около 2,3 млн. человек, что соответствует 3,8% общей смертности от всех причин [3]. По состоянию на 2012 г., для стран Европы количество смертей по этой причине оценивается в среднем в 41,6 случаев на каждые 100 тыс. жителей при общем уровне потребления 9,3 л чистого алкоголя на душу населения [4, 5]. По оценкам экспертов, уже в этом тысячелетии в Российской Федерации только из-за острых отравлений алкоголем и его суррогатами ежегодно погибало от 30 до 40 тыс. человек; причем эти цифры практически не меняются на протяжении последнего десятилетия, несмотря на предпринимаемые государством и обществом меры по уменьшению объемов потребления алкоголя [6–9].

Однако острые отравления не являются единственной причиной заболеваемости и смертности, обусловленной употреблением этанол-содержащей продукции [9, 10]. Не менее значимым фактором является хроническая интоксикация алкоголем, приводящая к развитию значительного числа соматических заболеваний, нарушений психической сферы человека и, в конечном итоге, к сокращению продолжительности жизни [11–13]. Одним из наиболее тяжелых проявлений хронической интоксикации алкоголем является токсический цирроз печени – хроническое прогрессирующее заболевание печени, характеризующееся нарушением ее дольковой структуры за счет разрастания соединительной ткани и патологической регенерации паренхимы, проявляющееся функциональной недостаточностью печени и портальной гипертензией [14, 15]. За период с 2002 по 2013 гг. в России ежегодная смертность от алкогольной болезни, включая алкогольный цирроз печени, составила 16,3%, что в 3,5 раза выше, чем в США и других экономически развитых странах; при этом частота цирроза печени алкогольной этиологии была почти в два раза выше, чем цирроза другой этиологии [16, 17].

В лечении больных циррозом печени большая роль отводится базисной терапии, направленной на лечение заболеваний, которые привели к развитию цирроза, купированию основных синдромов и симптомов болезни, а также предупреждению осложнений [18, 19]. Необходимым компонентом лечения цирроза является полное исключение приема алкоголя, гепатотоксических лекарств, а также полноценная и сбалансированная диета [20]. Однако существующие средства и схемы терапии этого заболевания не всегда оказываются эффективными, что диктует необходимость разработки новых подходов к лечению токсического цирроза печени.

В проведенных нами исследованиях ранее было показано, что для коррекции негативных эффектов острого отравления этанолом, наряду с суще-

ствующими антидотами и средствами патогенетической терапии, могут эффективно применяться пептиды, в частности комплексные препараты на основе восстановленного или окисленного глутатиона [21–24]. Однако сведений об эффективности пептидных препаратов окисленного глутатиона как средств терапии хронической интоксикации этанолом с формированием алкогольного цирроза печени в настоящее время нет, что и послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: оценка эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в качестве средства терапии алкоголь-индуцированного цирроза печени.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в стандартных условиях вивария, по 5 особей в одной клетке при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при свободном доступе к воде и пище (за сутки до эксперимента животных не кормили, доступ к воде не ограничивался). Больных и ослабленных животных в эксперимент не брали, распределение животных по экспериментальным группам осуществляли методом рандомизации. При содержании животных и проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [25].

Экспериментальное моделирование алкоголь-индуцированного цирроза печени у крыс осуществляли путем введения в течение 3-х недель двух гепатотоксикантов – 40% раствора этилового спирта в дозе 3 г/кг, внутривентрикулярно, через день, и 1% раствора диметилнитрозамина (ДМНА) в дозе 5 мг/кг, внутривентрикулярно, в течение первых 4-х суток каждой недели с последующим перерывом на три дня [26].

В качестве средства лечения алкоголь-индуцированного цирроза печени использовали инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия производства ЗАО «Фарма ВАМ» (г. Санкт-Петербург) – препарат, выпускающийся под коммерческим названием «Моликсан» (регистрационное удостоверение № 001355/02 от 14.07.2011). Моликсан является пептидным препаратом и представляет собой органическую соль, включающую окисленный глутатион (пептидный компонент) и инозин (пуриновый компонент) в соотношении 1:1. В исследовании использовали лекарственную форму для инъекций (30 мг/мл раствора); препарат вводили подкожно в дозе 30 мг/кг в течение 3-х недель ежедневно. Курсовое применение инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия начинали через 21 сут

после начала введения этанола и ДМНА (после клинко-морфологического подтверждения цирроза печени). Группам сравнения в те же сроки и по той же схеме вводили физиологический раствор.

На первом этапе исследования для оценки эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в качестве средства лечения алкоголь-индуцированного цирроза печени были сформированы три группы по 20 крыс в каждой:

- 1-я (этанол + ДМНА) – внутрижелудочно вводили 40% этанол в дозе 3 г/кг в течение 3-х недель через 1 сут и внутрибрюшинно 1% раствор ДМНА в дозе 5 мг/кг течение 4-х последовательных суток каждой недели, затем следовал 3-дневный перерыв, после чего инъекции возобновлялись и продолжались по аналогичной схеме в течение 3-х недель;

- 2-я (этанол + ДМНА + моликсан) – комбинированное введение этанола в дозе 3 г/кг и ДМНА в дозе 5 мг/кг по схеме, описанной выше, и лечение инозином глицил-цистеинил-глутамат динатрия в дозе 30 мг/кг подкожно ежедневно в течение последующих 3-х недель после окончания моделирования токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени;

- 3-я (биологический контроль) – животным этой группы в те же сроки и в том же объеме, что и предыдущим, вводили физиологический раствор.

Для подтверждения факта развития токсического цирроза печени через 3 и 6 недель после начала эксперимента проводили этназию животных (по 5 особей из каждой группы) и осуществляли забор образцов печени с последующим макроскопическим и гистологическим исследованием по стандартным методикам с использованием исследовательских микроскопов «Polyvar» и «Leica DMRE», цифрового комплекса видеонаблюдения и программы анализа изображений «ВидеоТест-Размер 4.0» (ООО «Научно-производственная компания «ЗЕНИТ»). В качестве критериев формирования токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени и антицирротической эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия были использованы: тест оценки относительного содержания соединительной ткани в паренхиме печени, весовой индекс печени и наличие асцита (в % от общего количества животных); тест определения величины (объема) соединительной ткани в пределах 5–7 печеночных долек на 6-ти срезах печени, окрашенных по ван Гизону; морфометрические и гистологические исследования [27].

Кроме того, после окончания курса экспериментальной терапии алкоголь-индуцированного цирроза печени с помощью набора реактивов «Ольвекс» (Россия) на анализаторе «Roche Omni C» у животных регистрировали биохимические показатели плазмы крови, характеризующие основные функции печени: общий белок, креати-

нин, мочевины, глюкозу, общий билирубин, калий, натрий, хлор, кальций, аланинаминотрансферазу (АлАТ) и аспартатаминотрансферазу (АсАТ), гамма-глутамилтранспептидазу (ГГТП) и индикатор холестаза – щелочную фосфатазу (ЩФ).

На следующем этапе оценивали антицирротическую активность инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия по индукции интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерферона- γ (IFN- γ) и фактора некроза опухолей- α (TNF- α) в периферической крови. Животные были разделены на две группы по 20 крыс в каждой:

- 1-я (контроль): введение физиологического раствора в течение 3-х недель после моделирования экспериментального цирроза печени как описано выше;

- 2-я (опыт): введение инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия по описанной ранее схеме в течение 3-х недель после моделирования цирроза печени.

Содержание IL-1 β , IFN- γ и TNF- α в крови лабораторных животных оценивали до моделирования токсического цирроза печени (исходный уровень) и после окончания курса терапии (через 6 недель после начала эксперимента). Концентрацию цитокинов определяли с помощью наборов для иммуноферментного анализа ELISA фирмы «Endogen» (США) и рассчитывали по калибровочным кривым в пкг/мл.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке в программе «Statistica 5.0» с расчетом среднего значения (M) и ошибки среднего (m_x). Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m_x$. Оценку статистической значимости различий средних значений проводили с использованием t -критерия Стьюдента для несвязанных и связанных выборок. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных в экспериментах данных.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что при комбинированном 3-недельном введении этанола в дозе 3 г/кг и ДМНА в дозе 5 мг/кг по схеме, описанной выше, у белых беспородных крыс формировался алкоголь-индуцированный цирроз печени, подтвержденный клинико-лабораторными и гистоморфологическими показателями (табл. 1–3).

В таблице 1 представлена динамика массы тела крыс в ходе исследований по фармакологической коррекции инозином глицил-цистеинил-глутамат динатрия токсического цирроза печени, вызванного комбинированным воздействием этанола и ДМНА в субтоксических дозах.

Гибели экспериментальных животных ни в одной из групп наблюдения не выявлено. Обращает на себя внимание увеличение массы тела животных, получавших комбинацию гепатоток-

сикантов – этанола и ДМНА, а также позитивный эффект инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия, выявленный на 2-ой неделе наблюдения (табл. 1).

Данные, полученные через 6 недель после начала моделирования алкоголь-индуцированного цирроза печени и представленные в таблице 2, подтверждают положительное влияние инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия на морфологические показатели печени крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации и воздействия ДМНА.

При вскрытии у животных, получавших этанол и ДМНА, отмечали наличие развитого асцита с большим (до 6–8 мл) количеством серозной жидкости в брюшной полости (табл. 2). Крайне неравномерная окраска печени коричневой цветовой гаммы сопровождалась сглаженностью краев органа, рыхлостью и бугристостью поверхности, наличием белесоватого налета и множественными спайками между долями печени. Селезенка у животных этой группы была значительно увеличена в размерах, также отмечалось увеличение и гиперемия региональных лимфатических узлов.

При гистологическом исследовании на фоне развития соединительной ткани по системе печеночных и портальных вен, вокруг них и в синусоидах визуализировались множественные новообразованные кровоизлияния. В синусоидах отмечалось полнокровие, переходящее в кровоизлияния паренхимы органа в стороне от магистральных сосудов. Кровоизлияния в портальной системе сопровождалась пролиферацией холангиоцитов и гиперплазией системы желчных протоков, распространяющихся во все стороны от портальных трактов, вызывая разрастание соединительной ткани и замуровывание прилежащих гепатоцитов.

Из таблицы 2 следует, что инозин глицил-цистеинил-глутамат динатрия при курсовом введении на фоне токсического цирроза печени, индуци-

рованного ДМНА в комбинации с хроническим отравлением этанолом, обеспечивал регрессию (практически двукратную) образования соединительной ткани в печени животных, подвергнутых длительному воздействию гепатотоксикантов. При гистологическом исследовании было выявлено, что после курсового введения препарата значительно снижалась выраженность морфологических проявлений цирроза паренхимы печени, уменьшалось число гепатоцитов с дистрофическими изменениями. Структура подавляющего большинства гепатоцитов была не изменена, наблюдались признаки активации процессов регенерации с увеличением числа двуядерных клеток.

В таблице 3 представлены результаты оценки биохимических показателей в плазме крови животных после окончания курса проведенной с помощью инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия экспериментальной терапии токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени.

Из таблицы 3 видно, что в процессе хронической интоксикации этанолом и ДМНА у животных появляются биохимические признаки холестатического и цитолитического синдромов, а также начальные признаки почечной недостаточности. В сыворотке крови выявлено повышение активности основных ферментов индикаторов цитолитического синдрома – АлАТ (в 2,8 раза) и АсАТ (в 2,3 раза), а также индикатора холестаза – ЩФ (в 2,5 раза). Кроме того, содержание общего билирубина в крови животных, отравленных этанолом и ДМНА, возросло по сравнению с биологическим контролем более чем в два раза (табл. 3).

На фоне курсового применения инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (с 4 по 6 неделю эксперимента, после формирования токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени) все вышеперечисленные показатели практически нормализовались или имели выраженную тенденцию к нормализации (табл. 3). Динамика биохимиче-

Таблица 1

Влияние инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (моликсана) на массу тела белых беспородных крыс с токсическим циррозом печени, вызванным комбинированным воздействием этанола и диметилнитрозамина, г

Группа	Период эксперимента, нед					
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я
Биологический контроль	148,3 ± 5,1	158,3 ± 7,9	155,0 ± 8,2	155,0 ± 6,4	162,5 ± 8,7	163,6 ± 7,5
Этанол + ДМНА + физ. раствор	162,5 ± 7,4	178,0 ± 7,3	183,0 ± 8,8 *	180,0 ± 8,1 *	192,0 ± 9,1 *	194,0 ± 8,1 *
Этанол + ДМНА + моликсан	150,0 ± 6,6	152,5 ± 5,1#	170,0 ± 6,7	175,0 ± 8,9	180,0 ± 9,7	176,0 ± 6,2

Примечания: * – различия по сравнению с группой «Биологический контроль», $p \leq 0,05$;

– различия по сравнению с группой «Этанол + ДМНА + физ. раствор», $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (моликсана) на морфологические показатели белых беспородных крыс с токсическим циррозом печени, вызванным комбинированным воздействием этанола и диметилнитрозамина

Группа	Весовой индекс печени, ед.	Наличие асцита, %	Характер окраски печени	Относительная площадь соединительной ткани в печени, %
Биологический контроль	4,17 ± 0,17	0	Равномерная	1,7 ± 0,2
Этанол + ДМНА + физ. раствор	3,30 ± 0,12 *	50	Неравномерная	9,3 ± 0,9 *
Этанол + ДМНА + моликсан	4,0 ± 0,08	0	Неравномерная	4,2 ± 1,2 * #

Примечания: * – различия по сравнению с группой «Биологический контроль», $p \leq 0,05$;
– различия по сравнению с группой «Этанол + ДМНА + физ. раствор», $p \leq 0,05$.

Таблица 3

Влияние инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (моликсана) на биохимические показатели плазмы крови белых беспородных крыс с токсическим циррозом печени, вызванным комбинированным воздействием этанола и диметилнитрозамина

Показатель	Группа		
	Биологический контроль	Этанол + ДМНА + физ. раствор	Этанол + ДМНА + моликсан
Общий белок, г/л	62,0 ± 1,0	57,0 ± 1,5 *	61,0 ± 1,3 #
Альбумин, г/л	32,9 ± 0,9	24,9 ± 1,2 *	30,5 ± 1,0
Глобулин, г/л	29,1 ± 0,8	30,2 ± 0,3	30,5 ± 0,6
Общий билирубин, мкмоль/л	1,9 ± 0,1	4,8 ± 0,9 *	2,1 ± 0,6 #
Мочевина, ммоль/л	4,8 ± 0,3	13,2 ± 0,3 *	6,5 ± 0,8 * #
Креатинин, мкмоль/л	43,2 ± 0,6	52,1 ± 1,2 *	45,8 ± 0,5 #
Аспаратаминотрансфераза, ед.	220,8 ± 4,7	562,0 ± 15,7 *	239,0 ± 19,4 #
Аланинаминотрансфераза, ед.	113,0 ± 15,0	419,4 ± 20,5 *	147,2 ± 19,3 #
Гамма-глутамилтранспептидаза, ед.	2,3 ± 0,3	6,8 ± 0,3 *	3,5 ± 0,2 * #
Щелочная фосфатаза, ед.	245,1 ± 15,5	541,0 ± 47,9 *	214,9 ± 36,7 #
K, ммоль/л	6,4 ± 0,2	5,7 ± 0,5	5,8 ± 0,2
Na, ммоль/л	138,3 ± 0,8	137,7 ± 0,5	139,7 ± 0,3
Ca, ммоль/л	2,4 ± 0,02	2,4 ± 0,03	2,3 ± 0,03
Cl, ммоль/л	105,2 ± 0,7	102,1 ± 0,3	102,3 ± 0,7

Примечания: * – различия по сравнению с группой «Биологический контроль», $p \leq 0,05$;
– различия по сравнению с группой «Этанол + ДМНА + физ. раствор», $p \leq 0,05$.

ских показателей леченых моликсаном животных совпадала с данными морфометрии объемного содержания соединительной ткани в печени, что свидетельствует о гепатопротективном эффекте этого препарата.

В ходе дальнейших исследований было проведено изучение возможных механизмов антицирротической активности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия, связанных с регулирующим влиянием на этот процесс цитокинов (табл. 4).

Как видно из таблицы 4, комбинированное воздействие на животных гепатотоксикантов сопровождалось значительным увеличением в крови содержания провоспалительных цитокинов. Так, через 6 недель после начала моделирования токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени в плазме крови крыс, получавших этанол, ДМНА и физиологический раствор, концентрация IL-1 β по сравнению с исходным уровнем увеличилась в 2,9 раза, а концентрация TNF- α – в 3,2 раза. Применение инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в качестве средства лечения экспериментального цирроза печени способствовало нормализации концентрации изучаемых провоспалительных цитокинов.

Таким образом, проведенное исследование позволило доказать антицирротическую эффективность инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия, а также разработать новый способ фармакологической коррекции токсического цирроза печени, развивающегося в условиях комбинированного воздействия этанола и ДМНА. Доказательством лечебной эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия является снижение выраженности морфологических изменений печени, уменьшение значений таких биохимических показателей гепатотоксичности, как активность АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЩФ и концентрация общего билирубина, а также снижение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α .

Согласно современным представлениям, в патогенезе алкогольного поражения печени основную роль играют связанные с метаболизмом этанола оксидативный стресс, истощение пула глутатиона, повышенная продукция эндотоксинов и провоспалительных цитокинов, нарушения специфических внутриклеточных сигнальных путей и транскрип-

ционных факторов в тканях печени [28–30]. В гепатоцитах оксидативный стресс непосредственно повреждает митохондрии, вследствие чего происходит сенсбилизация клеток к эффектам провоспалительных цитокинов и последующая их гибель. С другой стороны, реактивные метаболиты кислорода повышают чувствительность клеток Купфера к эндотоксинам липополисахаридной природы, что приводит к активации этих клеток и повышенной продукции ими TNF- α – главного медиатора алкоголь-индуцированной гибели гепатоцитов. Развивается порочный круг, ключевыми звеньями которого является алкоголь-индуцированный оксидативный стресс и связанная с ним гиперпродукция провоспалительных цитокинов. Таким образом, применение лекарственных средств, способствующих снижению выраженности оксидативного стресса в клетках и тканях этого органа, представляется патогенетически обоснованной стратегией лечения алкоголь-индуцированного цирроза печени [19, 28, 29].

Согласно регистрационного удостоверения, моликсан (инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия) – это комплексный препарат инозина и окисленного глутатиона, регулирующий тиол-дисульфидный обмен гепатоцитов и продукцию макрофагами печени цитокинов, ингибирующий цитолиз функционально активных гепатоцитов и индуцирующий апоптоз измененных вследствие различных воздействий (в т.ч. вирусных, токсических и др.) клеток печени. В ходе проведенных нами исследований показано, что механизмы действия этого препарата могут быть дополнены его способностью снижать выраженность воспалительной реакции за стимуляции синтеза интерферонов (в частности, IFN- γ) и уменьшения продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α),

Таблица 4

Влияние инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия (моликсана) на содержание цитокинов в плазме крови белых беспородных крыс с токсическим циррозом печени, вызванным комбинированным воздействием этанола и диметилнитрозамина, пг/мл

Сроки исследования	Группы	Концентрация цитокинов, пг/мл		
		IL-1 β	IFN- γ	TNF- α
До моделирования экспериментального цирроза печени (исходный уровень)	Этанол + ДМНА + физ. раствор	29,5 \pm 6,6	14,8 \pm 2,9	20,9 \pm 3,7
	Этанол + ДМНА + моликсан	35,4 \pm 7,4	12,2 \pm 2,5	19,3 \pm 3,2
После моделирования экспериментального цирроза печени и окончания курса терапии	Этанол + ДМНА + физ. раствор	86,9 \pm 12,1*	43,7 \pm 9,3 *	64,5 \pm 7,4 *
	Этанол + ДМНА + моликсан	32,1 \pm 4,3 #	23,1 \pm 3,7*#	21,2 \pm 4,1 #

Примечания: * – различия по сравнению с соответствующими показателями, оцененными до моделирования экспериментального цирроза печени (исходный уровень), $p \leq 0,05$;

– различия по сравнению с группой «Этанол + ДМНА + физ. раствор» после моделирования экспериментального цирроза печени и окончания курса терапии, $p \leq 0,05$.

а также уменьшать оксидативный стресс путем индукции антиокислительных ферментов первой и второй фаз детоксикации и активации печеночных макрофагов. Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия не только уменьшает оксидативный стресс и подавляет воспалительную реакцию, которую вызывает этанол и ДМНА, но и снижает выраженность функциональных нарушений гепатоцитов, что проявляется нормализацией основных биохимических показателей деятельности печени – общего билирубина, активности АлАТ, АсАТ, ГГТП и ЩФ. Выявленный при проведении морфологических и гистохимических исследований эффект снижения уровня циррозирования печени можно объяснить способностью инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия ингибировать экспрессию трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), реализуемую, в том числе, за счет уменьшения выхода провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α [23, 29].

Заключение. Резюмируя результаты проведенных исследований, следует подчеркнуть, что длительное воздействие этанола и ДМНА приводило к развитию цирроза печени, который проявлялся повышением массы тела крыс, морфологическими и гистологическими изменениями тканей

печени, функциональными нарушениями гепатоцитов в виде повышения активности основных печеночных ферментов и уровня общего билирубина, а также увеличением концентрации в крови провоспалительных цитокинов. Инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия при курсовом применении на фоне сформированного токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени предупреждал формирование и прогрессирование печеночно-клеточной недостаточности и электролитных нарушений, способствовал регрессу соединительной ткани в паренхиме печени, нормализации функционально-морфологического состояния гепатоцитов у получавших этанол и ДМНА животных. В частности, применение препарата способствовало уменьшению количества (объема) соединительной ткани в печени животных, снижению выраженности основных биохимических показателей воспаления (АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЩФ, общего билирубина), а также уменьшению концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α в плазме крови. Полученные в ходе проведенного исследования данные свидетельствуют об эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия при его курсовом применении в качестве средства лечения токсического алкоголь-индуцированного цирроза печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Leon D.A., Shkolnikov V.M., McKee M. Alcohol and Russian mortality: a continuing crisis. *Addiction*. 2009; 104 (10): 1630-
- Иноземцев Е.С. Панельный анализ влияния потребления алкоголя на смертность в РФ. *Казанская наука*. 2010; 7: 52-8.
- Global Health Risks. Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. World Health Organization. Geneva, 2009.
- Status Report on Alcohol and Health in 35 European Countries. World Health Organization, Regional office for Europe. Geneva, 20
- Global Status Report on Alcohol and Health. World Health Organization. Geneva, 2014.
- Крюков В.Н., Харченко В.И., Найденова Н.Г., Буромский И.В., Корякин М.В., Вишин М.М., Ундрицов В.М. Острая интоксикация этиловым спиртом, а не его суррогатами – основная причина смертельных отравлений алкоголем в России. *Наркология*. 2005; 10: 50-9.
- Остапенко Ю.Н., Литвинов Н.Н., Рожков П.Г., Гасимова З.М., Батурова И.В. Современное состояние эпидемиологии острых химических отравлений и токсикологической помощи населению. *Токсикологический вестник*. 2010; 3: 36-9.
- Остапенко Ю.Н. Острые отравления в России: тенденции последних лет. *Эфферентная терапия*. 2015; 21 (5): 48.
- Neufeld M., Rehm J. Alcohol consumption and mortality in Russia since 2000: are there any changes following the alcohol policy changes starting in 2006? *Alcohol Alcohol*. 2013; 48 (2): 222-30.
- Немцов А.В., Терехин А.Т. Размеры и диагностический состав алкогольной смертности в России. *Наркология*. 2007; 12: 29-
- Хазанов А.И., Плюснин С.В., Белякин С.А., Васильев А.П., Бобров А.Н., Павлов А.И., Пехташев С.Г. Хроническая интоксикация алкоголем и заболевания печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2009; 19 (1): 43-
- Бойцов С.А., Самородская И.В., Семенов В.Ю. Влияние медицинских и немедицинских факторов на смертность населения: роль алкоголя. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2016; 26 (2): 97-1
- Jayasekara N., English D.R., Room R., MacInnis R.J. Alcohol consumption over time and risk of death: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* 2014; 179 (9): 1049-59.
- Белякин С.А., Бобров А.Н., Плюснин С.В., Хазанов А.И., Фисун А.Я., Акимкин В.Г. Алкоголь – ведущий этиологический фактор циррозов печени с неблагоприятным исходом. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2009; 2: 29-
- Моисеев В.С. Алкогольная болезнь. Поражение внутренних органов. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014.
- Белякин С.А., Бобров А.Н., Плюснин С.В. Уровень потребления алкоголя населением и смертность, обусловленная циррозами печени. Как они связаны? *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. 2009; 5: 3-
- Бобров А.Н., Белякин С.А., Плюснин С.В. Этиологическая структура циррозов печени по результатам пятнадцатилетнего наблюдения. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2011; 1: 76-
- Винницкая Е.В., Киселева А.В. Алкогольная болезнь печени в практике терапевта. *Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология*. 2014; 7: 18-24.
- Голованова Е.В. Патогенетические подходы к лечению хронических заболеваний печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016; 5: 65-
- Маевская М.В., Морозова М.А., Ивашкин В.Т. Алгоритм ведения пациентов с алкогольной болезнью печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2011; 21 (1): 4-10.
- Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А., Маркосян А.М. Эффективность нейропептида и гепатопротекторов пептидной и непептидной природы в терапии крайне тяжелых отравлений этиловым спиртом. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2014; 1: 136-
- Гребенюк А.Н., Халютин Д.А., Рейнюк В.Л., Колобов А.А. Сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов при острых тяжелых отравлениях этанолом. *Токсикологический вестник*. 2014; 6: 15-21.
- Халютин Д.А., Соловьева Т.С., Чирский В.С., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Гребенюк А.Н. Морфологические особенности действия пептидных препаратов при остром отравлении этиловым спиртом в эксперименте. *Токсикологический вестник*. 2015; 4: 31-
- Халютин Д.А., Тарумов Р.А., Ховпачев А.А., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Гребенюк А.Н. Влияние пептидных препаратов на биохимические показатели сыворотки крови, головного мозга и печени крыс при остром тяжелом отравлении этиловым спиртом. *Токсикологический вестник*. 2016; 4: 28-35.
- Хельсинкская декларация. Всемирная медицинская ассоциация. М.; 2001.
- Антушевич А.Е., Гребенюк А.Н., Халютин Д.А., Ярцева А.А. Экспериментальное моделирование алкоголь-индуцированного цирроза печени у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 9: 387-90.
- Миронов А.Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. М.: Гриф и К.; 2012.
- Louvet A., Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2015; 12 (4): 231-
- Gao B., Battaller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1572-85.
- Nagy L.E., Ding W.X., Cresci G., Saikia P., Shah V.H. Linking pathogenic mechanisms of alcoholic liver disease with clinical phenotypes. *Gastroenterology*. 2016; 150 (8): 1756-68.

REFERENCES:

- Leon D.A., Shkolnikov V.M., McKee M. Alcohol and Russian mortality: a continuing crisis. *Addiction*. 2009; 104 (10): 1630-2.
- Inozemtsev E.S. Panel analysis of the impact of alcohol consumption on mortality in the Russian Federation. *Kazanskaya nauka*. 2010; 7: 52-(in Russian).
- Global Health Risks. Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. World Health Organization. Geneva, 2009.
- Status Report on Alcohol and Health in 35 European Countries. World Health Organization, Regional office for Europe. Geneva, 20
- Global Status Report on Alcohol and Health. World Health Organization. Geneva, 2014.
- Kryukov V.N., Kharchenko V.I., Naydenova N.G., Burumskiy I.V., Koryakin M.V., Virin M.M., Undritsov V.M. Acute intoxication with ethyl alcohol, and not with its surrogates – the main cause of fatal alcohol poisoning in Russia. *Narkologiya*. 2005; 10: 50-(in Russian).
- Ostapenko Yu.N., Litvinov N.N., Rozhkov P.G., Gasimova Z.M., Baturova I.V. The current state of the epidemiology of acute chemical poisoning and toxicological assistance to the population. *Toxicological Review*. 2010; 3: 36-(in Russian).
- Ostapenko Yu.N. Acute Poisoning in Russia: Recent Trends. *Efferentnaya terapiya*. 2015; 21 (5): (in Russian).
- Neufeld M., Rehm J. Alcohol consumption and mortality in Russia since 2000: are there any changes following the alcohol policy changes starting in 2006? *Alcohol Alcohol*. 2013; 48 (2): 222-30.
- Nemtsov A.V., Terekhin A.T. Size and diagnostic composition of alcohol-related deaths in Russia. *Narkologiya*. 2007; 12: 29-(in Russian).
- Khazanov A.I., Plyusnin S.V., Belyakin S.A., Vasil'ev A.P., Bobrov A.N., Pavlov A.I., Pekhtashev S.G. Chronic intoxication with alcohol and liver disease. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2009; 19 (1): 43-(in Russian).
- Boytsov S.A., Samorodskaya I.V., Semenov V.Yu. Influence of medical and non-medical factors on the mortality of the population: the role of alcohol. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya*. 2016; 26 (2): 97-1(in Russian).
- Jayasekara H., English D.R., Room R., Maclinnis R.J. Alcohol consumption over time and risk of death: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Epidemiol*. 2014; 179 (9): 1049-59.
- Belyakin S.A., Bobrov A.N., Plyusnin S.V., Khazanov A.I., Fisun A.Ya., Akimkin V.G. Alcohol – the leading etiologic factor of liver cirrhosis with an unfavorable outcome. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2009; 2: 29-(in Russian).
- Moiseev V.S. Alcoholic disease. Lesion of internal organs. Moscow: GEOTAR-Media; 20(in Russian).
- Belyakin S.A., Bobrov A.N., Plyusnin S.V. The level of alcohol consumption by the population and the mortality caused by liver cirrhosis. How are they related? *Klinicheskiy perspektivy gastroenterologii, gepatologii*. 2009; 5: 3-(in Russian).
- Bobrov A.N., Belyakin S.A., Plyusnin S.V. The etiologic structure of liver cirrhosis according to the results of a fifteen-year observation. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2011; 1: 76-(in Russian).
- Vinnitskaya E.V., Kiseleva A.V. Alcoholic liver disease in the practice of the therapist. *Effektivnaya farmakoterapiya. Gastroenterologiya*. 2014; 7: 18-(in Russian).
- Golovanova E.V. Pathogenetic approaches to the treatment of chronic liver diseases. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2016; 5: 65-(in Russian).
- Maevskaya M.V., Morozova M.A., Ivashkin V.T. Algorithm for managing patients with alcoholic liver disease. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2011; 21 (1): 4-(in Russian).
- Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A., Markosyan A.M. Comparative study of efficacy of neuropeptide and hepatoprotectors of peptide and nonpeptide origin in therapy of extremely acute poisoning with ethanol. *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2014; 1: 136-(in Russian).
- Grebenyuk A.N., Halyutin D.A., Reynyuk V.L., Kolobov A.A. Comparative evaluation of the efficacy of peptide drugs in severe acute poisoning with ethanol. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2014; 6: 15-(in Russian).
- Halyutin D.A., Solovyeva T.S., Czarski V.S., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Grebenyuk A.N. Morphological peculiarities of the action of peptide drugs at acute poisoning with ethyl alcohol in the experiment. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2015; 4: 31-(in Russian).
- Halyutin D.A., Tarumov R.A., Hovpachev A.A., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Grebenyuk A.N. The influence of peptide preparations on biochemical indices of rat blood serum, brain and liver at acute ethanol poisoning. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2016; 4: 28-(in Russian).
- The Helsinki Declaration. World Medical Association. Moscow; 20(in Russian).
- Antushevich A.E., Grebenyuk A.N., Halyutin D.A., Yarseva A.A. Experimental modeling of alcohol induced liver cirrhosis in rats. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2017; 9: 387-(in Russian).
- Mironov A.N., ed. A guide to preclinical drug research. Part Moscow: Grif & K; 20(in Russian).
- Louvet A., Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2015; 12 (4): 231-
- Gao B., Batailler R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011; 141 (5): 1572-85.
- Nagy L.E., Ding W.X., Cresci G., Saikia P., Shah V.H. Linking pathogenic mechanisms of alcoholic liver disease with clinical phenotypes. *Gastroenterology*. 2016; 150 (8): 1756-68.

A.E. Antushevich¹, A.N. Grebenyuk^{1,2}, D.A. Halyutin¹, A.A. Yarseva¹

INFLUENCE OF INOSINE GLYCYL-CYSTEINYL-GLUTAMATE DISODIUM ON THE CLINICAL COURSE AND OUTCOME OF THE EXPERIMENTAL ALCOHOL-INDUCED LIVER CIRRHOSIS

¹ Federal State Budgetary Military Educational Institution of High Education "S.M.Kirov Military Medical Academy", Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

² Federal Budget Science Institution «North-West Scientific Center of Hygiene and Public Health», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 191036, Saint-Petersburg, Russian Federation

An evaluation of the inosine glycil-cysteinyl-glutamate disodium efficacy as a means for therapy of toxic alcohol-induced liver cirrhosis was performed in experiments on outbred white rats. Experimental modeling of liver cirrhosis was carried out by administrating intragastrically to rats two hepatotoxicants – 40% ethanol at a dose of 3 g/kg, every other day for three weeks and 1% dimethylnitrosamine at a dose of 5 mg/kg, intraperitoneally the first 4 days per week. Inosine glycil-cysteinyl-glutamate disodium was administered subcutaneously at a dose of 30 mg/kg daily for three weeks; application of the drug was started after the administration of hepatotoxicants was ended and clinical and morphological indicators of toxic liver cirrhosis were proved. Evaluation of the efficiency of inosine glycil-cysteinyl-glutamate disodium as a therapeutic means for alcohol-induced liver cirrhosis was performed by morphological, histological and biochemical methods. It was found out that a combined action of ethanol and dimethylnitrosamine led to the development of toxic liver cirrhosis, which manifested by an increase in the rats body weight, characteristic morphological and histological changes in liver tissues, increased activity of alanine and aspartate aminotransferase, gamma-glutamyltranspeptidase, alkaline phosphatase and total bilirubin level, and an increase in the blood plasma of concentration of interleukin-1 β , interferon- γ and tumor necrosis factor- α . A course administration of inosine glycil-cysteinyl-glutamate disodium contributed to a decrease in the volume of connective tissue in the liver of animals, decrease in the activity of hepatic enzymes, decrease in the level of total bilirubin and the concentration of pro-inflammatory cytokines in the blood plasma. Data obtained show the efficacy of inosine glycil-cysteinyl-glutamate disodium as a means for treating alcohol-induced liver cirrhosis.

Keywords: ethanol, dimethylnitrosamine, poisoning, liver cirrhosis, treatment, inosine, oxidized glutathione.

Переработанный материал поступил в редакцию 03.10.2017 г.

УДК 614.8:[615.9:661.744.224]

ИЗУЧЕНИЕ ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И ТЕРАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ДИИЗОННИЛФТАЛАТА

В.А. Грынчак¹, С.И. Сычик¹,
Е.К. Власенко¹, И.И. Ильюкова¹,
С.Н. Рябцева²

¹ Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»,
Министерство здравоохранения Республики
Беларусь, 220012, г. Минск, Республика
Беларусь

² Учреждение образования «Белорусский
государственный медицинский университет»,
Министерство здравоохранения Республики
Беларусь, 220116, г. Минск, Республика
Беларусь

Проведены токсикологические исследования по изучению влияния диизонилфталата (ДИНФ) на репродуктивную систему белых крыс. В эксперименте использовали схему А.А. Динерман, которая позволяет регистрировать эмбриотропные и тератогенные эффекты с учетом динамики развития потомства в постнатальном периоде. Наличие аномалий развития внутренних органов эмбрионов определяли методом сагиттальных срезов по W. Wilson. Установлено, что внутрижелудочное введение изучаемого соединения самкам на протяжении периода беременности в дозах 100, 1000 и 10000 мг/кг инициировало внешние и внутренние пороки развития эмбрионов. Уровень воздействия 10000 мг/кг характеризуется увеличением общей постимплантационной и эмбриональной смертностью, наличием множественных пороков развития эмбрионов. При этом по показателям постнатального развития потомства достоверных изменений по сравнению с контролем не обнаружено. В эксперименте установлена максимально недействующая доза 10 мг/кг ДИНФ, при которой признаков тератогенного и эмбриотропного действия не выявлено.

Ключевые слова: диизонилфталат, токсичность, эмбриотоксичность, тератогенность.

Введение. В настоящее время широкое применение для производства изделий на полимерной основе находит новое соединение – диизонилфталат (ДИНФ), химические свойства которого позволяют отказаться от существующих пластификаторов – дибутилфталата и диоктилфталата.

По данным Всемирной организации здравоохранения фталаты оказывают негативное воздействие на эндокринную и нервную системы, обладают способностью индуцировать ряд отдаленных эффектов, включая канцерогенные. Соединения с такими свойствами присутствуют в составе упаковки для пищевых продуктов, в

бытовой технике, изделиях медицинского назначения, игрушках для детей и т.д.

Опасные свойства основных фталатов для здоровья и среды обитания человека в целом изучены хорошо. Законодательно установлены допустимые уровни миграции в водную и воздушную среды для диметилфталата, диэтилфталата, диметилтерефталата, диоктилфталата и дибутилфталата. В тоже время, для продукции, содержащей ДИНФ, отсутствуют требования гигиенической безопасности, что не дает оснований ее считать безопасной для потребителя.

Для обеспечения безопасного обращения продукции на полимерной основе необходи-

Грынчак Виталий Александрович (Grynchak Vitali Aleksandrovich), аспирант, младший научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», 220012, г. Минск, grinchakva@gmail.com 8 (017) 284-13-82

Сычик Сергей Иванович (Syhik Sergey Ivanovich), кандидат медицинских наук, доцент, директор Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», 220012, г. Минск, rspch@rspch.by

Власенко Евгений Константинович (Vlasenko Eugene Konstantinovich), кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены», 220012, г. Минск, evgenii_vlasenko@mail.ru

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

Рябцева Светлана Николаевна (Rjabceva Svetlana Nikolaevna), кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», Министерство здравоохранения Республики Беларусь, 220116, г. Минск, sveta.rjabceva@tut.by

мо осуществление токсиколого-гигиенической оценки с обоснованием мер гигиенического регулирования ДИНФ. Анализ литературы показывает, что сведения о биологических свойствах данного соединения представлены эпизодично, практически отсутствуют данные об уровне его токсичности и опасности, не выявлены закономерности токсикодинамики, нет сведений о механизмах токсического действия. Вышеизложенное свидетельствует о необходимости разработки лимитирующих показателей вредности для определения допустимых уровней миграции ДИНФ из полимерной продукции [1,2].

Одним из компонентов изучения возможно отрицательного воздействия вредного химического фактора является идентификация опасности репродуктивной токсичности, что достигается путем экстраполяции на человека экспериментальных данных, полученных в опытах на целостном организме животного [3,4].

Целью настоящих исследований является изучение влияния ДИНФ на репродуктивную функцию белых крыс с учетом изменений, возникающих в постнатальном развитии и определением недействующих уровней доз.

Материалы и методы исследования. Изучению подвергали ДИНФ, представляющий собой прозрачную бесцветную маслянистую жидкость, без запаха, практически нерастворимую в воде, номер CAS 28553-12-0.

Эксперименты по изучению эмбриотропного и тератогенного действия проводили на 105 рандомбредных половозрелых крысах-самках с массой тела 160-180 г. Выбор белых крыс обусловлен тем, что крысы и человек имеют одинаковый гемохориальный тип плаценты, крысы удобны в эксперименте и у них редко возникают спонтанные аномалии развития. При этом, длительность беременности у крыс составляет 22 дня. При постановке исследований обращали внимание на полноценность пищевого рациона и тщательность ухода за животными, так как каждый из этих факторов сам по себе может оказать влияние на состояние эмбрионального развития и функциональное состояние плаценты.

При отборе крыс-самок руководствовались наличием у них нормального эстрального цикла, включающего все 4 стадии общей продолжительностью 4-6 дней и характеризующегося ритмичностью циклирования. При наличии фазы эструса проводили спаривание самок с самцами. Спаривание проводили в вечернее время. Самок подсаживали к одной и той же группе самцов в соотношении 2:1.

Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения сперматозоидов в ва-

гинальном мазке нормально циклирующих самок. Изучение эмбриотоксичности проводили по методу, предложенному А.А. Динерман [5]. Суть данного метода заключается в комбинированной схеме постановки эксперимента по изучению эмбриотоксического и тератогенного действия с учетом состояния потомства в постнатальном периоде.

Схема эксперимента предусматривала многократное внутрижелудочное введение ДИНФ на протяжении 20 дней беременности самкам крыс, распределенным по 21 особи в 5 подопытных группах. I группе вводили дистиллированную воду в объеме 2 мл (контрольная), опытные группы получали ДИНФ в дозах: II группа – 10 мг/кг, III группа – 100 мг/кг, IV группа – 1000 мг/кг и V группа – 10000 мг/кг массы тела.

На 20-й день беременности, когда эмбрион достигает значительных размеров и, в основном, закончен органогенез, проводили умерщвление 11 из 21 самки в каждой группе методом мгновенной декапитации. После вскрытия беременных самок в яичниках подсчитывали число желтых тел. Рога матки вскрывали по наружному краю, подсчитывали число живых и погибших эмбрионов. Эмбрионы фиксировали в растворе Буэна. В протоколе указывали день вскрытия, характер воздействия на самку, дозу препарата, число живых и погибших эмбрионов, а также число желтых тел каждого яичника. Затем определяли среднее число особей в помете, массу и длину каждого эмбриона, визуально регистрировали наличие внешних аномалий развития эмбрионов. Рассчитывали общую эмбриональную, преимплантационную и постимплантационную смертность. Для вычисления этих показателей использовали данные о количестве живых эмбрионов, погибших эмбрионов и числе желтых тел.

Наличие аномалий развития внутренних органов эмбрионов определяли с помощью метода сагиттальных срезов, предложенного W. Wilson в модификации [6]. Все срезы просматривали с помощью бинокулярной лупы МБС-1 (Россия).

Оставшиеся по 10 самок в каждой группе на 22-й день беременности приносили помет. Изучение состояния потомства в постнатальном периоде проводили с использованием показателей физического развития. По достижении потомства трехмесячного возраста самцов умерщвляли методом мгновенной декапитации. Морфофункциональные показатели гонад изучали по показателям общей концентрации сперматозоидов, концентраций подвижных и неподвижных сперматозоидов, средней скорости подвижных сперматозоидов при помощи спермоанализатора БИОЛА АФС-500-2, Россия.

Фиксировали также изменения ряда функциональных и морфометрических показателей гонад, характеризующих генеративную функцию животных, включая относительные коэффициенты массы (ОКМ) семенников и придатков.

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. При оценке различий между группами использовали параметрический t-критерий Стьюдента с учетом поправки Бонферрони или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Количественные параметры представлены в виде среднего значения (M) и 95% доверительного интервала ($\pm 95\%$ ДИ), либо в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [25%;75%]. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$. Обращение с животными соответствовало международным требованиям [7].

Результаты и обсуждение. На протяжении эксперимента (период беременности и роды) гибель и клинические признаки интоксикации самок крыс в опытных группах и контроле отсутствовали.

Изучение эмбрионального развития потомства крыс в группе V (10000 мг/кг) достоверно показало снижение числа живых эмбрионов и среднего числа особей в помете на одну самку по сравнению с контролем. Увеличилось число погибших эмбрионов, как следствие достоверно изменилась общая эмбриональная и постимплантационная смертность. В остальных опытных группах показатели оставались в пределах нормального эмбриогенеза (табл. 1).

При внешнем осмотре эмбрионов и при изучении состояния их внутренних органов методом сагиттальных срезов контрольной группы и группы I (10 мг/кг) отклонений от анатомической нормы не обнаружено. В опытной группе III (100 мг/кг) было установлено уменьшение размера глазных яблок у 5 эмбрионов (микрофтальмия, 4,8%). Эта же аномалия развития наблюдалась и в группах IV (1000 мг/кг) и V (10000 мг/кг). Также в этих группах (IV и V) выявлен ряд аномалий развития: частичное отсутствие свода черепа, черепно-мозговая грыжа, гидроцефалия, анэнцефалия, микрогнатия,

Таблица 1

Показатели эмбрионального развития крыс при ежедневном (20 дней) внутривенном введении ДИНФ беременным самкам, M (95%ДИ), либо Me [25%;75%]

Показатели, единицы измерения	Группы сравнения, уровень воздействия ДИНФ				
	I контроль	II 10 мг/кг	III 100 мг/кг	IV 1000 мг/кг	V 10000 мг/кг
Число живых эмбрионов, шт	9,0 [8,0;11,0]	9,0 [8,0;10,0]	10,0 [8,0;11,0]	10,0 [9,0;10,0]	5,0 [2,0;9,0]*
Число погибших эмбрионов, шт	0	0	0	0 [0;1,0]	2,0 [0;5,0]*
Число желтых тел, шт	11,0 [11,0;13,0]	10,0 [9,0;11,0]	11,0 [11,0;13,0]	12,0 [10,0;13,0]	11,0 [10,0;12,0]
Общая эмбриональная смертность, %	15,38 [0,00;25,0]	10,0 [0;0,16,7]	15,38 [9,1;28,6]	23,08 [9,1;33,3]	54,55 [18,2;80,0]*
Преимплантационная смертность, ед.	0,15 [0;0,23]	0,10 [0;0,17]	0,11 [0,9;0,27]	0,15 [0,07;0,27]	0,3 [0,14;0,36]
Постимплантационная смертность, ед.	0	0	0	0 [0;0,091]	0,29 [0;0,67]*
Среднее число особей в помете, шт	9,0 [9,0;10,0]	9,0 [7,0;10,0]	9,0 [8,0;10,0]	8,5 [6,0;10,0]	6,5 [5,0;7,0]*
Масса одного эмбриона, г	2,3 (2,0-2,5)	2,2 (1,9-2,5)	2,2 (2,0-2,5)	2,4 (2,0-2,7)	2,3 (1,9-2,6)
Длина одного эмбриона, мм	31,0 (29,0-33,0)	32,0 (30,0-34,0)	31,0 (29,0-32,0)	32,0 (29,5-34,0)	32,0 (30,0-34,0)

Примечание: * – различия статистически достоверны, $p < 0,05$.

Таблица 2

Аномалии развития эмбрионов крыс

Показатели, единицы измерения	Группы сравнения, уровень воздействия ДИНФ				
	I контроль	II 10 мг/кг	III 100 мг/кг	IV 1000 мг/кг	V 10000 мг/кг
Микрофтальмия, шт (%)	0 / 104	0 / 99	5 / 104 (4,8%)	7 / 106 (6,6%)	8 / 65 (12,3%)
Анэнцефалия, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	6 / 65 (9,2%)
Гидроцефалия, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	6 / 65 (9,2%)
Энцефалоцеле, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	4 / 65 (6,2%)
Акрония, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	4 / 65 (6,2%)
Микрогнатия, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	3 / 65 (4,6%)
Гипоплазия нижней доли легкого, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	0 / 106	2 / 65 (3,1%)
Отсутствие межжелудочковой перегородки, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	12 / 106 (11,3%)	13 / 65 (20%)
Эвентрация кишечника и/или печени, шт (%)	0 / 104	0 / 99	0 / 104	6 / 106 (5,7%)	10 / 65 (15,4%)
Общее количество аномалий развития, шт (%)	0	0	5 (4,8%)	25 (23,6%)	56 (86,2%)
Количество эмбрионов с аномалиями развития, шт (%)	0	0	5 (4,8%)	25 (23,6%)	32 (49,2%)

гипоплазия нижней доли легкого, отсутствие межжелудочковой перегородки, эвентрация кишечника и/или печени (табл. 2). При этом, доза 10000 мг/кг исследуемого соединения вызывала множественные пороки развития, которые характеризовались сочетанием эвентрации кишечника и/или печени, микрофтальмии, анэнцефалии, гидроцефалии, акронии, отсутствием межжелудочковой перегородки. Таким образом, морфологически были обнаружены признаки выраженного негативного (тератогенного) действия на плод.

Наблюдения за процессом постнатального развития крысят проводили, начиная со дня рождения до 60-дневного возраста. Установлено, что по параметрам физического развития подопытные крысята не отличались от контрольных. Так, независимо от групповой принадлежности, отлипание ушной раковины у крысят наступало на 2-3 день жизни, обрастание шерстью на 5-6 дни, прорезывание резцов на 8-9 день жизни, открытие глаз – на 13-16 день жизни (табл. 3).

При изучении показателей состояния репродуктивной системы потомства (самцы крыс) на 60-й день жизни произведено умерщвление животных подопытных групп методом мгновенной декапитации. Макроскопическое обследование семенников и придатков у животных всех групп не обнаружило видимой патологии. В подопытных группах не наблюдалось достоверных отклонений показателей, характеризующих генеративную функцию – ОКМ семенников и придатков, общей концентрации, концентрации подвижных и неподвижных сперматозоидов, средней скорости подвижных сперматозоидов (табл. 4).

Заключение. В ходе исследования установлено, что внутрижелудочное введение ДИНФ самкам на протяжении периода беременности в дозах 100, 1000 и 10000 мг/кг инициировало формирование внешних и внутренних пороков развития эмбрионов, таких как микрофтальмия, анэнцефалия, гидроцефалия, акрония, микрогнатия, гипоплазия легкого, отсутствие межжелудочко-

Таблица 3

Показатели постнатального развития потомства крыс, М ($\pm 95\%$ ДИ)

Показатели, единицы измерения	Группы сравнения, уровень воздействия ДИНФ				
	I контроль	II 10 мг/кг	III 100 мг/кг	IV 1000 мг/кг	V 10000 мг/кг
на 1 сутки					
Масса, г	6,1 (5,8-6,5)	6,2 (5,8-6,6)	6,3 (5,7-6,7)	6,2 (5,9-6,5)	6,3 (5,9-6,5)
Длина, мм	46,0 (44,0-47,0)	46,0 (44,0-47,0)	45,0 (44,0-47,0)	44,0 (43,0-47,0)	45,5 (44,0-47,0)
на 10 сутки					
Масса, г	6,1 (5,8-6,5)	6,2 (5,8-6,6)	6,3 (5,7-6,7)	6,2 (5,9-6,5)	6,3 (5,9-6,5)
Длина, мм	67,0 (55,0-81,0)	67,0 (63,0-70,0)	67,0 (60,0-74,0)	69,0 (51,0-78,0)	67,0 (31,0-87,0)
на 30 сутки					
Масса, г	55,4 (50,3-61,0)	57,7 (50,4-65,4)	51,4 (45,1-66,2)	61,8 (42,5-66,5)	58,0 (53,8-65,2)
Длина, мм	109,0 (105,0-112,0)	109,0 (105,0-113,0)	105,0 (98,0-112,0)	110,0 (100,0-115,0)	110,0 (106,0-117,0)
на 60 сутки					
Масса, г	145,0 (125,0-150,0)	147,5 (130,0-165,0)	140,0 (130,0-160,0)	150,0 (113,0-170,0)	149,0 (130,0-170,0)
Длина, мм	155,0 (150,0-161,0)	154,5 (150,0-161,0)	152,0 (149,0-157,0)	152,0 (145,0-158,0)	152,0 (148,0-160,0)

Таблица 4

Морфофункциональные показатели гонад потомства (самцов) крыс при внутрижелудочном введении ДИНФ беременным самкам, М (95%ДИ)

Показатели, единицы измерения	Группы сравнения, уровень воздействия ДИНФ				
	I контроль	II 10 мг/кг	III 100 мг/кг	IV 1000 мг/кг	V 10000 мг/кг
ОКМ семенников, г/кг-3	15,3 (41,4-15,4)	14,8 (13,2-15,6)	14,9 (14,8-15,1)	14,7 (14,5-15,3)	15,0 (14,7-15,6)
ОКМ придатков, г/кг-3	4,1 (3,8-4,3)	4,4 (3,8-4,5)	3,6 (3,5-3,8)	4,5 (4,0-4,7)	4,5 (4,0-4,7)
Общая концентрация сперматозоидов, млн/мл	73,4 (62,0-77,8)	69,7 (64,2-72,0)	64,6 (48,0-71,8)	69,1 (59,4-71,8)	69,7 (64,2-80,0)
Концентрация подвижных сперматозоидов, млн/мл	62,4 (53,8-66,3)	62,7 (56,6-75,5)	56,7 (43,2-66,8)	62,1 (53,0-70,4)	63,4 (58,7-78,4)
Концентрация неподвижных сперматозоидов, млн/мл	7,1 (2,2-12,0)	6,7 (3,2-10,5)	2,5 (1,3-10,3)	4,1 (1,9-6,4)	3,1 (1,6-12,3)
Средняя скорость подвижных сперматозоидов, мкм/сек	65,0 (60,0-66,4)	61,3 (59,2-64,2)	62,9 (60,9-65,6)	62,0 (59,3-63,0)	63,8 (60,9-64,6)

вой перегородки, эвентрация кишечника и/или печени. Уровень воздействия 10000 мг/кг характеризуется увеличением общей постимплантационной и эмбриональной смертности, наличием множественных (сочетанных) пороков развития эмбрионов. При этом по показателям пост-

натального развития потомства достоверных по сравнению с контролем изменений не обнаружено. В эксперименте установлена максимально недействующая доза 10 мг/кг ДИНФ, при которой признаков тератогенного и эмбриотропного действия не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Грынчак В.А., Сычик С.И. Актуальные проблемы безопасного обращения диизонил фталата. Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2016; 11 : 36-46.
2. Грынчак В.А. Актуальность токсиколо-гигиенической оценки диизонил фталата как химического

вещества нарушающего работу эндокринной системы. В кн.: Сборник материалов школы молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний», М.; 2016; ч.1 : 66-71.
3. WHO. IPCS Environmental Health Criteria 170: Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Health-based

Exposure limits. Geneva: World Health Organization; 1994; 75.
4. Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment. U.S. EPA. Sept. 1996; 163.
5. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития. М.: Медицина; 1980.
6. Дыбан А.П., Баранов В.С., Акимов И.М. Основные методические под-

ходы к тестированию тератогенной активности химических веществ. В кн.: Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. М.: 1970; 59 : 89-100.
7. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resources commission on life sciences research council. National academy press. Washington, D.C. 1996; 1: 128.

REFERENCES:

1. Grynchak V.A., Sychik S.I. Actual problems of safe handling of diisononyl phthalate. Proceedings of the Belarussian State University. Series: Physiological, biochemical and molecular basis of functioning of biosystems. 2016; 11 : 36-46 (in Russian).
2. Grynchak V.A. The relevance of the toxicological and hygienic assessment of diisononyl phthalate as a chemical

that disrupts the endocrine system. In: Collection of materials of the School of Young Scientists «Fundamentals of Healthy Nutrition and Ways to Prevent Alimentary-Dependent Diseases», M.; 2016; ch.1 : 66-71 (in Russian).
3. WHO. IPCS Environmental Health Criteria 170: Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Health-based Exposure limits. Geneva: World Health

Organization; 1994; 75.
4. Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment. U.S. EPA. Sept. 1996; 163.
5. Dinerman A.A. The role of environmental pollutants in violation of embryonic development. M.: Medicina; 1980 (in Russian).
6. Dyban A.P., Baranov V.S., Akimov I.M. Basic methodical approaches to testing teratogenic activity of chemical

substances. In: Archive of anatomy, histology and embryology. M.: 1970; 59 : 89-100 (in Russian).
7. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resources commission on life sciences research council. National academy press. Washington, D.C. 1996; 1: 128.

V.A. Grynchak¹, S.I. Sychik¹, E.K. Vlasenko¹, I.I. Ilyukova¹, S.N. Ryabceva²

THE STUDY OF EMBRYOTOXIC AND TERATOGENIC EFFECTS OF DIISONONYL PHTHALATE

¹ Republican unitary enterprise «Scientific -practical center of hygiene», Ministry of Health of the Republic of Belarus, 220012 Minsk, Belarus

² Educational Institution «The Belarussian State Medical University», Ministry of Health of the Republic of Belarus, 220116 Minsk, Belarus

Toxicological studies were conducted on impact of diisononyl phthalate (DINP) on the reproductive system of white rats. In experiments, A. Dinerman's scheme was applied which allows recording embryotropic and teratogenic effects taking into account the dynamics of the development of offspring in the postnatal period. The presence of anomalies in the development of embryos internal organs was determined by the sagittal section method according to W. Wilson. It was found out that intragastric administration of the test compound to females during the pregnancy period at doses of 100, 1000 and 10,000 mg/kg initiated external and internal malformations in embryos. The exposure level of 10,000 mg/kg is characterized by increased rate of total post implantation and embryonic mortality, multiple embryonic developmental defects. At the same time, there were no significant changes in the postnatal development of the offspring compared to the control. In the experiment it was established that the dose of 10 mg/kg is the most inactive dose of DINP at which no signs of teratogenic and embryotropic actions were revealed.

Keywords: diisononyl phthalate; toxicity; embryotoxicity; teratogenicity.

Материал поступил в редакцию 25.08.2017 г.

УДК 615.917

МАРКЕРЫ АПОПТОЗА – МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СЕРНИСТОГО ИПРИТА

Н.Ю. Роговская, В.Н. Бабаков

ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии
и экологии человека» ФМБА России, 188663,
Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский,
Российская Федерация

Предложены клеточные *in vitro* тест-системы, которые позволяют определять активацию апоптоза при различных концентрациях сернистого иприта (СИ); была оценена эффективность этих тест-систем при действии N-ацетилцистеина (НАС).

В качестве показателей токсического действия СИ оценивали как интегральную цитотоксичность, так и активацию молекулярных мишеней: поли(АДФ-рибоза)полимераза, каспазы-3, каспазы-9, транскрипционного фактора p53 и других маркеров апоптоза в экстрактах клеток человека линии SH-SY5Y при действии СИ и при совместном действии СИ и НАС.

Можно выделить следующие основные мишени токсического действия СИ на клетки: каспазу-3, каспазу-9, PARP1 и транскрипционный фактор p53, который в данной системе является первичной мишенью и активируется через 6 ч после добавления токсиканта. Активные формы ферментов каспазы-3, каспазы-9 и PARP1 заметно накапливаются в клетках через 24 ч после добавления токсиканта.

Ключевые слова: сернистый иприт, N-ацетилцистеин, апоптоз, p53, каспаза-3, каспаза-9, поли(АДФ-рибоза)полимераза, клеточные тест-системы.

Введение. Сернистый иприт [бис(2-хлорэтил)сульфид] является наиболее известным боевым отравляющим веществом кожно-нарывного действия. Сернистый иприт (СИ) является алкилирующим агентом, который действует через циклизацию этиленовой группы с образованием чрезвычайно реакционноспособного сульфониевого иона. Данный электрофил способен реагировать с многочисленными нуклеофильными центрами макромолекул клетки. Продуктами данного взаимодействия являются стабильные аддукты, образование которых может нарушать нормальное функционирование макромолекул [1,2]. Подобные нуклеофильные области присутствуют в пептидах, белках, РНК, ДНК, клеточных мембранах. Хотя химия взаимодействия иприта с клеточными структурами в настоящее время достаточно хорошо исследована, корреляции между химическими взаимодействиями и токсическим действием иприта и других алкилирующих соединений на организм еще не выявлены в полной мере. Тем не менее, в патогенезе токсического действия СИ выделяют, как минимум, три элемента [3].

Алкилирование нуклеотидов может приводить к депуринизации ДНК, сшивкам и разрывам цепей, нарушению нормальной репликации ДНК. Этот процесс приводит в действие механизмы восстановления ДНК путем активации поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP1), что в свою очередь, приводит к резкому понижению клеточного уровня НАД⁺. Серьезное падение уровня внутриклеточного АТФ блокирует гидролиз PARP1 проапоптотическим ферментом каспазой-3 и определяет дальнейший путь гибели клетки по некротическому типу, при меньшем уровне активации PARP1 возможен проапоптотический путь гибели клетки. Таким образом, в зависимости от концентрации СИ, возможны различные пути гибели клетки [4].

Вторым элементом токсического действия СИ является окисление внутриклеточных тиоловых групп [5]. Понижение уровня глутатиона, приводит к активации активных форм кислорода, которые окисляют сульфгидрильные группы белков. В дополнение к окислению сульфгидрильных групп, воздействие СИ, активизирует реакции, включающие генерацию высокоток-

Роговская Надежда Юрьевна (Rogovskaya Nadezhda Yurievna), научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, niigpesh@rihophe.ru
Бабаков Владимир Николаевич (Babakov Vladimir Nikolaevich), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, babakov@rihophe.ru

сичных окислителей. Кроме того, свободные радикалы как продукты перекисного окисления липидов (такие как эйкозаноиды и простагландины) активируют основной провоспалительный транскрипционный фактор NF-κB [6].

Более 90% неметаболизированного СИ выводится в первые 48 часов после отравления. И дополнительным непрямым фактором токсического действия СИ является последующая мощная воспалительная реакция, вызванная активацией внутриклеточных путей, контролируемых воспалением, таких как NF-κB и MAP-киназный каскад [7,8].

Молекулярные события, активируемые токсикантом, могут быть мишенью для разработки скрининговых тест-систем, позволяющим как прояснить возможные механизмы токсического действия, определения токсичных концентраций, так и являться ключевым элементом для оценки эффективности потенциальных антидотов. Ингибиторы внутриклеточных путей NF-κB и p38 MAP-киназы снижают уровень провоспалительных цитокинов в кератиноцитах человека на фоне действия СИ [9].

Целью настоящей работы являлось определение ключевых внутриклеточных маркеров апоптоза при действии различных концентраций СИ и при совместном действии СИ и цитопротектора N-ацетилцистеина.

Материалы и методы исследования. Клетки линии SH-SY5Y (ATCC, CRL-2266) культивировали во флаконах в среде DMEM/F12 (Биолот, Санкт-Петербург) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков стрептомицина-пенициллина при 37 °C в CO₂-инкубаторе в атмосфере 5% CO₂.

Для определения интегральной цитотоксичности с помощью оборудования iCelligence RTCA (Acea Bioscience, США) 50 тыс. клеток вносили в лунку специализированного планшета, позволяющего определять клеточный индекс в режиме реального времени и культивировали в полной среде DMEM/F12. На следующий день после пассажа к клеткам добавляли равный объем среды, содержащей 2-кратные концентрации СИ и НАС. Мониторинг клеточного индекса проводили в течение 3 дней после добавления токсиканта.

Для получения данных по определению молекулярных маркеров апоптоза, клетки культивировали в 24-луночных планшетах, промывали на следующий день после пассажа, добавляли среду, содержащую СИ и НАС в различных концентрациях, и инкубировали 6 или 24 часа. Маркеры апоптоза были проанализированы в клеточных лизатах с использованием многопараметрической иммунофлуоресцентной технологии Luminex xMAP.

Для получения клеточных лизатов после инкубации, в лунку 24-луночного планшета добавляли 200 мкл лизирующего буфера (Merck/Millipore) с добавлением набора ингибиторов протеаз (Complete, Roche) и ингибиторов фосфатаз (Sigma, Phosphatase Inhibitor Cocktail 2) и 25 Е/мл фермента бензоазы (Sigma) на 10 мин. Экстракт затем центрифугировали при 20000 g при 4°C в течение 20 мин. В супернатанте определяли концентрацию белка по методу Лоури с использованием микропланшетного спектрофотометра Epoch (Biotek). Для дальнейшего анализа, концентрацию белка в экстракте выравнивали до концентрации 0,4 мг/мл. Анализ активированных фосфорилированных или протеолитически фрагментированных белков - маркеров апоптоза проводили с помощью иммунофлуоресцентного метода по технологии Luminex xMAP. Для анализа использовали набор реактивов для определения ранних маркеров апоптоза (7-Plex MILLIPLEX MAP Early Apoptosis Magnetic Bead Kit, Кат. № 48-669MAG Merck/Millipore), который позволяет определять активированные фосфорилированные формы следующих белков: Akt1 (Ser473), p53 (Ser46), BAD (Ser112), Bcl-2 (Ser70), JNK (Thr183/Tyr185), а также активных форм каспазы 8 (гидролизованной по Asp384) и каспазы 9 (гидролизованной по Asp315). В этих же образцах определяли маркеры позднего апоптоза с помощью набора 3-Plex MILLIPLEX MAP Late Apoptosis Magnetic Bead Kit, Кат. № 48-670MAG Merck/Millipore), набор позволяет определять активную форму каспазы 3, фрагментированную каспазой форму PARP1 (cleaved PARP1) и уровень фермента глицеральдегидфосфатдегидрогеназы в пробе.

Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, были обработаны в программе «Statistica 10.0». Оценку различий средних значений проводили с использованием многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты и обсуждение. Одним из базовых способов интегральной оценки биологической активности различных соединений является оценка пролиферации и темпов роста популяции, а также цитотоксичности клеток на фоне действия тех или иных соединений. На быструю оценку таких показателей ориентирован ряд методов: методы по оценке классической пролиферации – удвоению ДНК, по включению в ДНК меченых нуклеотидов; по оценке темпов роста, и цитотоксичности – построение кривых роста клеточной популяции, определение маркеров молекулярных событий, тесты на функциональные ответы клеток [10,11].

С помощью измерения электрического импеданса (полного сопротивления) поверхности клеток можно в реальном времени интегрально с

использованием клеточного индекса оценивать целый ряд показателей – скорость роста и пролиферации культуры, степень адгезии и расплывания на подложке, активацию рецепторов и т.п. Оборудование для оценки импеданса монослойной адгезионной культуры использует планшеты с нанесенными электродами на культивируемой поверхности, что позволяет измерять импеданс в реальном времени [12].

На культуру клеток нейробластомы в логарифмической фазе роста был добавлен СИ в диапазоне конечных концентраций 1-100 мкМ. На рисунке 1 представлен график изменения клеточного индекса от времени при внесении различных концентраций СИ. Дозозависимый эффект в этом диапазоне концентраций описывается сигмоидной зависимостью клеточного индекса от логарифма молярной концентрации СИ. С помощью программного обеспечения к прибору был определен показатель IC_{50} СИ для этой культуры клеток на уровне 2,52 мкМ.

Для оценки протекторного действия N-ацетилцистеина, определяли эффект таких же концентраций СИ в присутствии 100 мкМ NAC. N-ацетилцистеин в такой концентрации не влиял на пролиферацию клеточной культуры и не обладал цитотоксическим действием. IC_{50} для СИ в диапазоне концентраций 1-100 мкМ на фоне действия 100 мкМ NAC был определен на уровне 16 мкМ, что более чем в 6 раз превышает IC_{50} для СИ без протекторного действия NAC.

Определение ключевых элементов внутриклеточных путей, определяющих апоптоз, проводили в экстрактах клеток SH-SY5Y по технологии Luminex xMAP.

В таблицах 1 и 2 приведены значения флуоресценции определенных активных форм молекулярных внутриклеточных маркеров апоптоза при действии СИ в концентрациях 10 мкМ, 50 мкМ, 100 мкМ и при совместном действии СИ и NAC через 6 ч и 24 ч. Изменения флуоресценции относительно контрольного уровня прямо коррелируют с внутриклеточным уровнем соответствующего белка. В качестве положительного контроля в предлагаемой тест-системе использовали активатор апоптоза 2 (1-[(3,4-дихлорфенил)метил]-1H-индол-2,3-дион). Это соединение активирует апоптоз с IC_{50} 4-9 мкМ, обеспечивая цитохром C-зависимую олигомеризацию белка Araf-1 в зрелую апоптосому [13].

Активная, фосфорилированная по Thr183/Tyr185, форма белка JNK не продемонстрировала заметных изменений на фоне действия СИ по сравнению с контролем. Высокая концентрация СИ (100 мкМ) практически не влияет на активацию белка JNK через 6 ч после добавления токсиканта, и снижает уровень фосфорилированного белка через 24 часа. Концен-

трации 50 мкМ и 10 мкМ продемонстрировали разнонаправленные действия на активацию JNK: 50 мкМ СИ снижает уровень белка через 6 ч и повышает через 24 ч; 10 мкМ СИ повышает уровень белка через 6 ч и снижает через 24 ч. NAC не оказывает заметного влияния на эффекты СИ. Активатор апоптоза через 6 часов практически в два раза повышал уровень активной формы белка JNK, который снижался через 24 ч.

СИ в концентрациях 100 мкМ и 50 мкМ в 1,5-1,7 раза повышает уровень активной формы белка Bad, фосфорилированного по Ser112, через 24 ч после добавления к культуре клеток. Активатор апоптоза и NAC не оказывали влияния на уровень активной формы белка Bad.

СИ в изученных концентрациях снижает уровень активной формы белка Bcl-2, фосфорилированного по Ser70, в изучаемые сроки. Активатор апоптоза повышает уровень активной формы белка практически в 3 раза.

Уровень активной фосфорилированной по Ser473 формы белка Akt практически не меняется на фоне действия СИ и других исследованных соединений. Можно отметить незначительное достоверное повышение уровня этого белка через 6 ч после добавления 10 мкМ СИ.

Про-апоптотическая протеаза каспаза-9 активируется ограниченным протеолизом по сайту Asp315. Уровень активной формы этого фермента в 1,5-2 раза повышается по сравнению с соответствующим контролем при суточном действии СИ в концентрациях 50 и 100 мкМ. Активатор апоптоза также повышает уровень активной каспазы-9 через 24 ч после добавления к культуре клеток.

Транскрипционный фактор p53 является одним из ключевых стрессактивируемых внутриклеточных сигнальных белков, регулирующих клеточный цикл. СИ уже через 6 ч дозозависимым образом повышает уровень активной формы белка, фосфорилированного по Ser46. Максимальное повышение в 4,5 раза отмечено для 100 мкМ СИ, действие NAC снижает этот рост до 3 раз для этой же концентрации СИ. Высокий уровень активных форм белка p53 сохраняется и через 24 ч. Положительный контроль – активатор апоптоза через 24 ч продемонстрировал сопоставимый уровень активации с высокими концентрациями СИ.

Заметного влияния СИ и активатор апоптоза на активную форму протеазы каспазы-8, активированной ограниченным протеолизом по сайту Asp384, не оказывал. Можно отметить незначительное достоверное снижение уровня активной формы этого фермента через 6 ч после добавления токсиканта в концентрациях 50 и 100 мкМ.

НАД⁺ зависимый фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ЕС 1.2.1.12,

Таблица 1

Влияние сернистого иприта в различных концентрациях на уровень активных форм маркеров апоптоза (отмечен сайт фосфорилирования/активирующего гидролиза) в лизатах клеток линии SH-SY5Y через 6 и 24 ч, интенсивность флуоресценции, отн. ед. (M±mх)

Вещество	Концентрация	Время инкубации	JNK (Thr183/Tyr185)	Bad (Ser112)	Bcl-2 (Ser70)	Akt (Ser473)	Каспаза-9 (Asp315)
контроль		6ч	194,50± 4,91	251,50± 6,06	47,00± 2,89	92,75± 2,17	25,00± 0,01
		24ч	186,50± 4,91	214,75± 14,58	57,50± 2,02	94,75± 4,47	29,00± 1,15
СИ	100 мкМ	6ч	205,00± 0,58↑\$	262,75± 8,23↑*↑\$	34,50± 1,44↓*↓#	92,00± 2,31↓*	30,50± 3,75
		24ч	153,00± 27,71↓\$	329,00± 57,74	26,50± 5,48↓#	88,75± 1,59↓@	43,75± 5,92↑@
	50 мкМ	6ч	152,75± 7,07↓#	235,25± 3,32	30,00± 1,73	94,50± 2,89↑#	29,50± 1,44
		24ч	217,75± 3,03↑*↑@	372,25± 15,16↑*↑@	46,50± 3,18↓*↑@	103,50± 2,02↑#↑@	60,00± 4,62↑*↑@
	10 мкМ	6ч	233,75± 2,45↑*↑#	298,00± 3,46↑*↑#	52,00± 0,01	114,50± 10,68	31,75± 1,59
		24ч	171,25± 7,07↓*↓@	255,50± 9,53↑*	52,50± 1,44	104,50± 1,44↑#	26,25± 0,43
СИ +NAC 100мкМ	100 мкМ	6ч	157,50± 5,48↓*	243,50± 10,68	36,00± 0,58↓*	92,75± 10,54	27,50± 2,02
		24ч	161,00± 25,98	374,50± 1,44↑*↑@	30,00± 3,46↓*	104,75± 20,64	57,50± 10,97
NAC	100 мкМ	6ч	167,50± 1,44↓*	251,50± 3,18	40,00± 1,73	75,00± 4,62	21,50± 2,02
		24ч	199,50± 3,18↑@	270,50± 7,79↑*	73,00± 1,15↑*↑@	111,25± 0,72↑@	33,00± 1,15↑@
Активатор апоптоза 2	10 мкМ	6ч	395,25± 24,68↑*	250,25± 14,00	132,25± 6,78↑*	91,50± 3,18	30,50± 1,44
		24ч	245,75± 1,88↑*↓@	295,00± 0,58↑*	140,50± 7,22↑*	102,75± 1,01↑@	47,75± 4,76↑*↑@

Примечание:

↓ - понижение ↑ - повышение

* - различия в группе достоверны (p<0,05) по сравнению с контролем;

- различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении между дозировками вещества в одной группе (дозозависимый эффект);

@ - различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении между группами с равной концентрацией СИ, но разным временем отбора пробы;

\$ - различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении группы СИ+NAC 100 мкМ с группой того же времени и концентрации СИ.

GAPDH) катализирует 6 этап гликолиза, но также является транскрипционным фактором и может принимать участие в инициализации апоптоза и вовлекаться в процессы репарации ДНК [14]. Концентрация СИ в 10 мкМ через 6 ч в наибольшей степени повышает уровень белка GAPDH в

клетках, вероятно при перераспределении из клеточных компартментов, таких как митохондрии, через 24 наибольший подъем уровня этого белка отмечен для концентрации 100 мкМ.

Один из ключевых маркеров поздних стадий апоптоза, активная форма фермента каспазы-3,

Таблица 2

Влияние сернистого иприта в различных концентрациях на уровень активных форм маркеров апоптоза (отмечен сайт фосфорилирования/активирующего гидролиза) в лизатах клеток линии SH-SY5Y через 6 и 24 ч., интенсивность флуоресценции, отн. ед. (M±mх)

Вещество	Концентрация	Время инкубации	p53 (Ser46)	Каспаза-8 (Asp384)	GAPDH	PARP-1 (Asp214)	Каспаза-3 (Активная форма)
контроль		6ч	767,50± 51,67	52,75± 1,01	1876,25± 91,08	63,75± 13,13	65,50± 5,20
		24ч	971,50± 126,73	52,00± 0,58	1415,50± 60,33	73,00± 10,68	67,25± 5,34↑@
СИ	100 мкМ	6ч	3405,50± 40,70↑*↑#↑\$	43,25± 0,14↓*↓#↓\$	1711,00± 64,66↓*	121,75± 4,19↑#	135,75± 11,98↑#
		24ч	2806,50± 718,51	46,50± 3,18↓#	2563,00± 107,39↑*↑#↑@	832,00± 11,84↑*↑#↑@	272,00± 37,82↑*
	50 мкМ	6ч	1786,00± 25,40↑*	45,25± 0,72↓*	2113,75± 22,95↑#	80,50± 3,46	98,25± 8,80
		24ч	3955,00± 173,78↑*↑@	56,75± 2,45	2106,25± 35,94↑*	428,75± 7,07↑*↑@	463,75± 7,07↑*↑#↑@
	10 мкМ	6ч	1348,00± 39,84↑*	51,50± 1,44	2559,00± 62,93↑*↑#	166,50± 6,64↑*	119,00± 0,87↑*
		24ч	1353,50± 12,99	56,75± 2,17	936,75± 233,39↓@	78,50± 9,53	54,00± 4,04↓*↓#↓@
СИ +NAC 100мкМ	100 мкМ	6ч	2357,75± 146,50↑*	53,25± 0,14	2516,25± 27,57↑*	139,00± 9,53↑*	115,00± 2,31↑*
		24ч	2503,50± 626,14	44,50± 2,02↓*	1832,75± 71,45↑*↓@	892,50± 313,79	402,75± 167,29
NAC	100 мкМ	6ч	541,50± 3,18↓*	47,50± 1,44↓*	2145,00± 45,90↑*	76,75± 5,92	90,75± 8,23↑*
		24ч	1070,50± 0,87↑@	57,00± 1,73↑*	2477,00± 233,25	147,00± 8,08↑*↑@	108,25± 6,50
Активатор апоптоза 2	10 мкМ	6ч	1464,50± 106,52↑*	57,00± 2,89	2296,75± 59,61↑*	96,75± 15,44	72,25± 2,74
		24ч	3380,75± 131,49↑*↑@	47,50± 3,46↓@	1791,50± 161,95	288,50± 45,03↑*	290,50± 20,50↑*↑@

Примечание:

↓ - понижение ↑ - повышение

* - различия в группе достоверны (p<0,05) по сравнению с контролем;

- различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении между дозировками вещества в одной группе (дозозависимый эффект);

@ - различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении между группами с равной концентрацией СИ, но разным временем отбора пробы;

\$ - различия показателя достоверны (p<0,05) при сравнении группы СИ+NAC 100 мкМ с группой того же времени и концентрации СИ.

через 6 ч действия СИ активируется незначительно. Через 24 ч уровень активного фермента повышается в 7 раз при действии 50 мкМ СИ и в 4 раза при действии 100 мкМ СИ и активатора апоптоза.

Фермент поли(АДФ-рибоза)полимераза (PARP1) является одним из ключевых регуляторов репарации ДНК и молекулярным марке-

ром генотоксического действия СИ. Заметная активация активной формы PARP1, протеолитически гидролизованной по сайту Asp214, происходит через 24 ч после действия СИ, дозозависимым образом, для концентрации 100 мкМ СИ повышение в 11,4 раза, для концентрации 50 мкМ - в 5,9 раза. Активатор апоптоза через

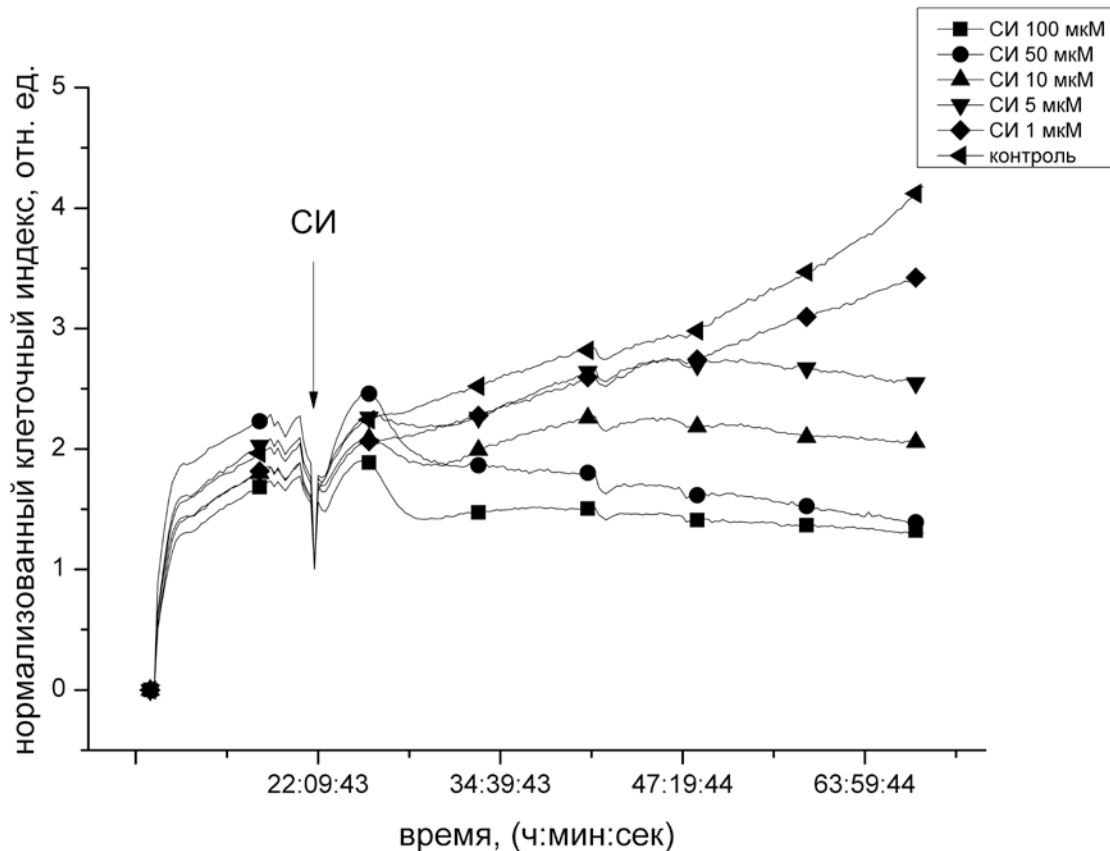


Рис. 1. График изменения нормализованного клеточного индекса клеток линии SH-SY5Y от времени инкубирования с сернистым ипритом в различных концентрациях, момент введения отмечен на графике.

24 ч в 4 раза повышает уровень активного фермента PARP1, вероятно регулируя фермент каспазу-3.

Заключение. Таким образом, из проанализированных молекулярных событий, ассоциированных с проапоптотическим путем гибели клетки, можно выделить следующие основные мишени токсического действия сернистого иприта на клетки: каспазу-3, каспазу-9, PARP1 и транскрипционный фактор p53, который в данной системе является первичной мишенью и активируется через 6 ч после добавления токсиканта. Активные формы ферментов каспазы-3, каспазы-9 и PARP1 заметно накапливаются в клетках через 24 ч после добавления токсиканта. Активация этих же молекулярных мишеней была отмечена в легочной ткани крыс после ингаляции сернистого иприта [15]. Основным фактором, определяющим дальнейший путь гибели клетки, является концентрация СИ. Высокие концентрации СИ приводят к быстрому истощению внутриклеточного НАД⁺ и АТФ, и невозможности дальнейшего энергозависимого апоптотического пути гибели клетки и гибель клетки происходит по пути некроза. Масштабный некроз, в свою очередь, может приводить к

гиперактивации иммунной системы. Меньшие концентрации СИ могут определять дальнейший апоптотический путь гибели клетки. Более высокий уровень активации фермента каспазы-3 при суточном действии 50 мкМ СИ, чем при действии 100 мкМ СИ, демонстрирует проапоптотическое действие меньших концентраций СИ.

Выявленные молекулярные мишени токсического действия СИ можно использовать в оценке эффективности потенциальных антидотов. В качестве средств фармакологической коррекции при интоксикациях соединениями алкилирующего действия можно рассматривать как соединения класса «биоловушек», содержащие свободные сульфгидрильные группы (N-ацетилцистеин, унитиол, восстановленный глутатион и т.п.), так и соединения, влияющие на молекулярные пути, контролируемые воспаление (ингибитор p38 MAP-киназы SB203580 на 90 % снижает продукцию провоспалительных цитокинов, вызванную СИ [16]). Определение молекулярных событий, вызванных токсическим действием ксенобиотиков, возможно не только в экстрактах, полученных из культур клеток, но и в тканевых экстрактах [17].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подольская Е.П., Бабаков В.Н. Масс-спектрометрия с мягкими методами ионизации в токсикологическом анализе. Научное приборостроение. 2008; 18 (4): 5-12.
2. Краснов И.А., Подольская Е.П., Гончаров Н.В. и др. Идентификация алкилированного аддукта сывороточного альбумина человека методами масс-спектрометрии. Научное приборостроение. 2008; 18 (4): 46-53.
3. Nourani M.R., Mahmoodzadeh Hosseini H., Azimzadeh Jamalkandi S., Imani Fooladi A.A. Cellular and molecular mechanisms of acute exposure to sulfur mustard: a systematic review. J Recept Signal Transduct Res. 2016; 2:1-
4. Debiak M., Kehe K., Burkle A. Role of poly(ADP-ribose) polymerase in sulfur mustard toxicity. Toxicology. 2009; 263:20-5.
5. Byrne M.P., Broomfield C.A., Stites W.E. Mustard gas crosslinking of proteins through

- preferential alkylation of cysteines. J Protein Chem. 1996; 15:131-6.
6. Ghabili K., Agutter P.S., Ghanei M., et al. Sulfur mustard toxicity: history, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. Critical Rev Toxicol. 2011; 41:384-403.
7. Minsavage G.D., Dillman J.F. 3rd. Bifunctional alkylating agent-induced p53 and nonclassical nuclear factor kappaB responses and cell death are altered by caffeic acid phenethyl ester: a potential role for antioxidant/electrophilic response-element signaling. J Pharmacol Exp Ther. 2007; 321:202-12.
8. Rebholz B., Kehe K., Ruzicka T., Rupec R.A. Role of NF-kappaB/RelA and MAPK pathways in keratinocytes in response to sulfur mustard. J Invest Dermatol. 2008; 128(7):1626-32.
9. Dillman J.F. 3rd, McGary K.L., Schlager J.J. An inhibitor of p38 MAP kinase downregulates cytokine release induced by sulfur mustard exposure in

- human epidermal keratinocytes. Toxicol In Vitro. 2004; 18(5):593-9.
10. Schmidt B.Z., Lehmann M., Gutbier S., Nembo E., Noel S., Smirnova L. et al. In vitro acute and developmental neurotoxicity screening: an overview of cellular platforms and high-throughput technical possibilities. Arch Toxicol. 2016; 1-doi:10.1007/s00204-016-1805-9
11. Szymański P., Markowicz M., Mikiciuk-Olasik E. Adaptation of high-throughput screening in drug discovery-toxicological screening tests. Int J Mol Sci. 2012; 13(1):427-
12. Özsvári B., Puskás L. G., Nagy L. I., Kanizsai I., Gyuris M., Madácsi R., et al. A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds. International journal of molecular medicine. 2010; 25(4): 525-30.
13. Jayaraman A., Pike C.J. Progesterone attenuates oestrogen neuroprotection via downregulation of oestrogen receptor

- expression in cultured neurones. J. Neuroendocrinol. 2009; 21(1):77-
14. Tarze A., Deniaud A., Le Bras M., Maillier E., Molle D., Larochette N., et al. GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. Oncogene. 2007; 26(18): 2606-20.
15. Malaviya R., Sunil V.R., Cervelli J., Anderson D.R., Holmes W.W., Conti M.L., et al. Inflammatory effects of inhaled sulfur mustard in rat lung. Toxicol Appl Pharmacol. 2010; 248 (2):89-99.
16. Ruff A.L., Dillman J.F. 3rd Signaling molecules in sulfur mustard-induced cutaneous injury. ePlasty. 2008; 8: 8-22.
17. Тolkach П.Г., Башарин В.А., Колобов А.А., Роговская Н.Ю., Бабаков В.Н. Влияние пептида КК1 на содержание маркеров апоптоза в головном мозге крыс после острой тяжелой интоксикации оксидом углерода. Токсикологический вестник. 2016; (3):10-4.

REFERENCES:

1. Podolskaya E.P., Babakov V.N. Soft ionization mass-spectrometry in toxicological analysis Nauchnoe priborostroenie (Analytical Instrumentation). 2008; 18 (4): 5-12 (in Russian).
2. Krasnov I.A., Podolskaya E.P., Goncharov N.V. et al. Identification of human serum albumin alkylated adduct with mass-spectrometry methods. Nauchnoe priborostroenie (Analytical Instrumentation). 2008; 18 (4): 46-53 (in Russian).
3. Nourani M.R., Mahmoodzadeh Hosseini H., AzimzadehJamalkandi S., Imani Fooladi A.A. Cellular and molecular mechanisms of acute exposure to sulfur mustard: a systematic review. J Recept Signal Transduct Res. 2016; 2:1-
4. Debiak M., Kehe K., Burkle A. Role of poly(ADP-ribose) polymerase in sulfur mustard toxicity. Toxicology 2009; 263:20-5.
5. Byrne M.P., Broomfield C.A., Stites

- W.E. Mustard gas crosslinking of proteins through preferential alkylation of cysteines. J Protein Chem 1996; 15:131-6.
6. Ghabili K., Agutter P.S., Ghanei M., et al. Sulfur mustard toxicity: history, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. Critical Rev Toxicol. 2011; 41:384-403.
7. Minsavage G.D., Dillman J.F. 3rd. Bifunctional alkylating agent-induced p53 and nonclassical nuclear factor kappaB responses and cell death are altered by caffeic acid phenethyl ester: a potential role for antioxidant/electrophilic response-element signaling. J Pharmacol Exp Ther. 2007; 321:202-12.
8. Rebholz B., Kehe K., Ruzicka T., Rupec R.A. Role of NF-kappaB/RelA and MAPK pathways in keratinocytes in response to sulfur mustard. J Invest Dermatol. 2008; 128(7):1626-32.
9. Dillman J.F. 3rd, McGary K.L., Schlager J.J. An inhibitor of p38 MAP kinase downregulates cytokine release induced

- by sulfur mustard exposure in human epidermal keratinocytes. Toxicol In Vitro. 2004; 18(5):593-9.
10. Schmidt B.Z., Lehmann M., Gutbier S., Nembo E., Noel S., Smirnova L., et al. In vitro acute and developmental neurotoxicity screening: an overview of cellular platforms and high-throughput technical possibilities. Arch Toxicol. 2016; 1-33.doi:10.1007/s00204-016-1805-9
11. Szymański P., Markowicz M., Mikiciuk-Olasik E. Adaptation of high-throughput screening in drug discovery-toxicological screening tests. Int J Mol Sci. 2012; 13(1):427-
12. Özsvári B., Puskás L. G., Nagy L. I., Kanizsai I., Gyuris M., Madácsi R., et al. A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds. International journal of molecular medicine. 2010; 25(4): 525-30.
13. Jayaraman A., Pike C.J. Progesterone attenuates oestrogen neuroprotection

N. Yu. Rogovskaya, V.N. Babakov

APOPTOSIS MARKERS ARE MOLECULAR TARGETS OF SULFURE MUSTARD TOXIC ACTION

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663 Leningrad region, Russian Federation

Cellular in vitro test systems, which allow to determine apoptosis activation at different concentrations of sulfur mustard, were proposed. The efficiency of these test systems was evaluated by the action of N-acetylcysteine.

As indicators of toxic effect, were evaluated an integral cytotoxicity and activation of the following targets: poly (ADP-ribose) polymerase (PARP1), caspase-3, caspase-9, transcription factor p53 and other markers of apoptosis in human SH-SY5Y cells extracts after sulfur mustard and sulfur mustard with N-acetylcysteine exposure.

We can distinguished the following main target of sulfur mustard toxic action on the cells: caspase-3, caspase-9, PARP1 and p53 transcription factor, which in this system was the primary target and was activated after 6 h toxicant exposure. The active forms of enzymes caspase-3, caspase-9 and PARP1 significantly accumulate in cells after 24 h toxicant exposure.

Keywords: sulfur mustard, N-acetylcysteine, apoptosis, p53, caspase-3, caspase-9, poly (ADP-ribose) polymerase, cellular test systems.

Переработанный материал поступил в редакцию 07.09.2017 г.

УДК 546.71: 546.74 : 615.916

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛООКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ (НА ПРИМЕРЕ NiO И Mn₃O₄)

И.А. Минигалиева¹, Т.В. Бушueva¹, Э. Фрёлх²,
К. Майндл³, К. Элингер², В.Г. Панов³,
А.Н. Вараксин³, В.Я. Шур⁴, Е.В. Шишкина⁴,
В.Б. Гурвич¹, Б.А. Кацнельсон

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

²Центр медицинских исследований Медицинского университета Граца, г. Грац, Австрия

³Институт промышленной экологии УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация

⁴Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Сравнительная и комбинированная оценка повреждающего действия наночастиц NiO и Mn₃O₄ получена на культурах различных человеческих стабильных клеточных линий. Найдено, что добавление эмбриональной бычьей сыворотки крови (FBS) ко всем использованным культуральным средам делает эти металлооксидные наночастицы (MeO-НЧ), в особенности, Mn₃O₄-НЧ экспоненциально растворимыми, в то время как без FBS их растворимость крайне низка. Вместе с тем, присутствие FBS существенно замедляет седиментацию, связанную с агрегацией этих MeO-НЧ. Показана зависимость повреждения клеток от концентрации MeO-НЧ при более высокой цитотоксичности Mn₃O₄-НЧ по сравнению с NiO-НЧ. Таким образом, сравнительная оценка неспецифической токсичности, полученная ранее в экспериментах «in vivo», воспроизведена «in vitro». Однако по отношению к ранее обнаруженному марганец-специфичному повреждению головного мозга при субхронической интоксикации теми же наночастицами, нынешний эксперимент на нейронах «in vitro» показал лишь некоторое усиливающее влияние Mn₃O₄-НЧ в комбинации с NiO-НЧ, роль которых преобладала.

Ключевые слова: оксид марганца, оксид никеля, наночастицы, токсичность «in vitro»

Введение. В то время как подавляющее большинство опубликованных экспериментальных работ в области нанотоксикологии металлов и металлоидов было проведено «in vitro» на культурах стабильных клеточных линий,

Екатеринбургская межинституциональная нанотоксикологическая группа является одним из первых и всё ещё немногочисленных научных коллективов, с самого начала сосредоточивших свои усилия на изучении общих закономерностей

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

Бушueva Татьяна Викторовна (Bushueva Tatiana Victorovna), кандидат медицинских наук, заведующая Научно-производственным отделом Лабораторно-диагностических технологий ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, bushueva@umrc.ru

Фрёлх Элеонора (Fröhlich Esther Eleonore), доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела «Клеточные технологии» в Медицинском Университете г. Грац, Австрия, eleonore.froehlich@medunigraz.at

Майндл Клавдия (Meindl Claudia), медицинский техник отдела «Клеточные технологии» в Медицинском Университете г. Грац, Австрия, kristin.oehlinger@klinikum-graz.at

Элингер Кристина (Öhlinger Kristin), медицинский техник отдела «Клеточные технологии» в Медицинском Университете г. Грац, Австрия, eleonore.froehlich@medunigraz.at

Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigorievich), кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, vpanov@esko.uran.ru

Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anatoly Nikolayevich), доктор физико-математических наук, профессор лаборатории математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, varaksin@esko.uran.ru

Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich), доктор физико-математических наук, профессор, директор, Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук и математики, ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, vladimir.shur@urfu.ru

Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Yekaterina 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», 620000, г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

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

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, bkatznelson@etel.ru

ностей токсического действия металлических и металлооксидных частиц (MeO-НЧ) на органо-системном уровне «in vivo» [1]. В литературе мы находим только единичные работы, в которых токсичность каких-либо конкретных НЧ на основе обоих подходов, т.е. и «in vitro», и «in vivo» исследовалась одной и той же лабораторией [2, 3].

Единственное известное нам исследование комбинированного цитотоксического действия практически не растворимых частиц, однако, не нанометрового, а микрометрового размера было проведено в нашем коллективе [4]. Микрочастицы диоксида марганца и хромата бария) одним и тем же экспериментатором были исследованы как «in vivo» в интратрахеальном тесте с большим числом цитологических характеристик жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), так и «in vitro» на первичной культуре крысиных перитонеальных макрофагов по потере жизнеспособности в тесте на не-включение красителя «трипановый синий». Цитотоксическое действие изученных микрочастиц по этому показателю было субаддитивным, а из всех цитологических показателей БАЛЖ преимущественно субаддитивным оно было по проценту явно дегенерированных альвеолярных макрофагов.

Других данных о комбинированном действии каких-либо частиц на какие-либо клетки «in vitro» в литературе или через поисковые системы мы не находим. Первое, насколько нам известно, исследование комбинированной токсичности именно наночастиц было проведено нами в экспериментах «in vivo» с NiO-НЧ и Mn₃O₄-НЧ [5, 6]. Естественным было и первое изучение комбинированной цитотоксичности «in vitro» провести на тех же наночастицах, с тем чтобы впервые оценить принципиальную сопоставимость или несопоставимость обсуждаемых экспериментальных подходов.

В литературе можно найти немало исследований, проведенных на различных стабильных клеточных линиях при воздействии на них наночастиц оксида никеля (например, [3], [7-9] или оксидов марганца (например, [10-14]) и направленных, главным образом на изучение молекулярных механизмов цитотоксичности этих НЧ. Однако ни сравнительная количественная оценка их цитотоксичности, ни эффекты их комбинированного действия в этих работах не рассматривались.

Материалы и методы исследования. Свежие суспензии NiO-НЧ и Mn₃O₄-НЧ были приготовлены с помощью лазерной абляции сверхчистых металлических пластин никеля или марганца под слоем деионизированной воды. Физико-химические и геометрические характеристики полу-

ченных MeO-НЧ были теми же, что при проведении субхронических экспериментов «in vivo» [6]. Средний диаметр наночастиц ($\pm\sigma$) равнялся 16,7 \pm 8,2 для NiO и 18,4 \pm 5,4 для Mn₃O₄.

В экспериментах «in vitro» были использованы следующие стабильные линии человеческих клеток: MRC-5 - фибробласты; ТНР-1 - моноциты, а в отдельной серии эксперимента - макрофаги, полученные из них под влиянием преинкубации с форбол миристат ацетатом (по процедуре, описанной у [15]); SH-SY5Y - нейробластомные клетки как с добавлением, так и без добавления ретинола, который стимулирует их дифференциацию в нейрональную клетку [16]. Фибробласты MRC-5 культивировались в среде Minimal Essential Medium (MEM), моноциты и макрофаги ТНР-1 - в среде Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, нейробластомные и нейрональные клетки SH-SY5Y - в среде Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) с добавлением 2mM L-глутамин, 10% эмбриональной бычьей сыворотки (fetal bovine serum - FBS), и 1% пенициллина/стрептомицина.

Суспензии наночастиц (после ультразвуковой обработки в течение 5-7 секунд, которая была необходима для редиспергирования склонных к агрегации Mn₃O₄-НЧ, но осуществлялась и для NiO-НЧ), вносились в различных объемах изолированно или совместно при различных дозовых соотношениях в культуру, посеянную на 96-луночных плашках. Клетки культивировались при 37 \pm 1°C и 5% CO₂. Введение наночастиц во все культуры, кроме не дифференцированной ТНР-1, осуществлялось через 24 часа после посева (то есть уже после образования монослоя), а в не образующую монослоя культуру моноцитов ТНР-1 - сразу же после её посева. Все варианты экспозиции испытывались в 4 повторностях.

Цитотоксический эффект как изолированно, так и комбинированного действия изученных MeO-НЧ количественно оценивался с двух тестов. Titer Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega), основан на том, что чем большее количество АТФ в культуре теряет метаболическую активность, тем слабее люминесцентный сигнал, генерируемый этой культурой в присутствии особого реагента. Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega), основан на том, что живые клетки способны восстанавливать производные тетразолия до формазана, которое растворяется в среде инкубации, где его концентрация, измеренная по поглощению света при длине волны 490 нм, пропорциональна числу жизнеспособных клеток в культуре.

В отдельной серии экспериментов на клетках линии SH-SY5Y исследовалось также (с помощью иммунохимической техники вестерн-блот-

тинга) влияние наночастиц на содержание тирозингидроксилазы – фермента, контролирующего биосинтез катехоламинов (норадреналина и адреналина), играющих важную роль нейромедиаторов в межнейрональной передаче возбуждения в ЦНС.

Эксперименты на клетках были проведены на базе Центра медицинских исследований Медицинского университета Граца (Австрия) при непосредственном участии первых 5 авторов статьи. Наночастицы для этих экспериментов были получены в Уральском Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии» (УрФУ, Екатеринбург); там же проводились эксперименты для изучения растворения и седиментации наночастиц в культуральных средах. Анализ всех экспериментальных результатов и его обсуждение осуществлялись всем авторским коллективом.

Результаты и обсуждение.

Поведение наночастиц в среде инкубации. Авторами многочисленных нанотоксикологических исследований «in vitro» крайне редко уделяется должное внимание тому, что происходит с самими MeO-НЧ за время инкубации в той или иной культуральной среде. Между тем, понимание этого является важнейшим условием правильной токсикологической интерпретации показателей повреждения инкубируемых вместе с ними клеток. В первую очередь, необходимо оценить, не происходят ли такие изменения наночастиц, которые едва ли имеют место «in vivo», но могут существенно исказить цитотоксический эффект «in vitro» (прежде всего, существенная внеклеточная агрегация, препятствующая проникновению первичных наночастиц внутрь не фагоцитирующих клеток). С другой стороны, важно знать, происходит ли в среде инкубации то постепенное растворение MeO-НЧ, не растворимых в водной суспензии, которому придаётся существенная роль в токсикокинетике и токсикодинамике интоксикаций, вызываемых ими «in vivo», и как этот процесс зависит от химической природы наночастиц и от состава культуральной среды.

Судя по опыту, накопленному Екатеринбургской группой, все изученные ею Me-НЧ и особенно MeO-НЧ, будучи практически не растворимыми в де-ионизированной воде, а иногда и в физиологическом растворе, обладают заметной и при том неодинаковой растворимостью при добавлении к ней FBS или супернатанта БАЛЖ. Кинетика такого растворения обычно может быть адекватно описана экспоненциальной функцией (например, [17]), что вероятнее всего, объясняется первоначальным относительно быстрым растворением мельчайших наночастиц, приводящим к постепенному снижению удель-

ной поверхности остающейся нано-суспензии. Соответствующие различия растворимости «in vivo», характеризующие MeO-НЧ, разные по размеру или по химическому составу, естественно отражаются различиями их токсикокинетики, что, в частности, показано при сопоставлении эффектов действия NiO-НЧ и Mn₃O₄-НЧ на органосистемном уровне [6], [18]. Всё это придаёт особое значение вопросу о том, воспроизводятся ли указанные закономерности в экспериментальных моделях цитотоксичности тех же MeO-НЧ «in vitro».

С этой целью, свежеприготовленные суспензии MeO-НЧ после недельного хранения (воспроизводящего вынужденный интервал между изготовлением таких же суспензий в Екатеринбурге и началом работы с ними на клетках в Граце) смешивались в равном объёме с образцами всех вышеперечисленных культуральных сред. Концентрация суспензии измерялась периодически на протяжении 12 часов по интегральному светопоглощению, причём перед каждым измерением суспензия повторно подвергалась ультра-озвучиванию, с тем чтобы свести к минимуму эффект агрегации и связанного с нею осаждения наночастиц).

Было найдено, что во всех средах с добавлением FBS оба вида изучаемых MeO-НЧ постепенно растворяются с кинетикой, аппроксимируемой экспоненциальной функцией $A(t) = A_1 \cdot \exp(-t/\tau) + A_\infty$, где $A(t)$ - показатель светопоглощения на определённый момент времени t в часах, причём параметры этого уравнения (постоянная времени τ и предел A_∞) мало зависят от типа среды, но довольно существенно – от вида наночастиц (табл. 1). При этом важно отметить, что растворение Mn₃O₄, как и в предыдущих наших исследованиях на модельных средах и «in vivo», происходило быстрее, чем растворение NiO.

Вместе с тем, как видно из той же таблицы 1, без добавления FBS к среде растворение обоих видов MeO-НЧ значительно менее выражено и в большинстве случаев ничтожно мало. Можно предположить, что ионы металлов, выходящие с поверхности твёрдого тела (в данном случае, наноразмерного) в жидкую среду, секвестрируются в результате связывания сывороточными белками, в результате чего снижается концентрация свободных ионов в растворе и тем самым – вероятность их реабсорбции той же поверхностью. Поэтому в присутствии FBS баланс между этими двумя противоположно направленными процессами сдвигается в сторону первого.

Таким образом, в отношении сравнительной растворимости двух изученных MeO-НЧ и её кинетики, условия воздействия на клетку «in vitro» в принципе соответствуют условиям «in vivo»,

Снижение концентрации наночастиц в течение 12 часов в результате растворения в культуральных средах

Среда	NiO-НЧ			Mn ₃ O ₄ -НЧ		
	A [∞]	τ, час	(A1-A12)/A1, %	A [∞]	τ, час	(A1-A12)/A1, %
RPMI	1,00	>12	2,4	1,00	>12	3,4
RPMI +FBS	0,80	0,4	20,5	0,66	1,24	33,8
DMEM	1,00	>12	3,9	1,00	>12	-2,9
DMEM + FBS	0,81	0,22	20,2	0,72	1,31	27
MEM	1,00	>12	2,9	0,88	0,35	12,5
MEM + FBS	0,80	0,4	21,8	0,7	1,8	31,6

но только если культуральная среда содержит FBS. Можно думать, что рассмотренное влияние белка ещё более выражено «in vivo», поскольку если добавление 10% FBS создаёт концентрацию белка в среде всего около 5 мг/мл, то в большинстве жидкостей тела она намного выше: например, в перитонеальном трансудате 30 мг/мл, а в плазме крови 600-800 мг/мл [19]. Правда, по нашим собственным данным, внеклеточная фракция БАЛЖ содержит значительно меньше белка, чем культуральные среды с внесением FBS, однако, в случае БАЛЖ ту же роль может играть образование стабильных комплексов металла с фосфолипидами [20].

Вместе с тем, добавление FBS к тем же средам явно стабилизирует нано-суспензию, судя по кинетике снижения её концентрации, измерившейся тем же способом, но без повторного редиспергированная ультразвуком – то есть за счёт осаждения концентрации в результате образования крупных НЧ-агрегатов. Так, например, если в среде RPMI без добавления FBS NiO-НЧ осаждаются за 24 часа полностью, то в той же среде с FBS только на 11-16%. Этот факт, вероятнее всего, связан с хорошо известным образованием так называемой «короны» в результате сорбции белка на поверхности наночастиц, которая препятствует их агрегации, а тем самым - их седиментации¹.

Таким образом, можно считать, что в нано-токсикологических экспериментах с любыми кле-

точными культурами добавление FBS к соответствующей среде является необходимым условием адекватности экспериментальной модели.

Однофакторные зависимости доза-ответ.

Во всех наших экспериментах на клеточных культурах для уравнений, аппроксимирующих зависимости доза – эффект (или ответ) с помощью линейной ($Y = b_0 + b_1X$), лог-линейной ($Y = \exp(b_0 + b_1X)$) и гиперболической ($Y = (b_0 + b_1X) / (b_2 + b_3X)$) функций, были найдены статистически значимые коэффициенты b_i . Поэтому мы выбирали как наиболее адекватную математическую модель этой зависимости ту функцию, для которой сумма квадратов отклонений модельных значений X от найденных в эксперименте показателей цитотоксичности при разных дозах НЧ была минимальной. Примеры найденных зависимостей (рис. 3 и 4) показывают, что они не зависели от конкретного теста на цитотоксичность. В частности, совпадающий характер функции доза-эффект для конкретных MeO-НЧ в двух тестах, существенно разных по механизму образования регистрируемых физических показателей, не удивителен, если учесть взаимосвязанность молекулярно-биологических механизмов, обуславливающих соответствующие эффекты. Действительно, био-восстановление тетразолия до формазана контролируется в значительной степени митохондриальной сукцинат-дегидрогеназой², а между тем, именно в митохондриях происходит то окислительное фосфорилирова-

¹ Выраженное стабилизирующее действие присуще и жидкой фракции БАЛЖ, добавление которой довольно давно было рекомендовано в качестве «улучшенного метода диспергирования наночастиц для исследования их токсичности in vitro и in vivo» [23].

² Это является общепринятой предпосылкой всех тестов, основанных на восстановлении тетразолия до формазана (например, в широко распространённом МП тесте на жизнеспособность клеток или в регулярно используемом нами показателе СДГ-активности лимфоцитов крови при различных интоксикациях). Интересно, что при описании методики эксперимента с наночастицами оксида марганца и культурой клеток РС-12 авторы [10] утверждают, что они использовали тест ММТ, именно как показатель митохондриальной функции, хотя на самом деле не-митохондриальная сукцинат-дегидрогеназа тоже участвует в указанном восстановлении [24].

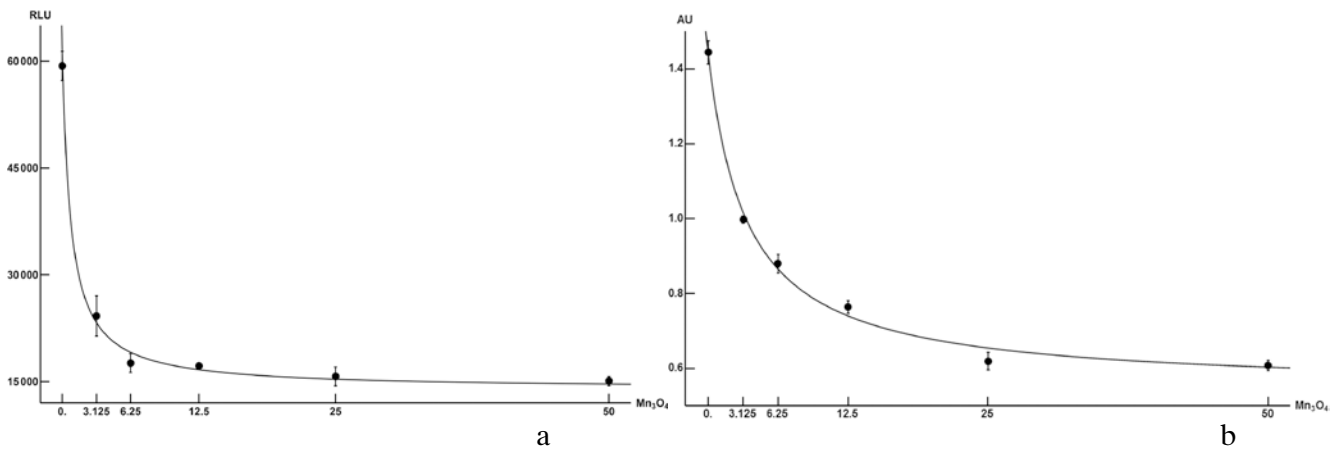


Рис. 1. Зависимость доза-эффект и фактические средние значения эффекта (со статистической ошибкой) после инкубации фибробластов MRC-5 с Mn_3O_4 -НЧ (а) для интенсивности люминесцентного сигнала (ось X - концентрация наночастиц, мкг/мл; ось Y - Relative Light Units (RLU) - относительные световые единицы); (б) для концентрации формазана в среде (ось X - концентрация наночастиц, мкг/мл; ось Y - Absorbance Units (AU), единицы светопоглощения).

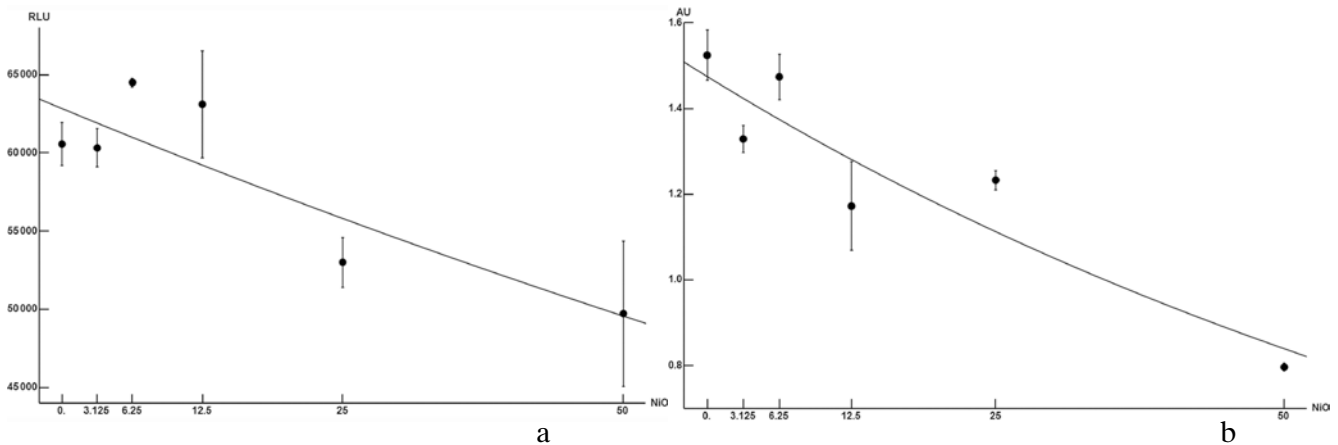


Рис. 2. Зависимость доза-эффект и фактические средние значения эффекта (со статистической ошибкой) после инкубации фибробластов MRC-5 с NiO -НЧ (а) для интенсивности люминесцентного сигнала (ось X - концентрация наночастиц, мкг/мл; ось Y - Relative Light Units (RLU) - относительные световые единицы); (б) для концентрации формазана в среде (ось X - концентрация наночастиц, мкг/мл; ось Y - Absorbance Units (AU), единицы светопоглощения).

ние, при угнетении которого снижается образование АТФ и, следовательно, люминесцентный сигнал в тесте Titer Glo Luminescent Cell Viability. То, что разные по составу металлооксидные НЧ, действуя раздельно или в комбинации вызывают «in vivo» неодинаковые по тяжести, но качественно однотипные ультраструктурные повреждения митохондрий показано на других MeO -НЧ, однако токсичность на митохондриальном уровне («митотоксичность»), очевидно, присуща многим ядам, в том числе, тяжёлым металлам [25].

Однако показанной этими же примерами (рис. 1 и 2) предпочтительности той или иной функциональной зависимости для описания результатов эксперимента с NiO -НЧ или с Mn_3O_4 -НЧ во всех вариантах эксперимента в целом выявлено не было (можно лишь сказать, что гиперболическая и лог-линейная модели были более адекватными, чем линейная).

Необходимо подчеркнуть, что обнаружение достоверной зависимости эффекта от дозы имеет несомненное токсикологическое значение, являясь важнейшим подтверждением причинно-следственной связи между тем или иным отклонением состояния биологической системы и каким-то внешним воздействием на ней. С этой точки зрения, экспериментальная модель цитотоксичности наночастиц «in vitro» получила ещё одно подтверждение токсикологической адекватности (во всяком случае, для двух испытанных видов MeO -НЧ). Однако, хотя и можно предположить, что конкретная форма математической модели этой зависимости иногда отражает какие-то биологические механизмы токсичности, обнаружить детерминированность такой модели свойствами конкретного вида MeO -НЧ на нашем материале пока не удалось.

При сопоставлении рисунков 1 и 2 легко заметить также, что эффекты действия NiO-НЧ начинают быть явными при значительно больших дозах, чем аналогичные эффекты действия Mn₃O₄-НЧ. Между тем, по большому числу интегральных показателей сравнительной субхронической токсичности «in vivo» мы так же оценили Mn₃O₄-НЧ как преимущественно более токсичный, чем NiO-НЧ [6]. Однако, судя по цитологическим и биохимическим показателям БАЛЖ после однократного интратрахеального введения соотношение между этими двумя MeO-НЧ было обратным [5] – вероятно, потому, что менее БАЛЖ-растворимые NiO-НЧ сохраняются в глубоких дыхательных путях в большем количестве. Таким образом, несмотря на всё сказанное выше об адекватности условий НЧ-экспозиции клеточной модели, информативность сравнительной оценки токсичности «in vitro» для прогнозирования сравнительной оценки токсичности тех же MeO-НЧ «in vivo» оказывается существенно ограниченной. Ещё менее верным, как будет показано ниже, мог бы оказаться такой прогноз в случае комбинированного воздействия и, что делает его особенно ненадёжным, - по металло-специфической токсичности.

Комбинированная цитотоксичность наночастиц NiO и Mn₃O₄ «in vitro».

Как и во всех рассмотренных нами за последние годы экспериментальных моделях бинарного комбинированного действия различных MeO-НЧ (в том числе, NiO-НЧ и Mn₃O₄-НЧ) на крыс, в опытах на человеческих стабильных

клеточных линиях разной природы мы нашли, что комбинированная цитотоксичность (КЦТ) «in vitro» не может быть однозначно характеризована как аддитивная, субаддитивная или супераддитивная. Эта неоднозначность классификации КЦТ не связана с особенностями используемых тестов, поскольку мы её обнаруживаем даже при оценке эффекта одним и тем же методом (например, Cell Titer Glo Luminescent Cell Viability Assay). Математическое моделирование КЦТ с помощью той же самой Surface Response Methodology, которая использовалась для анализа комбинированного действия MeO-НЧ «in vivo» (Katsnelson, Minigalieva et al. 2015), показало, что форма и наклон изоболограмм зависят от типа клетки, от дифференциации нейробластомных клеток в нейрональные или моноциты – в макрофаги) и от концентрации MeO-NP в среде инкубации. Изоболограммы, представленные на рисунке 3, иллюстрируют сказанное на примере клеток линии THP-1 в форме моноцитов или макрофагов.

При сравнении представленных этим рисунком изоболограмм (b) и (c) нельзя попутно не отметить, что цитотоксичность как Mn₃O₄-НЧ, так и NiO-НЧ для монослойной культуры макрофагов выше, чем для культуры «плавающих» моноцитов. Можно предположить, что это связано не с большей чувствительностью первых к повреждающему действию наночастиц, а с большей «жадностью» их фагоцитарного захвата. Известно (например [26]), что прилипание макрофага к пластиковой поверхности является одним из факторов, спо-

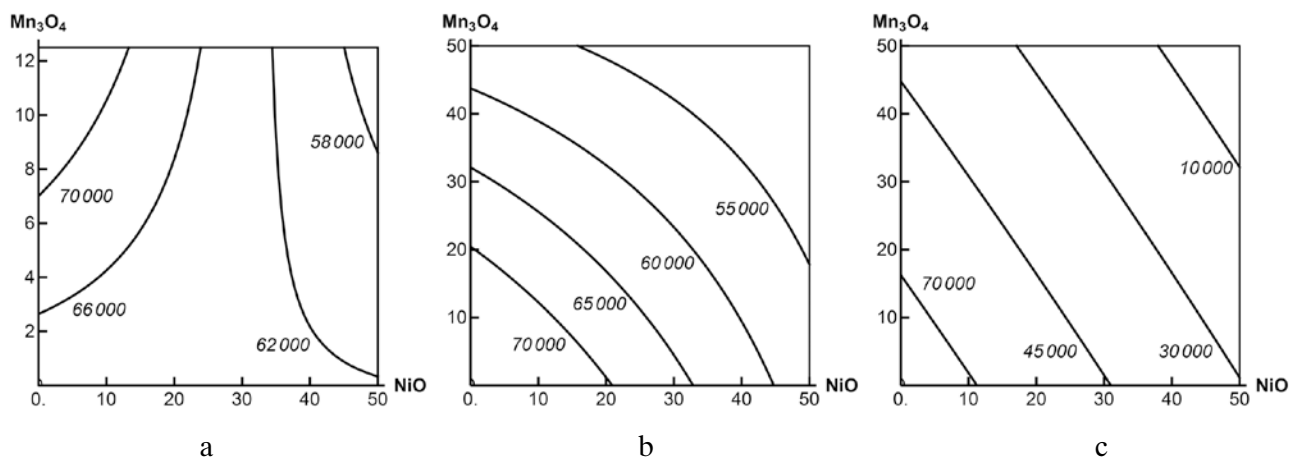


Рис. 3. Примеры изоболограмм, характеризующих КЦТ наночастиц NiO-НЧ и Mn₃O₄-НЧ по эффекту снижения люминесцентного сигнала в трёх экспериментах на клетках линии THP-1: (а) при низких дозах Mn₃O₄ действие на моноциты противонаправленное по отношению к действию низких доз NiO, но однонаправлено супераддитивное по отношению к действию высоких доз NiO; (b) на таких же моноцитах при высоких дозах обоих видов MeO-НЧ видна субаддитивность однонаправленного действия; (с) при тех же дозах, но на макрофагах видна аддитивность однонаправленного действия. На осях концентрация NiO and Mn₃O₄ в мкг/мл, на кривых – та величина эффекта в RLU, на уровне которой данная изоболограмма получена.

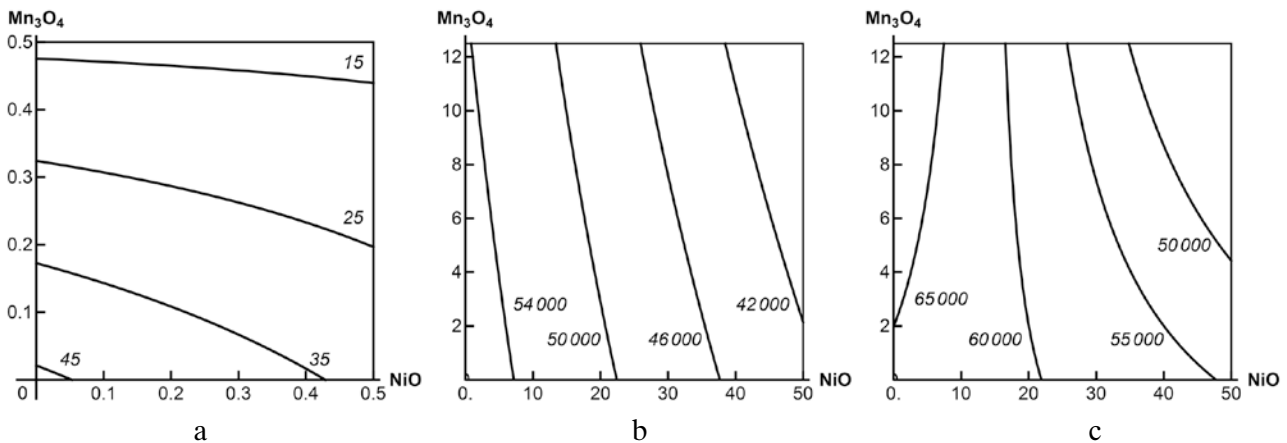


Рис. 4. Примеры изоболограмм, иллюстрирующие несовпадение оценок типа комбинированной токсичности в экспериментах «in vivo» и «in vitro»: (а) в субхроническом эксперименте на крысах по эффекту снижения не повреждённых нейронов в гиппокампе СА1 (небольшая тенденция к аддитивности при преобладании однофакторного действия наночастиц Mn_3O_4); (б) в эксперименте на клетках линии SH-SY5Y без ретинола по эффекту снижения люминесцентного сигнала (незначительная аддитивность при преобладании однофакторного действия наночастиц NiO); (с) в таком же эксперименте в присутствии ретинола (тенденция супераддитивности на высоких уровнях эффекта, но вновь при преобладании однофакторного действия наночастиц NiO). На осях доза в мг на крысу или концентрация NiO и Mn_3O_4 в среде, мкг/мл, на кривых – та величина эффекта, на уровне которой данная изоболола получена.

собствующих его переходу в особое состояние активации, важным проявлением которого является повышенная фагоцитарная активность клетки. Кроме того, она может быть дополнительно повышена под влиянием продуктов разрушения погибших макрофагов [27].

Если общая закономерность комбинированной токсичности, заключающаяся в неоднозначности её типа в зависимости от многих факторов, неоднократно подтверждавшаяся в наших исследованиях «in vivo», была безусловно выявлена и в первом же исследовании КЦТ на клеточных культурах, то воспроизводимости конкретного типа комбинированного действия мы не получили. Особенно важно то, что это несовпадение оценок, получаемых «in vitro» и «in vivo», касается и того нейротоксического эффекта, который для данной комбинации является одним из наиболее важных и по отношению к которому мог бы быть выбран «основной» или «определяющий» тип комбинированной токсичности для принятия решений в сфере оценки риска [28]. Не было найдено по этому специфическому эффекту и соответствия сравнительных оценок токсичности NiO-НЧ и Mn_3O_4 -НЧ.

Действительно, повреждение нейронов в хвостатом ядре и гиппокампе мозга крыс при субхронической комбинированной интоксикации теми же двумя MeO-НЧ было обусловлено в основном характерным для всех соединений марганца нейротоксическим действием наночастиц его оксида. При этом NiO-НЧ несколько усиливали это действие по типу аддитивной или субаддитивной комбинированной токсич-

ности, пример чего воспроизведен рисунком 4(а). Вместе с тем, как видно из рисунков 4(б) и 4(с), повреждение той же комбинацией «in vitro» как нейробластомных клеток линии SH-SY5Y, так и производных от неё в присутствии ретинола нейрональных клеток определялось преимущественно действием NiO-НЧ, а сопутствующее действие Mn_3O_4 -НЧ его лишь несущественно усиливало.

При этом в экспериментах на нейрональных клетках – производных линии SH-SY5Y (т.е. в присутствии ретинола) было найдено, что такой парадоксальный тип комбинированной токсичности NiO и Mn_3O_4 характерен не только для неспецифического эффекта гибели клетки, но и для такого важного специфического именно для нейронов функционального эффекта как уменьшение тирозин-гидроксилазной активности³. Как видно из рисунка 5, и в этом случае явно преобладает однофакторное действие оксида никеля, а оксид марганца лишь незначительно потенцирует его.

Таким образом, если в исследовании на целостном организме мы получили экспериментальный коррелят марганцевого паркинсонизма, то трактовать с точки зрения системно-организменной токсикологии результаты эксперимента на нейрональной клеточной линии

³ Этот эффект выбран в качестве маркера потому, что тирозин-гидроксилаза является ферментом, активность которого лимитирует синтез дофамина, и его дефициту приписывается главная роль в развитии болезни Паркинсона [29], а для её изучения в экспериментах «in vitro» предпочтение отдаётся именно дифференцированным клеткам линии SH-SY5Y [30].

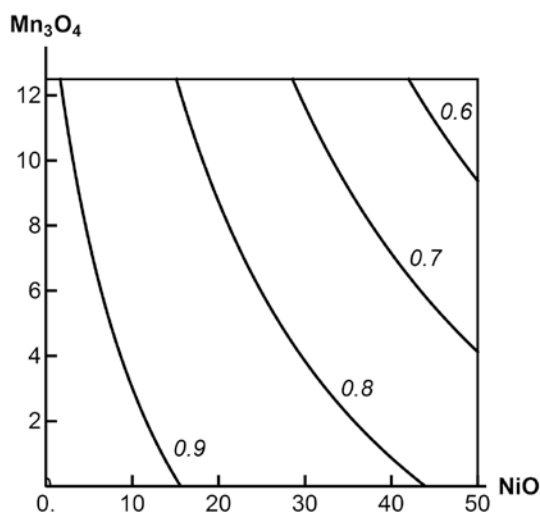


Рис. 5. Изоболограмма, характеризующая комбинированное действие наночастиц Mn_3O_4 -НЧ и NiO-НЧ на активность тирозин-гидроксилазы в культуре клеток линии SH-SY5Y (с ретинолом), выраженную как отношение к активности в контрольной культуре. Слабая тенденция к супераддитивности при преобладании однофакторного действия наночастиц NiO. На осях концентрация NiO and Mn_3O_4 в мкг/мл, на кривых – та величина эффекта на уровне которой данная изоболограмма получена.

затруднительно. Подобного рода трудности ещё значительнее, когда речь идёт об экстраполяции на целостный организм результатов комбинированного воздействия, полученных на клетках, имеющих ещё меньшее отношение к основному органу-мишени (например, на моноцитах/макрофагах или на фибробластах).

Выводы. 1. Для гигиенической оценки сравнительной неспецифической токсичности металлооксидных наночастиц предварительный скрининг на культурах, стабильных клеточных линий при добавлении FBS к среде инкубации

создаёт в целом адекватную экспериментальную модель и может иметь ограниченное прогностическое значение.

2. Для гигиенически и профпатологически значимой оценки комбинированной токсичности металлооксидных наночастиц эксперименты на целостном организме лабораторных животных, вероятнее всего, являются более информативным методом, чем эксперименты на клеточных культурах, даже имеющих биологическое родство с основным органом-мишенью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Loginova N.V., Minigaliev I.A. et al. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). *International J. Nanomedicine*. 2015; 10: 3013-3029
2. Chen Q., Xue Y., Sun J. Kupffer cell-mediated hepatic injury induced by silica nanoparticles in vitro and in vivo. *Int J Nanomed*. 2013; 8, 129-1140.
3. Horie M., Fukui H., Nishio K., Endoh S., Kato H., Fujita K. et al. Evaluation of acute oxidative stress induced by NiO nanoparticles in vivo and in vitro. *J Occup Health*. 2011; 53: 64-74.
4. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Panov V.G., Balesin S.L. The pulmonary phagocytosis response to separate and combined impacts of manganese (IV) and chromium (VI) containing particulates. *Toxicology*. 2016; 370: 78-85
5. Кацнельсон Б. А., Минигалиева И. А., Привалова Л. И., Сутункова М. П., Гурвич В. Б., Шур В. Я. и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и её ослабление биопротекторной премедикацией. *Токс. Вестник*. 2014; 6: 8-14/ Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y. et al. Lower airways response to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. *Toxicological Review*, 2014; 6 (129): 8-14(in Russian).
6. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food Chem. Toxicol*. 2015a; 86: 351-364
7. Pietruska J. R., Liu X., Smith A., McNeil K., Weston P., Zhitkovich A., Hurt R., Kane A. B. Bioavailability, intracellular mobilization of nickel, and HIF-1 alpha activation in human lung epithelial cells exposed to metallic nickel and nickel oxide nanoparticles. *Toxicol Sci*. 2011; 124: 138-148.
8. Ahamed M., Ali D., Alhadlaq H. A., Akhtar M. J. Nickel oxide nanoparticles exert cytotoxicity via oxidative stress and induce apoptotic response in human liver cells (HepG2). *Chemosphere*. 2013; 93: 2514-2522.
9. Duan W. X., He M. D., Mao L., Qian F. H., Li Y. M., Pi H. F. et al. NiO nanoparticles induce apoptosis through repressing SIRT1 in human bronchial epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015; 286(2):80-91.
10. Hussain S.M., Javorina A.K., Schrand A.M., Duhart E.M., Ali S.F., Schlager J.J. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. *Toxicol. Sciences*. 2006; 92: 456-463
11. Choi J.Y., Lee S.H., Na H.B., An K., Hyeon T., Seo T.S. In vitro cytotoxicity screening of water-dispersible metal oxide nanoparticles in human cell lines. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2010; 33: 21-30
12. Ivask A., Titma T., Visnapuu M., Vija H., Kakinen A., Sihtmaa M. et al. Toxicity of 11 metal oxide nanoparticles to three mammalian cell types in vitro. *Curr Top Med Chem*. 2015; 15:1914-1929.
13. Khan S., Ansari A.A., Khan A.A., Abdulla M., Al-Obeed O., Ahmad R. In vitro evaluation of anticancer and biological activities of synthesized manganese oxide nanoparticles. *Med. Chem. Commun*. 2016; 7: 1647-1653
14. Alarifi S., Ali D., Alkhatani S. Oxidative stress-Induced DNA damage by manganese dioxide nanoparticles in human neuronal cells. *Hindawi BioMed Research International*, 20Vol. 2017, Article ID 5478790, 10 pages
15. Chanput W., Peters V., Wichers H. THP-1 and U937 Cells. Chapter 14 of "The impact of food bioactives on health: in vitro and ex vivo models" (Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., Wichers, H., Eds., Springer International Publishing), 2015; 147-159
16. Kovalevich J., Langford D. Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology. *Methods Mol Biol*. 2013; 1078: 9-21
17. Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyshva L.K., Shur V.Ya. et al. On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure. *Toxicology*. 2016; 363: 19-28
18. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y. et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int. J. of Mol. Sci*. 2015; 16 (9): 22555-22583
19. Barber B.J., Schultz T.J., Randlett D.L. Comparative analysis of protein content in rat mesenteric tissue, peritoneal fluid, and plasma. *Am J Physiol*. 1990; 258: 714-718.
20. Stewart Hendrickson H., Fullington J. G. Stabilities of metal complexes of phospholipids: Ca(II), Mg(II), and Ni(II) complexes of phosphatidylserine and

triphosphoinositide. *Biochemistry*. 1965; 4: 1599-1605

21. del Pino P., Pelaz B., Zhang Q., Maffre P., Nienhaus G.U., Parak W. J. Protein corona formation around nanoparticles – from the past to the future. *Mater. Horiz.* 2014; 1: 301-313

22. Zhdanov V.P., Cho N.J. Kinetics of the formation of a protein corona around nanoparticles. *Math Biosci.* 2016; 282: 82-90

23. Sager T.M., Porter D. W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry D.E. Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles for in vitro

and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicology*. 2007; 1: 118-129

24. Bernas T., Dobrucki J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. *Cytometry*. 2002; 47:236-242

25. Meyer J.N., Leung M.K.L., Rooney J.P., Sandoel A., Hengartner M.O., Kisbey G.E. at all. Mitochondria as a target of environmental toxicants. *Toxicol Sci.* 2013; 134: 1-17

26. Kelley J.L., Rozek M.M., Suenram C.A., Schwartz C.J. Activation of human blood monocytes by adherence to tissue

culture plastic surfaces. *Exp.Mol. Pathol.* 1987; 46(3): 266-78.

27. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova. N.Y., Kislitsina N.S. On the relationship between activation and breakdown of macrophages in the pathogenesis of silicosis (an overview). *Med.Lavoro*. 1995; 86: 511-521

28. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Gurchich V.B., Privalova L.I. at all. Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment.

A summary of results obtained by the Ekaterinburg research team. *Toxicology Reports*. 2017b; 4C. 194-201

29. ZhuY., Zhang J., Zeng Y. Overview of tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2012; 11: 350-358

30. Khwanraj K., Phruksaniyom C., Madlah S., Dharmasaroja P. Differential expression of tyrosine hydroxylase protein and apoptosis-related genes in differentiated and undifferentiated SH-SY5Y neuroblastoma cells treated with MPP+. *Neurology Research International*, 2015: article ID 734703

I.A. Minigaliev¹, T.V. Bushueva¹, E. Fröhlich², C. Meindl², K. Öhlinger², V.G. Panov³, A.N. Varaksin³, V.Ya. Shur⁴, E.V. Shishkina⁴, V.B. Gurchich¹, B.A. Katsnelson¹

SOME ASPECTS OF METAL OXIDE NANOPARTICLES TOXICITY ASSESSMENT ON CELL CULTURES AS EXEMPLIFIED BY NiO AND Mn₃O₄

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

² Center for Medical Research of the Medical University of Graz, Graz, Austria

³Institute of Industrial Ecology, the Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

⁴School of Natural Sciences and Mathematics, the Ural Federal University, 620000, Ekaterinburg, Russian Federation

Comparative and combined damaging actions of NiO and Mn₃O₄ nanoparticles were estimated on cultures of different established human cell lines. It was found out that the addition of the fetal bovine serum (FBS) to the culture media, used in the investigation, renders NiO-NPs and, to even a greater extent, Mn₃O₄-NPs exponentially soluble while without FBS their dissolution was extremely low. Along with it, sedimentation of those MeO-NPs caused by their aggregation noticeably slowed down in the presence of the same FBS. The dependence of cell damage on the MeO-NPs concentration was found out, at a higher cytotoxicity of Mn₃O₄-NP as compared to NiO-NP. Thus, comparative assessment of NPs non-specific toxicity previously obtained in animal experiments was reproduced in the «in vitro» tests. However, with respect to manganese-specific brain damage «in vivo» discovered previously in sub-chronic intoxication with the same MeO-NPs, the present «in vitro» experiment on neurons only showed a certain enhancing effect of Mn₃O₄-NP on the action of NiO-NP, but the role of NiO-NP in the combination prevailed.

Keywords: manganese oxide, nickel oxide, nanoparticles, in vitro toxicity.

Материал поступил в редакцию 01.08.2017 г.



УДК 615.917:547.21

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СМЕСИ ПРЕДЕЛЬНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ C₆-C₁₀ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

А.С. Радилов¹, И.Е. Шкаева¹,
С.А. Солнцева¹, О.С. Никулина¹,
А.И. Николаев¹, Х.Х. Хамидулина^{2,3},
В.Б. Попов¹, Г.А. Протасова¹

¹ФГУП «Научно-исследовательский институт
гигиены, профпатологии и экологии человека»
ФМБА России, 188663, Ленинградская область,
г.п. Кузьмооловский, Российская Федерация

²ФБУЗ «Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических веществ»
Роспотребнадзора, 117105, г. Москва,
Российская Федерация

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская
академия непрерывного профессионального
образования», 125993, г. Москва, Российская
Федерация

Проведена оценка токсичности и опасности смеси нормальных предельных углеводородов C₆-C₁₀ (гексан, гептан, октан, нонан, декан) при однократном и хроническом поступлении в организм. Показано, что по параметрам острой токсичности смесь является малоопасной, обладает умеренно выраженным раздражающим действием на слизистую оболочку глаз и кожу лабораторных животных и слабым кожно-резорбтивным эффектом. Порог однократного ингаляционного действия (Limac) по резорбтивному эффекту установлен на уровне 5250 мг/м³. При длительном 90-суточном ингаляционном непрерывном воздействии смесь C₆-C₁₀ в концентрации 160 мг/м³ оказывала нейротоксическое, гепатотоксическое, эмбриотоксическое действие. Пороговая концентрация смеси в хроническом эксперименте (Limch) установлена на уровне 31,4 мг/м³, недействующая – 5,2 мг/м³. Пороговая концентрация смеси по рефлекторному действию определена на уровне 280 мг/м³. По итогам проведенных исследований смесь предельных углеводородов C₆-C₁₀ отнесена к 3 классу опасности, обоснованы предельно допустимые концентрации (ПДК) в атмосферном воздухе населенных мест - среднесуточная по резорбтивному эффекту – 5 мг/м³, максимальная разовая по рефлекторному действию – 50 мг/м³.

Ключевые слова: предельные углеводороды, смесь, токсичность, опасность, ингаляция, предельно допустимая концентрация, атмосферный воздух.

Введение. Среди веществ, загрязняющих атмосферный воздух, существенное значение имеют смеси углеводородов, основным источником которых являются предприятия по переработке нефти и нефтепродуктов.

Анализ литературных сведений о токсичности компонентов смеси предельных углеводородов нормального строения C₆-C₁₀ показал, что изучаемые соединения при однократном посту-

плении в организм являются малоопасными, однако при длительном воздействии вызывают нарушение деятельности нервной, дыхательной, сердечно-сосудистой систем, поражение печени [1 – 4]. Среди компонентов смеси особого внимания заслуживает гексан в связи с нейротоксическим действием продуктов его метаболизма, в частности, 2,5-гександиона. Для гексана в атмосферном воздухе населенных мест установле-

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

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

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

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

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

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

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

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

Таблица 1

Состав исследуемой смеси предельных углеводородов*

Компоненты смеси нормальных алканов C6-C10 (масс.%)				
C6H14	C7H16	C8H18	C9H20	C10H22
16,3	65,3	16,3	1	1

Примечание* - Наиболее характерные соотношения углеводородов при загрязнении атмосферного (воздуха).

на максимальная разовая ПДК – 60 мг/м³ [5], гигиенические нормативы для смеси предельных углеводородов C₆-C₁₀ и большинства отдельных ее компонентов в атмосферном воздухе отсутствуют, что определило актуальность проведенных исследований.

Цель работы – изучение токсического действия смеси нормальных предельных углеводородов C₆-C₁₀ в условиях однократного и хронического поступления в организм и обоснование предельно допустимой концентрации для атмосферного воздуха населенных мест.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлась смесь предельных углеводородов нормального строения C₆-C₁₀ (табл.1).

При температуре 20°C и нормальном атмосферном давлении данная смесь представляет собой бесцветную жидкость с выраженным специфическим запахом.

Экспериментальные исследования проводили в соответствии с «Методическими указаниями по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест», а также с учетом другой методической документации [6 – 8] по гигиеническому нормированию химических веществ. Определяли пороговые и недействующие уровни изучаемых соединений по резорбтивному (общетоксическому) действию и рефлекторному эффекту (реакции со стороны рецепторов верхних дыхательных путей).

Резорбтивное действие данной смеси изучали на теплокровных животных при различных путях поступления в организм: энтеральном, внутрибрюшинном, нажном и ингаляционном.

Моделирование ингаляционного воздействия смеси проведено в стальных герметичных камерах объемом 0,60 м³, снабженных приточно-вытяжной вентиляцией и освещением. Смесь подавали в камеры с помощью дозаторов, позволяющих точно регулировать и постоянно поддерживать заданную концентрацию в течение эксперимента. Для создания в воздухе затравочных камер заданных концентраций смеси специально сконструированы дозирующие устройства, состоящие из электромагнитного

клапана для программируемой подачи жидкой смеси в нагреватель, нагревательного элемента из кварцевого стекла и газораспределительного устройства.

При создании больших концентраций смесь, попадая на нагревательный элемент, испарялась, смешивалась с регулируемым потоком воздуха и поступала в камеру для ингаляционного воздействия. Для создания более низких концентраций паров углеводородов использовали замкнутую кольцевую систему, состоящую из циркуляционного насоса, трехходовых пневматических электромагнитных клапанов-распределителей, нагревательного элемента и калиброванных стеклянных сосудов. Соотношение концентраций углеводородов в камере жестко задавалось соотношением емкости калиброванных стеклянных сосудов, составляющим 5:1. Непрерывное функционирование дозатора в течение хронического эксперимента осуществлялось под управлением переносного компьютера типа IBM PC с помощью программы, созданной на языке Visual Basic. Контроль за содержанием компонентов смеси предельных углеводородов в воздушной среде затравочных камер проводили методом газовой хроматографии.

Эксперименты выполнены на нелинейных животных (белые крысы с начальной массой тела 220 – 250 г, мыши 20 – 25 г), полученных из питомника «Рапполово» РАМН, пос. Рапполово, Всеволожский район, Ленинградская область, а также СПФ животных: мыши – гибриды F1 (C57BL x CBA) и крысы Wistar. 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), а также 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).

Для оценки состояния подопытных животных использовали физиологические, гематоло-

гические, биохимические и морфологические показатели. Исследовали в сыворотке крови содержание стресс-гормонов и цитокинов (биомаркеры повреждающего действия смеси). Изучали также цито-, гено- и эмбриотоксичность смеси углеводов, определяли продукты метаболизма отдельных углеводов в плазме крови подопытных животных.

Для изучения рефлекторного действия смеси предельных углеводов C_6-C_{10} определяли порог обонятельного ощущения на волонтерах с помощью одориметрической установки (в эксперименте участвовали 18 волонтеров в возрасте от 25 до 45 лет, не имевших отклонений в самочувствии).

Результаты и обсуждение. В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что по параметрам острой токсичности смесь предельных углеводов C_6-C_{10} относится к малоопасным веществам. CL_{50} смеси для крыс составляет 185700 мг/м^3 , для мышей – 126000 мг/м^3 . Внутрижелудочное введение смеси в максимально допустимой дозе – 30000 мг/кг гибели подопытных животных не вызывало. В клинической картине интоксикации преобладают признаки наркотического действия. Смесь также обладает умеренно выраженным раздражающим действием на слизистую оболочку глаз и кожу лабораторных животных и слабым кожно-резорбтивным эффектом.

При изучении цито-, гено- и эмбриотоксических свойств смеси углеводов при однократном воздействии в концентрации 120000 мг/м^3 (максимально переносимой) у постимплантационных эмбрионов выявлены индуцирование структурных дефектов (дизрафия нервной трубки, деформация отделов головного мозга, редукция больших полушарий, нарушение осевого вращения), динамические расстройств (кровоизлияния в головной мозг, отежные изменения головы, желточного мешка и перикарда) и снижение экспрессии маркера эритропоэза – эритропоэтина.

С целью определения порогового уровня смеси предельных углеводов при однократном ингаляционном воздействии испытывали концентрации: 25300 , 5250 и 1200 мг/м^3 . Обследование подопытных животных проводили в динамике – после 4-часовой экспозиции и через сутки после воздействия. Однократное 4-часовое ингаляционное воздействие смеси предельных углеводов C_6-C_{10} в концентрации 25300 мг/м^3 вызывало у подопытных животных нарушение функционального состояния ЦНС, проявляющееся угнетением поведенческих реакций, снижением болевой чувствительности. На фоне снижения частоты дыхания регистрирова-

ли уменьшение парциального давления кислорода и насыщения кислородом крови подопытных крыс. Гематологическими исследованиями отмечено снижение содержания тромбоцитов в периферической крови подопытных крыс.

В качестве пороговой, при однократном ингаляционном воздействии смеси предельных углеводов C_6-C_{10} , принята концентрация 5250 мг/м^3 , при которой зарегистрированы значимые изменения интегральных, гематологических и биохимических показателей.

В хроническом непрерывном 90-суточном ингаляционном эксперименте подопытные животные подвергались воздействию смеси предельных углеводов C_6-C_{10} в концентрациях: 160 , $31,4$ и $5,2 \text{ мг/м}^3$.

Показано, что смесь предельных углеводов C_6-C_{10} в концентрации 160 мг/м^3 вызывает у подопытных животных нарушение функционального состояния ЦНС. Изучение поведенческих реакций позволило обнаружить стойкое угнетение ориентировочных реакций («вертикального» компонента двигательной активности подопытных крыс – $26,2 \%$ от контрольного уровня на 21 сутки воздействия и $34,7-37,6 \%$ к концу хронического эксперимента) и снижение «горизонтального» компонента двигательной активности (на 7 сутки – в 2 раза, на 90 сутки этот показатель составлял $72,6 \%$ от контроля). Обнаружено также достоверное ($P < 0,05$) снижение болевой чувствительности подопытных животных.

Отмеченные изменения сопровождались достоверным повышением в сыворотке крови подопытных животных активности холинэстеразы (на 36% по сравнению с контролем, $p < 0,05$). Известно, что холинэстераза является ферментом, катализирующим реакцию гидролиза ацетилхолина [9, 10], поэтому нельзя исключить взаимосвязи между изменением данного показателя и нарушением функционального состояния нервной системы. Однако, однократное повышение активности ХЭ трудно связать со стойким угнетением параметров поведенческих реакций подопытных животных.

При исследовании экспрессии генов обнаружено повышение содержания маркеров апоптоза в образцах переднего мозга крыс, также свидетельствующее о токсическом действии исследуемой смеси углеводов на ЦНС. Обращает внимание и направленность эмбриотоксического действия смеси – выраженные структурные нарушения центральной нервной системы эмбрионов: дизрафия и деформация нервной трубки, редукция полушарий и деформация других отделов головного мозга, выявленные через 90 суток хронического эксперимента.

В настоящее время считается, что гексан, гептан и октан оказывают нейротоксическое действие за счет метаболитов. Так, н-гексан превращается в организме в 2,5-гександион, который, взаимодействуя с белками в нервных волокнах, формирует конгломераты [1, 2], что, в свою очередь, приводит к набуханию аксонов и дегенеративным изменениям миелиновых оболочек, вплоть до полного их разрушения, формируя нейropатологические изменения периферических нервных волокон.

При длительном непрерывном воздействии смеси предельных углеводородов C_6-C_{10} в плазме крови подопытных животных выявлены метаболиты компонентов смеси – гексана, гептана и октана: 2,5-гександион и диметилпирролнорлейцин [11, 12].

Токсическое действие смеси C_6-C_{10} на печень характеризовалось нарушением жирового и углеводного обменов. В крови подопытных крыс через 45 суток воздействия смеси регистрировали активацию аланинаминотрансферазы (на 32,8% по сравнению с контрольной группой крыс), снижение активности лактатдегидрогеназы (на 59,7% по сравнению с контрольной группой) при одновременном повышении содержания глюкозы (на 32% по сравнению с контрольной группой).

Отмечена также явная тенденция к увеличению коэффициента масс печени подопытных крыс (36,2 при 30,6 в контроле). Кроме этого, в печени подопытных животных выявлено повышение транскрипционной активности ряда проапоптотических генов, что также подтверждает гепатотоксический эффект смеси C_6-C_{10} .

При гистологическом исследовании тканей печени обнаружена вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, снижение содержания гликогена.

Токсическое действие смеси предельных углеводородов C_6-C_{10} в концентрациях 160,0 мг/м³ на легкие проявлялось в виде гиперемии с участками кровоизлияний в паренхиму легких.

При исследовании на транскрипционную активность генов лёгких животных (p53, caspase-3, bax и bcl-2, а также митохондриальной супероксиддисмутазы) выявлено, что длительное воздействие смеси C_6-C_{10} вызывает значимые изменения экспрессии маркерных генов: увеличена в 2,1 раза экспрессия митохондриальной супероксиддисмутазы и в 11,6 раз – p53, незначительно повышена экспрессия каспазы-3 и снижено соотношение bax/bcl-2 в 3 раза. Повышение экспрессии p53 на фоне роста активности супероксиддисмутазы может быть связано с накоплением повреждений в ДНК при воздействии активных форм кислорода.

Изучение содержания стресс-гормонов в сыворотке крови подопытных животных показало, что воздействие смеси приводит к снижению содержания мелатонина (на 45% от контрольного уровня на 45 сутки), прогрессирующее с увеличением времени воздействия смеси (снижение на 70% от контроля через 90 суток эксперимента). Отмечена также тенденция к увеличению содержания кортикостерона на 28% по сравнению с контрольной группой к концу хронического воздействия. При изучении цитокинов методом мультиплексного анализа отмечена тенденция к увеличению концентрации IL-6 (менее выражено – IL-2, на экспрессию которого положительно влияет IL-6). Интерлейкин-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления, стимулирует лейкопоз, синтез печенью белков, а также пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток. Однако со стороны цитокинов группы IL-1 подобного эффекта не наблюдалось.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о проявлении токсического резорбтивного эффекта (с поражением важнейших органов и систем) при хроническом непрерывном ингаляционном воздействии смеси предельных углеводородов C_6-C_{10} в концентрации 160 мг/м³.

У подопытных животных, подвергавшихся непрерывному 90-суточному ингаляционному воздействию смеси предельных углеводородов в концентрации 31,4 мг/м³, регистрировали менее выраженные по сравнению с 1 подопытной группой крыс изменения функционального состояния ЦНС и печени. Эмбриотоксический эффект и экспрессия маркеров апоптоза в легких и печени отмечены у отдельных особей и были менее выражены.

Воздействие смеси углеводородов C_6-C_{10} в концентрации 5,2 мг/м³ не вызывало у подопытных крыс достоверных изменений ни по одному из изученных показателей. Следовательно, минимальная концентрация смеси предельных углеводородов C_6-C_{10} , при действии которой обнаружены проявления токсического эффекта – 31,4 мг/м³, принята в качестве пороговой, действующая – 5,2 мг/м³.

Заключение. Таким образом, в результате комплекса проведенных экспериментальных исследований установлены следующие параметры токсикометрии (реальной и потенциальной опасности) смеси:

$$Limac = 5250 \text{ мг/м}^3;$$

$$Limch = 31,4 \text{ мг/м}^3;$$

$$Zac = CL_{50} / Limac = 185700 / 5250 = 35,37;$$

$$Zch = Limac / Limch = 5250 / 31,4 = 167;$$

$$Zbiol = CL_{50} / Limch = 185700 / 31,4 = 5910.$$

С учетом полученных параметров рассчитан интегральный показатель опасности В - 0,54.

Гигиенические нормативы смеси предельных углеводородов в атмосферном воздухе населенных мест

Гигиенические нормативы	Величина ГН, мг/м ³	Дата утверждения
Среднесуточная предельно допустимая концентрация (ПДКс.с)	5,0	Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 146 от 30.08.16, зарегистрирован в Минюсте 13.09.16 № 43648.
Максимальная разовая предельно допустимая концентрация (ПДКм.р.)	50,0	

В соответствии с классификацией опасности химических загрязнителей атмосферного воздуха [6] и величиной интегрального показателя опасности смесь предельных углеводородов C₆-C₁₀ отнесена к 3 классу опасности. Исходя из полученных данных, с учетом коэффициента запаса (Кзап = 9·0,54 + 1 = 5,86) расчетная недействующая концентрация смеси предельных углеводородов C₆-C₁₀ составила 5,3 мг/м³. На основании результатов проведенных экспериментальных исследований установлен безопасный уровень смеси предельных углеводородов по резорбтивному действию на организм (среднесуточная предельно допустимая концентрация, ПДКсс) – 5,0 мг/м³, 3 класс опасности, пары.

Одним из важных критериев гигиенического нормирования веществ в атмосферном воздухе населенных мест является порог восприятия

запаха. Согласно методическим подходам [6] для веществ, загрязняющих атмосферный воздух и обладающих выраженным запахом или раздражающим действием, устанавливается допустимая концентрация по рефлекторному эффекту. Для смеси предельных углеводородов C₆-C₁₀ определена пороговая концентрация по рефлекторному действию – обонятельному ощущению волонтеров на уровне 280 мг/м³. В качестве максимальной разовой ПДК (ПДК по рефлекторному воздействию) смеси предельных углеводородов C₆-C₁₀ в атмосферном воздухе установлена 50 мг/м³.

По итогам проведенных экспериментальных исследований обоснованы и утверждены на государственном уровне гигиенические нормативы смеси предельных углеводородов C₆-C₁₀ в атмосферном воздухе населенных мест (табл. 2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Румянцев А.П. Алканы. В кн.: Филлов В.А., ред. Вредные химические вещества. Углеводороды. Галогенпроизводные углеводородов. СПб.: Химия; 1990: 29 – 40.
2. Pohanish R.P. Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 6nd ed. Oxford, USA; 20
3. Давыдова С.Л., Тагасов В.И. Нефть как топливный ресурс и загрязнитель окружающей среды. М.: РУДН; 2004.
4. Чеботарев П.А., Литовко Н.В. Доклинические изменения здоровья при воздействии углеводородов нефтяного генеза. Гигиена и санитария. 2009; 5: 84-6.
5. ГН 2.1.6.1338-Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Гигиенические нормативы. – М., 2003 г. – 84 с.
6. Методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест (№ 4681 - 88). – М., 19– 110 с.
7. Методические рекомендации по ускоренному обоснованию предельно допустимых уровней загрязнения кожного покрова вредными веществами (№10-92) / В.А. Кондрашов. – М., 19– 20 с.
8. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования: МР 2166-- М.: Киев, 19– 46 с.
9. Старостина В.К., Дёгтева С.Д. Холинэстераза: методы анализа и диагностическое значение. Новосибирск: Вектор-Бест, 2008.
10. Попова Т.Н., Рахманова Т.И., Попов С.С. Медицинская энзимология. Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета; 20
11. Уколов, А.И. Хроматомасс-спектрометрическое исследование биологических образцов крыс подвергавшихся воздействию алифатических углеводородов с числом атомов углерода от 6 до 10 / А.И. Уколов, Е.Д. Мигаловская, А.С. Радилов // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 20– Т. – С. 335-343.
12. Уколов, А.И. Токсикометабономика: поиск маркеров хронического воздействия низких концентраций алифатических углеводородов / А.И. Уколов, Е.Д. Кессених, А.С. Радилов, Н.В. Гончаров // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 20– Т. – № 1. – С. 24-32.

REFERENCES:

1. Rumyantsev, A. P. Alkanes. In the book: Filov V. A., ed. Harmful chemicals. Hydrocarbons. Halogen derivatives of hydrocarbons. SPb.: Chemistry; 1990: 29 – 40 (in Russian).
2. Pohanish, R. P. Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. 6nd ed. Oxford, USA; 20
3. S. L. Davydova, V. I. Tarasov oil as a fuel resource and environmental contaminant. Moscow: people's friendship University; 2004 (in Russian).
4. Chebotarev P. A., Litovko N. In. Preclinical health changes upon exposure to hydrocarbons of petroleum Genesis. Hygiene and sanitation. 2009; 5: 84-6 (in Russian).
5. GN 2.1.6.1338-The maximum permissible concentration (MPC) of polluting substances in atmospheric air of populated areas. Hygienic standards. – M., 2003, 84 p. (in Russian).
6. Guidelines for substantiation of maximum permissible concentrations (MPC) of polluting substances in atmospheric air of populated areas (No. 4681 - 88). – M., 19– 110 p. (in Russian).
7. Guidelines for the early substantiation of maximum permissible levels of skin contamination with harmful substances (No. 10-92) / V. A. Kondrashov. – M., 19– 20 C. (in Russian).
8. Guidelines on the use of behavioral reactions of animals in Toxicological research for the purposes of hygienic standardization: Mr 2166-- Moscow; Kiev, 19– 46 p. (in Russian).
9. Starostin, K. V., Degteva S. D. Cholinesterase: methods of analysis and diagnostic value. Novosibirsk: Vektor-Best, 2008 (in Russian).
10. Popova T. N., Rakhmanova T. I., Popov S. S. Medical Enzymology. Publishing and printing center of Voronezh state University; 2008 (in Russian).
11. Ukolov, A. I. gas chromatography / mass spectrometry study of biological samples of rats exposed to aliphatic hydrocarbons with number of carbon atoms from 6 to 10 / A. I. Ukolov, E. D. Michalowska, Radilov A. S. // BMC Medline.ru. – 20– Т. – S. 335-343(in Russian).
12. Ukolov, A. I. Toxicopathological: the search for markers of chronic exposure to low concentrations of aliphatic hydrocarbons / A. I. Ukolov, E. D., kessenikh, A. S. Radilov, N. In. Goncharov // Journal of evolutionary biochemistry and physiology. – 20– Т. – No. 1. – P. 24-32 (in Russian).

A.S. Radilov¹, I.E. Shkaeva¹, A.I. Nikolaev¹, Kh.Kh. Khamidulina^{2,3}, S.A. Solntseva¹, O.S. Nikulina¹,
V.B. Popov¹, G.A. Protasova¹

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF HYGIENIC REGULATORY STANDARDS FOR A MIXTURE OF C₆-C₁₀ SATURATED HYDROCARBONS IN THE ATMOSPHERIC AIR OF RESIDENTIAL AREAS

¹Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 188663 Leningrad Region, Russian Federation

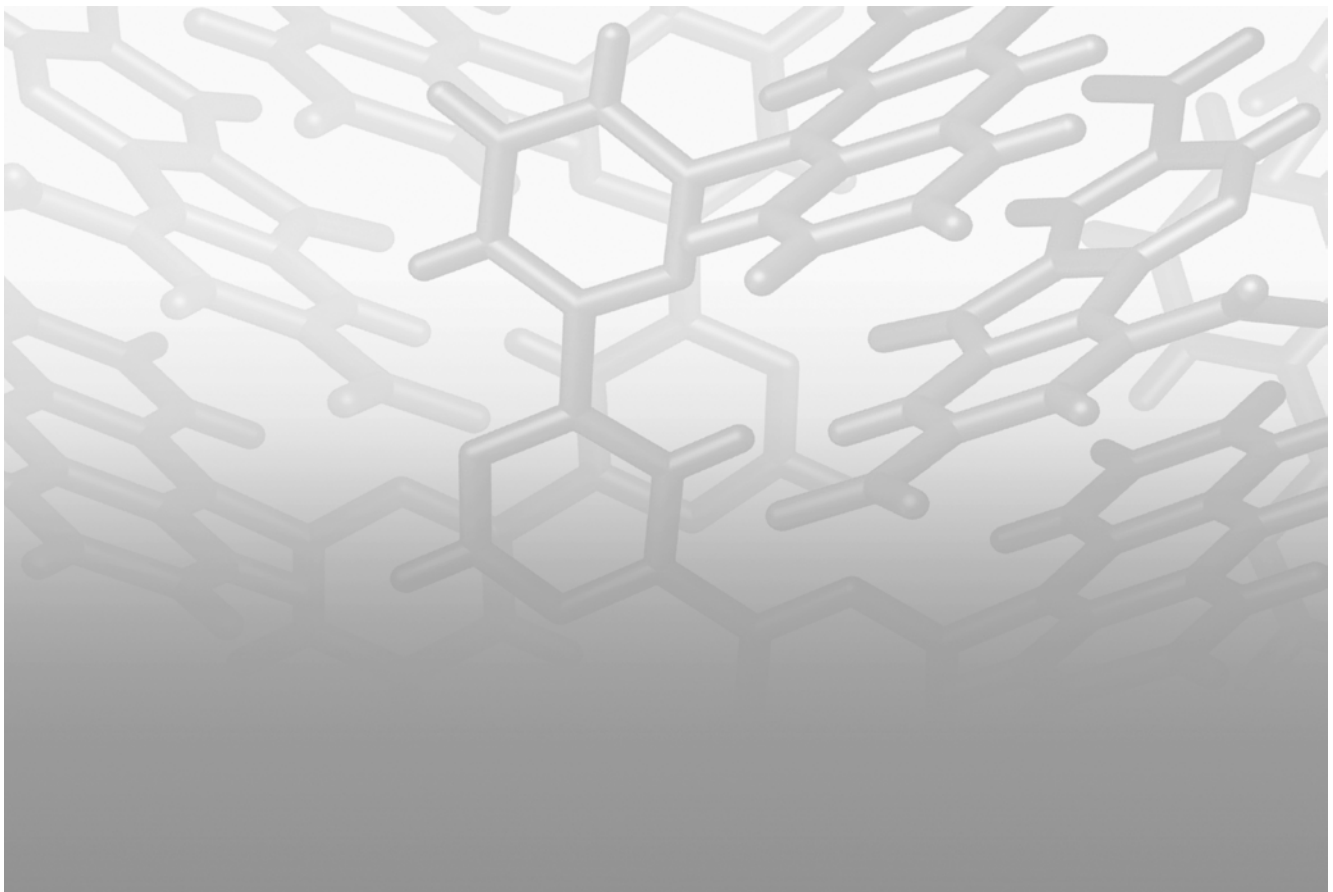
²Russian Register for Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 117105, Moscow, Russian Federation

³Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 125993, Moscow, Russian Federation

Toxicity and hazard assessment of the mixture of saturated hydrocarbons C₆-C₁₀ (hexane, heptane, octane, nonane, decane) at a single and chronic exposure was PERFORMED in animal experiments. It was shown that in terms of acute toxicity, the mixture is low hazard, exhibits moderate irritant effect on skin and eye mucous membrane and shows a slight dermal resorptive effect. The threshold limit concentration for a single inhalation exposure (Limac) as estimate4d by the resorptive effect is 5250±mg/m³. At a long 90 day continuous exposure, neuro-, hepato- and embryo toxicity was revealed at a concentration of 160mg/m³. The threshold limit concentration for chronic exposure (Limch) was estimated as 31.4 mg/ m³ and no effect concentration as 5.2 mg/m³. The threshold limit concentration of the mixture based on reflex action was estimated on a level of 280 mg/m³. Based on the investigations outcome, the mixture of saturated hydrocarbons C₆-C₁₀ is referred to hazard class 3. Maximum allowable concentrations (MACs) in the atmospheric air of residential areas were substantiated: MAC average daily based on resorptive effect equals to 5 mg/m³; MAC maximum single based on reflex action equals to 50 mg/m³.

Keywords: saturated hydrocarbons, mixture, toxicity, hazard, inhalation, threshold limit concentration, atmospheric air.

Материал поступил в редакцию 27.06.2017 г.




ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

УДК 54-3 : 615.099

РАЗВИТИЕ «ЗЕЛеной» ХИМИИ В РАМКАХ СТРАТЕГИЧЕСКОГО ПОДХОДА К МЕЖДУНАРОДНОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ (СПМРХВ/SAICM)

*Х.Х. Хамидулина,
П.А. Щербаков*

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
дополнительного профессионального
образования «Российская
медицинская академия непрерывного
профессионального образования»
Минздрава России, 123993,
г. Москва, Российская Федерация

В статье приведены принципы «Зеленой» химии и цели и задачи Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ. «Зеленая» химия - один из самых эффективных инструментов управления безопасностью. Принципы «Зеленая» химия и СПМРХВ нашли отражение в законодательных и нормативных актах многих стран, включая Российскую Федерацию и Евразийский экономический союз (ЕЭС). Проведенный анализ проблем в области химической безопасности и современных подходов к безопасному регулированию химических веществ показал: единство целей и задач Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ и «Зеленой химии», перспективы развития «Зеленой» химии в решении проблем химической безопасности.

Ключевые слова: безопасность, химическое вещество, токсичность.

В современном мире ежедневно синтезируется более 15000 новых химикатов, общее количество которых превышает 120 млн. В повседневной жизни человек подвергается воздействию более 63 000 химических соединений, а опасность многих из них не оценивается адекватно [1]. В 147 городах (59% городов России, где проводятся наблюдения) средние за год концентрации какого-либо вещества в атмосферном воздухе превышают 1 ПДК. В этих городах проживает 50,7 млн. человек. По данным Росстата и Росприроднадзора, общий объем выбросов загрязняющих веществ в атмосферу в 2015 г. составил 31268,6 тыс. т в т.ч. 17295,7 тыс. т – от стационарных источников и 13818,6 тыс. т – от автотранспорта; на долю выбросов железнодорожного транспорта приходится менее 0,5% от общего объема выбросов (154,3 тыс. т). Общая величина накопленных и учтенных отходов производства и потребления в целом по стране составляла на конец 2015 г. примерно 31,5 млрд т [2]. По данным Всемирной организации здравоохранения, 25% заболеваний имеют химическую этиологию. В этой ситуации

мировое сообщество рассматривает химический фактор как неотъемлемую опасность для здоровья человека и окружающей среды и консолидирует свои усилия по его управлению. На Международной конференции по регулированию химических веществ в Дубае 6 февраля 2008 года был принят Стратегический подход к международному регулированию химических веществ (СПМРХВ/ SAICM), которые являются основой для системы рационального использования и оптимизации процессов обработки химических веществ как на международном, национальном и на региональном уровне. СПМРХВ является основой международной политики рационального регулирования химических веществ. Общая цель стратегического подхода заключается в обеспечении рационального регулирования химических веществ на протяжении всего их жизненного цикла (сырье – производство – применение – хранение – транспортировка - утилизация), с тем, чтобы к 2020 году химические вещества были произведены и использованы таким образом, чтобы свести к минимуму значительные не-

Хамидулина Х.Х. (Khamidulina Khalidia Khizbulaevna), доктор медицинских наук, заведующий кафедрой гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, khalidiya@yandex.ru
Щербаков Павел Александрович (Shcherbakov Pavel Aleksandrovich), преподаватель кафедры гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, ogtrapo@mail.ru

благоприятные последствия для здоровья человека и окружающей среды [3].

СПМРХВ призывает:

- Консолидировать усилия государства, бизнеса и науки в решении вопросов химической безопасности.
- Промышленность предоставлять заинтересованным сторонам такие данные и информацию о воздействии химических веществ на здоровье и окружающую среду, которые необходимы для безопасного использования химических веществ и продуктов, изготовленных из них.
- Предоставлять соответствующую информацию и знания о химических веществах на протяжении всего их жизненного цикла, включая риски для здоровья человека и окружающей среды.
- Обеспечить в достаточной степени решение с помощью соответствующих механизмов существующих, новых и возникающих проблем, вызывающие глобальную озабоченность.
- Сократить производство опасных отходов, как по количеству, так и по токсичности, а также обеспечить экологически безопасное обращение с опасными отходами, включая его хранение, обработку и удаление.
- Содействовать экологически безопасному восстановлению и рециркуляции опасных материалов и отходов.
- Содействовать и поддерживать разработку и внедрение безопасных альтернатив, включая более чистое производство, информировать о замене химических веществ, вызывающих особую озабоченность, разрабатывать и внедрять нехимические альтернативы.

В Глобальном плане действий СПМРХВ [3] содержится список из 36 областей, в которых сосредоточено 273 мероприятия в области химической безопасности:

- Оценка национального управления химическими веществами для выявления пробелов и определения приоритетов действий.
- Охрана здоровья человека.
- Дети и химическая безопасность.
- Охрана труда и техника безопасности.
- Внедрение Согласованной на глобальном уровне системы классификации и маркировки химических веществ (СГС).
- Пестицидные программы.
- Снижение рисков для здоровья и окружающей среды для пестицидов.
- Чистое производство.
- Восстановление загрязненных участков.
- Свинец в бензине.
- Здоровые методы ведения сельского хозяйства.
- Стойкие, биоаккумулятивные и токсичные

вещества (PBTs); очень стойкие и очень биоаккумулятивные вещества; химические вещества, которые являются канцерогенами или мутагенами или которые отрицательно влияют, в частности, на репродуктивную, эндокринную, иммунную или нервную системы; стойкие органические загрязнители (СОЗ).

- Ртуть и другие химические вещества, вызывающие глобальную озабоченность; химикаты, произведенные или используемые в больших объемах; химические вещества, подверженные широкому дисперсионному применению; другие химические вещества, вызывающие озабоченность на национальном уровне.
- Оценка риска, управление и информирование.
- Управление отходами (и минимизация).
- Разработка мер профилактики и реагирования для смягчения воздействия чрезвычайных ситуаций на окружающую среду и здоровье людей, связанных с химическими веществами.
- Исследования, мониторинг и информация.
- Генерация и доступность данных о рисках.
- Продвижение участия промышленности и ее ответственность.
- Управление и распространение информации.
- Жизненный цикл химического вещества.
- Регистр выбросов и переноса загрязнителей (РВПЗ) – создание национальных и международных регистров.
- Образование и подготовка (информирование общественности).
- Участие заинтересованных сторон.
- Внедрение интегрированных национальных программ по рациональному использованию химических веществ на национальном уровне.
- Международные соглашения.
- Социально-экономические соображения.
- Правовые, политические и институциональные аспекты.
- Ответственность и компенсация.
- Внедрение прогресса.
- Охраняемые районы
- Предотвращение незаконного оборота токсичных и опасных грузов.
- Торговля и окружающая среда.
- Гражданское общество и участие общественных организаций (НПО).
- Укрепление потенциала для поддержки национальных действий.
- Управление рисками и снижение уровня токсичных пестицидов.

СПМРХВ осуществляет свою работу посредством периодически проводимых международных конференций по управлению в области химических веществ. Одна из функций Между-

народной конференции по регулированию химических веществ заключается в необходимости принятия соответствующих мер по возникающим вопросам политики по мере их возникновения и выработки консенсуса в отношении приоритетов для совместных действий. До сих пор были приняты резолюции по следующим восьми возникающим вопросам политики и другим вопросам, вызывающим озабоченность в ИССМ2, ИССМ3 и / или ИССМ4 [3]:

- Свинец в красках.
- Химические вещества в продуктах.
- Жизненный цикл опасного вещества в электрических и электронных изделиях.
- Нанотехнологии и наноматериалы.
- Эндокринные разрушители.
- Экологически стойкие фармацевтические загрязнители. Перфторированные химические вещества и переход на более безопасные альтернативы.
- Высоко опасные пестициды.

Принятые резолюции признают политические императивы для решения выявленных проблем, согласовывают необходимые действия и просят конкретные заинтересованные стороны рассмотреть возможность принятия определенных мер.

Большинство из них основаны на принципах устойчивого развития и «Зеленой химии». «Зеленая» химия, в первую очередь, представляет собой инновационный способ управления химическими веществами, когда управляющие решения принимаются до того как химические вещества станут источником опасности и появится риск их негативного воздействия на человека и окружающую среду, риск часто оправдываемый общепринятым получением в итоге полезной и безопасной продукции.

12 принципов «Зеленой» химии разработанные специалистами, работающими в промышленности, Полом Анастасом и Джоном С.Уорнером [4], и гласят:

1. Лучше предотвратить выброс загрязнений, чем потом от них избавляться.
2. Синтез следует планировать так, чтобы максимальное количество использованных материалов вошли в конечный продукт.
3. Следует планировать методы синтеза так, чтобы реагентами и конечными продуктами служили вещества, которые малотоксичны или вовсе нетоксичны для человека и природы.
4. Среди целевых химических продуктов следует выбирать такие, которые наряду с требуемыми свойствами обладают максимально низкой токсичностью.
5. Необходимо по возможности избегать использования в синтезе вспомогательных веществ

(растворителей, экстрагентов и др.) или выбирать безвредные.

6. При планировании синтеза нужно учитывать экономические и экологические последствия производства энергии, необходимой для проведения химического процесса, и стремиться к их минимизации. Следует стремиться проводить синтез при температуре окружающей среды и нормальном давлении.
7. Следует использовать возобновляемое сырье там, где это технически и экономически обосновано.
8. Необходимо сокращать число стадий процесса (для этого избегать при синтезе стадий блокирования групп, введения-снятия защиты, временной модификации физико-химических процессов).
9. Каталитические реагенты (по возможности максимально селективные) предпочтительны по сравнению со стехиометрическими.
10. Химические продукты желательнее применять такие, чтобы по окончании нужды в них они не сохранялись в окружающей среде, а разлагались до безопасных веществ.
11. Аналитические методики следует развивать так, чтобы в режиме реального времени обеспечивать мониторинг образования продуктов реакции, среди которых могут оказаться опасные.
12. Вещества, используемые в химических процессах, следует выбирать так, чтобы свести к минимуму возможные аварии, включая разливы, взрывы и пожары.

«Зеленая» химия – один из самых эффективных инструментов управления безопасностью химических веществ. Принципы «Зеленой» химии, позволяющие решать задачи СПМРХВ, нашли отражение в законодательных и нормативных актах многих стран, включая Российскую Федерацию и Евразийский экономический союз (ЕЭС). Технические регламенты ЕЭС о безопасности продуктов питания, парфюмерной и косметической продукции, единые требования безопасности к лакокрасочным материалам, бытовой химии, синтетическим моющим средствам содержат запреты и ограничения на использование чрезвычайно и высокотоксичных химических веществ в качестве сырья. Так, ТР ТС 009/2011 «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» содержит требования к составу парфюмерно-косметической продукции:

Приложение 1. Перечень веществ запрещенных для использования в парфюмерно- косметической продукции.

Приложение 2. Перечень веществ разрешенных к использованию с учетом указанных ограничений в парфюмерно-косметической продукции.

Приложение 3. Перечень красителей разрешенных к использованию в парфюмерно-косметической продукции

Приложение 4. Перечень консервантов, разрешенных к использованию в парфюмерно-косметической продукции.

Перечни ингредиентов парфюмерно-косметической продукции, которые приведены в приложениях 1 – 4, актуализируются в установленном порядке.

Запрещается использовать в парфюмерно-косметической продукции вещества согласно приложению 1 (1328 веществ).

Для решения программных направлений СПМРХВ Всемирная организация здравоохранения, Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП), Организация экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) совместно со странами Европейского союза, США, Канады, Японии, Австралии, Новой Зеландии и другие проводят огромную работу по поиску безопасных альтернатив свинца, фталатов, перфторсодержащих соединений, стойких органических загрязнителей и ряда других высокотоксичных химических веществ. Этот вид деятельности соответствует принципу «Зеленой» химии, в соответствии с которым целевые химические продукты должны обладать максимально низкой токсичностью и опасностью.

Рассмотрим примеры использования безопасных альтернатив для фталатов и свинца

Фталаты являются политропными ядами.

Виды воздействия фталатов:

- репродуктивная токсичность
- тератогенное действие
- аллергическое действие (дерматиты, экземы, бронхиальная астма)
- кожно-резорбтивное действие
- дисрапторы эндокринной системы

В таблице 1 представлены известные фталатные пластификаторы

Заменителем фталатов является нефталатный пластификатор Hexamoll Dinch, который в отличие от фталатов нетоксичен, нелетуч, не обладает репродуктивной токсичностью, мутагенностью, канцерогенностью (табл.2).

Заменителями традиционных фталатов являются производные терефталевой кислоты. Они также не токсичны, не летучи, не обладают репродуктивной токсичностью (табл.3).

В таблице 4 представлен сравнительный анализ свинцовых и несвинцовых стабилизаторов [5].

Свинцовые пластификаторы политропные яды: вызывают сенсibilизацию организма, обладают нейро- и репротоксическим действием. По величине ПДК в воздухе рабочей зоны свинец и его соединения отнесены к 1 классу опасности (чрезвычайно опасные) [5].

Таблица 1

Фталатные пластификаторы

	CAS	EINECS	Молекулярная формула
Дибutilфталат (DBP)	84-74-2	201-557-4	$C_{16}H_{22}O_4$
Бензилбутилфталат (BBP)	85-68-7	201-622-7	$C_{19}H_{20}O_4$
Ди-2-этилгексилфталат (DEHP)	117-81-7	204-211-0	$C_{24}H_{38}O_4$
Ди-н-октилфталат (DNOP)	117-84-0	204-214-7	$C_{24}H_{38}O_4$
Диизононилфталат (DINP)	28553-12-0	249-079-5	$C_{26}H_{42}O_4$

Таблица 2

Диизононилциклогексан-1,2-дикарбонат /CAS 166412-78-8/ торговое название Hexamoll DINCH

DL ₅₀ в/ж (мг/кг)	> 5000
CL ₅₀ инг. (мг/м ³)	не достигается
Летучесть	низкая (0,0000013 гПа при 50°C)
Репротоксичность	не установлена
Мутагенность	отсутствует
Канцерогенность	не выявлена

Таблица 3

Токсичность и опасность ди(2-этилгексил)терефталата и диметилтерефталата

	Ди(2-этилгексил)терефталат	Диметилтерефталат
DL ₅₀ в/ж (мг/кг)	> 5000	6590 - 14000
DL ₅₀ н/к (мг/кг)	> 19700	> 5000
Репротоксичность	NOAEL 1 % нативного вещества с пищей	NOAEL 1 % нативного вещества с пищей

Таблица 4

Сравнительный анализ стабилизаторов на основе свинца и стабилизаторов на основе кальций-цинка

	Дистеарат свинца	Стеарат свинца двусосновой	Стеарат цинка	Стеарат кальция
DL ₅₀ в/ж (мг/кг), крысы	12428	> 5000	> 10000	> 10000
DL ₅₀ н/к (мг/кг)	> 2500	> 2500	> 2000	> 2000
Сенсибилизирующее действие	Выявлено для соединений свинца		-	-
Репротоксичность (СанПиН 2.2.0.555-96)	Установлена для свинца и его соединений		Отсутствует в списке репротоксикантов СанПиН 2.2.0.555-96	Отсутствует в списке репротоксикантов СанПиН 2.2.0.555-96
Канцерогенный эффект	Группа 3 МАИР	Группа 3 МАИР	Отсутствуют данные в МАИР	Отсутствуют данные в МАИР
ПДК _{раб.з.} (мг/м ³)	0,05, аэрозоль, 1 класс опасности	0,05, аэрозоль, 1 класс опасности	10, аэрозоль, 4 класс опасности	4, аэрозоль, 3 класс опасности

Принимая во внимание рекомендации СПМРХВ о мерах по выведению свинца из красок, Технический регламент ЕЭС «О безопасности лакокрасочной продукции» содержит запрет на использование в красках свинца.

Направление деятельности по мониторингу химических веществ с целью выявления и замены высокотоксичных на безопасные аналоги активно развивается в мире и является действенным механизмом по минимизации риска воздействия на здоровье человека и окружающую среду. В этой ситуации представляется необходимым создать в Российской Федерации национальную программу системного исследования химических продуктов, обрабатываемых на рынке, и отказаться от обработки определенных химических веществ и смесей, представляющих высокий риск, а также их замены безопасными альтернативами в соответствии с тем, что предусмотрено в проекте Федерального закона «Об химической безопасности».

Концепция СПМРХВ минимизации риска на протяжении всего жизненного цикла химического вещества нашла свое отражение в п.1. Статьи 13 Федерального закона от 30 марта 1999 г. N 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», которая звучит так: «Продукция производственно-технического назначения, при производстве, транспортировке, хранении, применении (использовании) и утилизации, которой требуется непосредственное участие человека, а также товары для личных и бытовых нужд граждан не должны оказывать вредное воздействие на человека и среду обитания».

В соответствии с принципами «Зеленой» химии СПМРХВ отсутствие и/или снижение риска допустимого требует:

- Осуществления защиты работающих от вредного воздействия химических веществ, используя вещества и технологии, которые

исключают полностью или снижают риск до минимума.

- Предоставления информации о химических веществах, которые используются в производстве с целью разработки эффективной системы защиты работников от их воздействия.
- Контроля состояния воздуха рабочей зоны, атмосферного воздуха, воды водных объектов, почвы.
- Увеличения продуктивности используемых ресурсов посредством переработки химических отходов, извлечения ценных материалов из общего потока отходов, энергоснабжения и других инновационных преимуществ.

В Российской Федерации в рамках надзорных функций заинтересованных органов власти и производственного контроля осуществляется контроль за содержанием химических веществ в воздухе рабочей зоны и среде обитания человека. В настоящее время в России установлено более 21000 гигиенических нормативов для 7000 веществ.

СПМРХВ и ОЭСР сегодня озабочены загрязнением полимерами вод мирового океана. Решением данной проблемы является синтез биоразлагаемых полимеров, что созвучно принципу «Зеленой химии», который гласит, что химический продукт должен быть таким, чтобы после его использования он не оставался в окружающей среде, а разлагался на безопасные продукты.

Примером реализации данного принципа является также создание «Зеленых» пестицидов, которые позволяют решать вопрос остаточных количеств пестицидов в продуктах питания населения, в пищевых цепях.

Проведенный анализ проблем в области химической безопасности и современных подходов к безопасному регулированию химических веществ показал:

- единство целей и задач Стратегического подхода к международному регулированию химических веществ и «Зеленой химии».
- Перспективы развития «Зеленой химии» в решении проблем химической безопасности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г.Г. Химическая безопасность – важнейшая составляющая санитарно-эпидемиологического благополучия населения. ж. Токсикологический вестник.2014;№ 2: 2-6.

2. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среде Российской Федерации в 2015 г.». 2016.

Chemicals Management.http://www.saicm.org/

4. P.T.Anastas, J.C.Warner, Green Chemistry: Theory and Practice, Oxford University Press, New York, 1998, p.30.

5. Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О. Международное регулирование свинца и его соединений. Ж. Гигиена и санитария. 2013;№6: С.57-60.

REFERENCES:

1. Onishchenko G. G. the Chemical safety is the most important component of sanitary and epidemiological welfare of the population. well.J. Toxicological Review.2014; No. 2: 2-6. (in Russian)

2. State report «On the state and on the protection of the environment of the Russian Federation in 2015». 2016. (in Russian)

Chemicals Management.http://www.saicm.org/

4. P. T. Anastas, J. C. Warner, Green Chemistry: Theory and Practice, Oxford University Press, New York, 1998, p.30.

5. Khamidulina Kh. Kh., Davydov Yu. O. International regulation of lead and its compounds. J. Hygiene and sanitation. 2013; No. 6: Pp. 57-60. (in Russian)

Kh.Kh. Khamidulina. P.A.Shcherbakov

THE DEVELOPMENT OF GREEN CHEMISTRY IN SAICM FRAMEWORK

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 123993, Moscow, Russian Federation

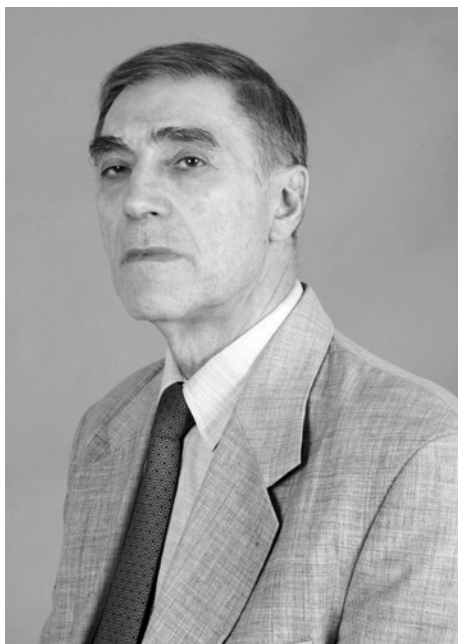
The article describes the principles of «Green Chemistry» and the goals and objectives of the Strategic Approach to International Chemicals Management. «Green» chemistry is one of the most effective safety management tools. The principles of «Green Chemistry» and SAICM are reflected in the legislative and regulatory acts of many countries, including the Russian Federation and the Eurasian Economic Union. The performed analysis of issues in chemical safety and approaches to safe management of chemicals showed identity of goals of SAICM and Green Chemistry and prospects of the use of the Green Chemistry principles in solving issues in chemical safety.

Keywords: safety, chemical substance, toxicity.

Материал поступил в редакцию 03.10.2017 г.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

**ЮРИЙ
СЕМЕНОВИЧ
ГОЛЬДФАРБ
(К 70-летию
со дня
рождения)**



Ю.С. Гольдфарб родился 7 сентября 1947 г. в Москве, в семье военнослужащего. В 1965 г. после окончания средней школы в г. Мары Туркменской ССР (по месту службы отца) поступил в 1-й Московский медицинский институт им. И.М. Сеченова, который окончил в 1971 г. по специальности «лечебное дело». С того же года работает в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского: врач-интерн, с 1972 г. врач-токсиколог, с 1979 г. – младший, с 1985 г. – старший, а с 1990 г. – ведущий научный сотрудник токсикологического отделения института. В 1973–1974 гг. проходил военную службу в качестве врача одной из частей Краснознаменного Дальневосточного военного округа. С 1978 г. около 15 лет являлся консультантом санитарной авиации РСФСР, регулярно вылетая в места событий для оказания помощи в диагностически сложных и массовых случаях острых отравлений. Имеет более чем 20-летний опыт работы внештатным экспертом московского городского бюро судебно-медицинской экспертизы.

Научная деятельность Ю.С. Гольдфарба связана с использованием комплексной детоксикации организма при острых отравлениях. В том числе он внес заметный вклад в изучение детоксикационного эффекта эфферентных методов и методов физико-химической гемотерапии (воздействие на кровь ультрафиолетовыми, лазерными лучами, магнитными полями и ее прямое электрохимическое окисление), а также в решение проблемы эндотоксикоза при острых отравлениях. Детоксикации организма посвящены его диссертации – кандидатская «Применение хирургических методов активной детоксикации при острых отравлениях соединениями тяжелых металлов и мышьяка» (1981) и докторская «Экстракорпоральные методы комплексной перфузионной детоксикации при острых отравлениях»

(1992). В настоящее время также активно занимается вопросами реабилитации при острых отравлениях в токсикологическом стационаре. Под руководством Ю.С. Гольдфарба подготовлены 3 кандидатских и докторская диссертации.

Юрий Семенович – автор и соавтор более 500 публикаций в области диагностики и детоксикационной терапии острых отравлений, медицинской электрохимии, медицины катастроф и истории медицины, в том числе 8 монографий, руководств и справочников для врачей – «Детоксикационная терапия» (2000), «Физиогемотерапия острых отравлений» (2002), «Эндотоксикоз при острых отравлениях» (2008), «Клиническая токсикология в России. Исторические аспекты» (2017) и др., 20 разделов в профильных медицинских изданиях, 7 изобретений, 39 методических работ (методических рекомендаций, пособий для врачей и др.) и 19 рационализаторских предложений, из них 2 - отраслевого значения. Отмечен нагрудным знаком «Изобретатель СССР» (1988). Научный редактор Национального руководства «Медицинская токсикология» (2012). Лауреат премии Мэрии г. Москвы в области здравоохранения и медицины (1994).

С 2005 г. Ю.С. Гольдфарб в качестве заведующего отделом внешних научных связей НИИ СП им. Н.В. Склифосовского в числе прочего занимается вопросами истории медицины, является также научным редактором журнала им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь» и журнала «Трансплантология». Все это время он продолжал исследования в области клинической токсикологии. В том числе им в составе творческого коллектива было предпринято изучение история ее развития в России.

Ю.С. Гольдфарб более 30 лет ведет преподавательскую деятельность, с 1995 г. являясь профессором кафедры клинической токсикологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, а с 2016 г. заведующая этой кафедрой. Имеет научное звание «профессор» по кафедре клинической токсикологии (1997).

Проф. Ю.С. Гольдфарб ведет активную общественно-научную работу – он член правления Ассоциации специалистов по эфферентным и физико-химическим методам лечения в медицине и Московского общества гемафереза. С 1993 по 2007 г. был членом специализированного Ученого совета при НИИ физико-химической медицины (до его расформирования), член проблемной комиссии НИИ СП им. Н.В. Склифосовского «Острые экзо- и эндотоксикозы», Ученого совета ФГБОУ ДПО РМАНПО. Постоянный автор и рецензент журнала «Токсикологический вестник», принимал участие в организации и проведении съездов токсикологов России.

Награжден медалью «В память 850-летия Москвы» (1997), удостоен Почетной грамоты Мо-

сковской городской думы (2007) и других поощрений руководства института и московского здравоохранения.

**СЕРДЕЧНО ПОЗДРАВЛЯЕМ ЮРИЯ
СЕМЕНОВИЧА ГОЛЬДФАРБА
С ЮБИЛЕЕМ, ЖЕЛАЕМ КРЕПКОГО
ЗДОРОВЬЯ, НЕИССЯКАЕМОЙ
ЭНЕРГИИ, УСПЕХОВ ВО ВСЕХ
НАЧИНАНИЯХ.**

*Всероссийская общественная
организация токсикологов,
Редколлегия журнала
«Токсикологический вестник»*

НЕКРОЛОГ

ПАМЯТИ ЮРИЯ ИВАНОВИЧА МУСИЙЧУКА

25 августа 2017 года ушел из жизни выдающийся отечественный токсиколог, лауреат Государственной премии СССР, доктор медицинских наук, профессор Юрий Иванович Мусийчук.

Юрий Иванович родился в 1937 г. в Умани Киевской области. В 1960 г. закончил 1-й Ленинградский медицинский институт (ЛМИ), в 1962 г. – клиническую ординатуру этого же института. С 1962 по 1965 гг.

учился в аспирантуре при кафедре госпитальной терапии ЛМИ, где подготовил и в 1966 г. защитил кандидатскую диссертацию, посвященную электрокимографическому исследованию сократительной способности сердца. С 1965 по 1967 гг. работал в ЛМИ на должностях врача баротерапии Центральной научно-исследовательской лаборатории и ассистента кафедры госпитальной терапии.

В 1967 г. перешел на работу в Филиал № 3 Института биофизики Минздрава СССР (с 1984 г. – НИИ гигиены и профпатологии МЗ СССР, в настоящее время – Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России). В этом учреждении Юрий Иванович проработал без малого 30 лет, пройдя путь от младшего и старшего научного сотруд-



ника, заведующего организованных им клинического отдела и клиники (1969–1996), заместителя директора по научной работе (1974–1984) до директора (1991–1996) НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека Минздрава СССР и РФ. Здесь же в 1985 г. защитил докторскую диссертацию по проблемам клинической токсикологии, профпатологии и организации медицинского обеспечения работников производств отравляющих веществ.

Руководство институтом пришлось на тяжелое для нашей страны время, но его

энергия и авторитет позволили сохранить институт как ведущее научно-исследовательское учреждение в области гигиены, токсикологии и профессиональной патологии высокотоксичных химических веществ. Все это время под руководством Ю.И. Мусийчука и им лично выполнялись пионерские работы в области клинической и профилактической токсикологии, обеспечения безопасности работ с высокотоксичными химическими соединениями, в том числе, с компонентами ракетных топлив и боевыми отравляющими веществами. Под его непосредственным руководством сотрудники института исследовали клиническую картину острых и хронических отравлений у рабочих химической промышленности, изучали состояние здоровья населения, проживающего вблизи опасных химических объектов,

проводили экологические экспертизы, оказывали медицинскую помощь пострадавшим в химических авариях. Научные разработки Ю.И. Мусийчука были посвящены наиболее трудным разделам токсикологии – влиянию малых доз химических соединений на здоровье человека, медицинским аспектам уничтожения химического оружия, организации оказания неотложной медицинской помощи при химических авариях и катастрофах, экологическим проблемам токсикологии. Он неоднократно принимал личное участие в ликвидации химических аварий, давая принципиальную оценку как причинам, так и медико-экологическим последствиям этих инцидентов. Но особо пристальное внимание Ю.И. Мусийчук уделял организации оказания медицинской помощи рабочим химической промышленности. В 1982 г. за разработку и внедрение автоматизированной системы массовых осмотров рабочих опасных химических производств он стал лауреатом Государственной премии СССР.

Научная и организаторская деятельность Юрия Ивановича не ограничивалась только стенами института. В период с 1980 по 1997 г. он был главным профпатологом 3-го Главного управления Минздрава СССР (РФ) и постоянным членом комиссии по профпатологии при АМН СССР (РАМН). С 1992 по 1996 гг. являлся экспертом Минздрава РФ по проблемам уничтожения химического оружия. Ведя большую общественную работу, в течение двух десятилетий Ю.И. Мусийчук был членом ученого совета по экологии Санкт-Петербургского отделения РАН и ряда советов, созданных при Комитете по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга. В период с 1970 гг. входил в состав редколлегии журнала «Бюллетень гигиены, токсикологии и профпатологии ракетных топлив», а с 1991 по 1996 гг. был его главным редактором. С 1991 по 1997 гг. Ю.И. Мусийчук являлся членом редколлегии журнала «Медицина труда и промышленная экология».

С 1996 г. Ю.И. Мусийчук работал заведующим Городским организационно-методическим отделом Комитета по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга, с 2002 по 2007 гг. – заместителем директора Санкт-Петербургского медицинского информационно-аналитического центра. Своим богатым профессиональным и жизненным опытом Ю.И. Мусийчук щедро делился с врачами, средним и младшим медицинским персоналом во время многочисленных лекций и семинаров в медико-санитарных частях ФМБА России, а также на объектах по уничтожению химического оружия. В период с 1997 по 2014 гг. Ю.И. Мусийчук работал в Военно-медицинской академии в должности профессора кафедры военной токсикологии и медицинской

защиты, участвуя в подготовке военных врачей для силовых министерств и ведомств. Обладая энциклопедическими знаниями и богатейшим собственным опытом медицинского обеспечения ликвидации последствий химических аварий и катастроф, Юрий Иванович даже наиболее сложные вопросы токсикологии делал доступными и легкими для понимания слушателями.

Профессор Ю.И. Мусийчук – автор, соавтор и редактор более 400 научных статей, 3 учебников, 65 монографий, сборников и брошюр, 7 изобретений, более 50 официальных документов по вопросам медицинского обеспечения рабочих химической промышленности и 20 экологических экспертиз. Начиная с 2004 г. и по последние дни своей жизни он выполнял титаническую работу по подготовке и выпуску справочника «Вредные вещества в окружающей среде» (СПб.: НПО «Профессионал»), являясь не только его автором и редактором, но и идейным вдохновителем и основной движущей силой этого продолжающегося справочно-энциклопедического издания. Им подготовлено большое число практикующих врачей и руководителей здравоохранения, под его научным руководством выполнено и защищено 3 докторских и 12 кандидатских диссертаций. За многолетнюю плодотворную деятельность по медицинскому обеспечению работников опасных химических производств он награжден орденом «Знак Почета» и несколькими медалями.

Выполняя важные государственные задачи и занимая высокие руководящие посты, Юрий Иванович всегда оставался интеллигентным, порядочным и доброжелательным человеком. Он никогда не шел против своей совести, всегда давал правдивую и принципиальную оценку причинам и медико-экологическим последствиям химических аварий и инцидентов, всегда честно выполнял свой долг ученого и врача при выявлении патологии, связанной с действием химического фактора, бескорыстно помогал молодым специалистам в изучении вопросов токсикологии, медицины труда и профпатологии.

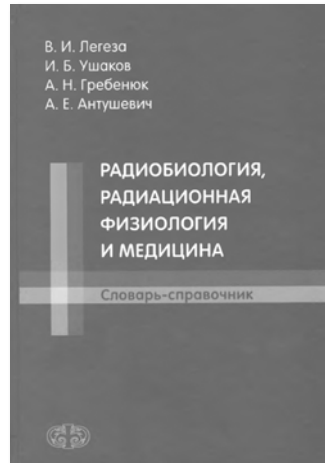
Ученики, друзья и коллеги Юрия Ивановича Мусийчука скорбят о невозможной утрате. Память об этом выдающемся ученом и замечательном человеке навсегда останется в наших сердцах

*Всероссийская общественная
организация токсикологов,
Санкт-Петербургское научное общество
токсикологов,
Военно-медицинская академия
имени С.М. Кирова Минобороны России,
НИИ гигиены, профпатологии и экологии
человека ФМБА России,
Редколлегия журнала «Токсикологический
вестник»*

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

**Легеца В.И., Ушаков И.Б.,
Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е.**
Радиобиология, радиационная физиология и медицина : Словарь-справочник. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб: Изд-во «Фолиант», 2017. – 176 с. ISBN 978-5-93929-279-5

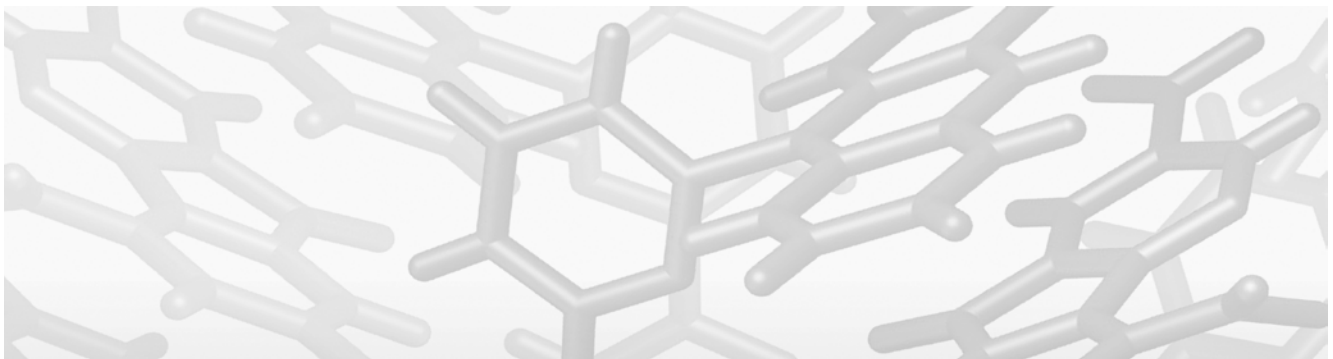
В словаре-справочнике представлены авторские определения терминов и понятий, которые наиболее широко используются в радиобиологии, радиационной медицине и радиационной безопасности. Словарь поможет получить представление об основных понятиях радиационной биофизики и биохимии, молекулярной и клеточной радиобиологии, о механизмах действия ионизирующих излучений на критические ткани и органы, о биологических эффектах различных доз радиации на всех уровнях организации биосистем (от действия на молекулы до эффектов в отношении целостного организма). Значительное внимание уделено описанию клинических форм радиационных поражений, вопросам радиационной экологии, а также терминов, используемых в обеспечении радиационной безопасности. В новом издании существенно увеличилось количество определений, касающихся средств профилактики и лечения радиационных поражений, представлены классификации таких средств, а также данные о механизмах их действия. Реализуя пожелание читателей, в 3-е издание словаря включены персоналии крупнейших отечественных радиобиологов, врачей, генетиков, биофизиков, биохимиков и др. специалистов, внесших значительный вклад в изучение проблем радиобиологии, радиационной физиологии и радиационной медицины. Кроме того, разработан алфавитный указатель,



отсутствующий в предыдущих изданиях словаря, в список литературы включены новые, наиболее крупные источники последних лет.

Словарь адресован, в первую очередь, студентам медицинских и биологических вузов, магистрам, аспирантам и соискателям ученых степеней, особенно при подготовке к сдаче экзамена кандидатского минимума по специальности «радиобиология». Кроме того, словарь может использоваться для работы и повышения квалификации научных работников медицинского, ветеринарного, биологического и экологического профиля, врачей различных клинических и профилактических специальностей, учителей школ и колледжей.

Авторами словаря-справочника являются известные отечественные ученые-радиобиологи: лауреат Государственной премии СССР, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Легеца Владимир Иванович; академик РАН, заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор Ушаков Игорь Борисович; доктор медицинских наук, профессор Гребенюк Александр Николаевич; доктор медицинских наук, профессор Антушевич Александр Евгеньевич. Рецензентами словаря-справочника выступили: заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор Михаил Витальевич Васин (Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, г. Москва) и заслуженный работник высшей школы РФ, доктор медицинских наук, профессор Николай Алексеевич Смирнов (Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург).





Уважаемые коллеги!
Поздравляем Вас с 95-летием Государственной
санитарно-эпидемиологической службы
Российской Федерации.
Желаем успехов и процветания Службе, здоровья,
счастья и творческих успехов сотрудникам!

Редколлегия