

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



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

№ 2 (143), 2017

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

К.И. Усов, Т.А. Гуськова, Г.Г. Юшков, А.В. Машанов, В.В. Игуменьцева РАЗВИТИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ИЗОНИАЗИДУ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА	2
М.П. Сутункова, Б.А. Кацнельсон, Л.И. Привалова, В.Б. Гурвич, Л.К. Конышева, В.Я. Шур, Е.В. Шишкина, И.А. Минигалиева, С.Н. Соловьёва, И.В. Зубарев ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ ЗАДЕРЖКИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НИЗКОУРОВНЕВОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ	12
В.Б. Долго-Сабуров, Н.И. Чалисова, Л.В. Лянгинен, Е.С. Заломаева ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИПЕПТИДА И АМИНОКИСЛОТ НА РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРЫ НЕРВНОЙ ТКАНИ В ПРИСУТСТВИИ ЦИКЛОФОСФАНА	22
П.Г. Толкач, В.А. Башарин, С.Х. Сарманаев ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ КОРРЕКЦИИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ПОРАЖЕНИИ МОНООКСИДОМ УГЛЕРОДА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	27
Н.А. Дурнова, Ю.В. Климова, М.Ю. Воронин ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ GLYPTOTENDIPES GLAUCUS MG. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ СВИНЦА	35
Э.Ф. Репина, А.Р. Гимадиев, В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, Г.В. Тимашева, Н.Ю. Хуснутдинова, Д.А. Смолянкин АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА С СУКЦИНАТОМ НАТРИЯ ..	40
□ Экологическая токсикология Н.И. Силкина, В.Р. Микряков ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У ЛЕЩА АBRAMIS BRAMA ОЗЕРА НЕРО И РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА	43
□ Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ Н.И. Шеина, Э.Г. Скрябина, Л.И. Мьялина, Е.В. Буданова, Л.П. Сазонова, В.В. Колесникова, Г.Г. Чуб МИКРООРГАНИЗМ PSEUDOMONAS AUREOFACIENS ВКМ-2391Д	48
□ Съезды, конференции, совещания	51
□ Юбилейные даты К 90-летию Кушневой Валерии Сергеевны	53
□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам	55

K.I. Usov, T.A. Guskova, G.G. Jushkov, A.V. Mashanov, V.V. Igumensheva THE DEVELOPMENT OF TOXICOLOGICAL TOLERANCE TO ISONIAZID IN EXPERIMENT	2
M.P. Sutunkova, B.A. Katsnelson, L.I. Privalova, V.B. Gurvich, L.K. Konysheva, V.Ya. Shur, E.V. Shishkina, I.A. Minigalieva, S.N. Solovyeva, I.V. Zubarev EXPERIMENTAL AND MATHEMATICAL MODELING OF THE IRON OXIDE NANOPARTICLE PULMONARY RETENTION AT LONG-TERM LOW-LEVEL INHALATION EXPOSURE	12
V.B. Dolgo-Saburov, N.I. Chalisova, L.V. Lyanginen, E.S. Zalomaeva PROTECTIVE EFFECT OF POLYPEPTIDE AND AMINO ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF THE NERVOUS TISSUE CULTURE IN THE PRESENCE OF CYCLOPHOSPHAMIDE	22
P.G. Tolkach, V.A. Basharin, S.Kh. Sarmanaev PROSPECTIVE METHODS FOR CORRECTION OF NEUROTOXIC IMPAIRMENTS CAUSED BY SEVERE CARBON MONOXIDE POISONING (REVIEW)	27
N.A. Durnova, Y.V. Klimova, M.Y. Voronin POLYtene CHROMOSOMES OF GLYPTOTENDIPES GLAUCUS MG. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) AS TEST - OBJEKT TO STUDY TOXIC EFFECTS OF LEAD IONS	35
E.F. Repina, A.R. Gimadiev, V.A. Myshkin, A.B. Bakirov, G.V. Timasheva, N.Y. Khusnutdinova, D.A. Smolyankin ANTI-HYPOXIC ACTIVITY OF THE NEW COMPLEX COMPOUND OF OXYMETHYLURACIL WITH SODIUM SUCCINATE ..	40
□ Ecotoxicology N.I. Silkina, V.R. Mikryakov THE INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC POLLUTION ON SOME INDICATORS OF CONGENITAL IMMUNITY AND OXIDIZING PROCESSES IN BREAM ABRAMIS BRAMA INHABITING LAKE NERO AND THE RYBINSK RESERVOIR	43
□ News on toxicity and hazard of chemical and biological substances N.I. Sheina, J.G. Skryabina, L.I. Myalina, E.V. Budanova, L.P. Sazonova, V.V. Kolesnikova, G.G. Chub MICROORGANISM PSEUDOMONAS AUREOFACIENS ВКМ-2391Д	48
□ Congresses, conferences, meetings	51
□ Anniversaries The 90th anniversary of Kushneva Valeria Sergeevna	53
□ New publications on toxicology and related disciplines	55

УДК 615.015 : 615.28

РАЗВИТИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ИЗОНИАЗИДУ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

К.И. Усов^{1,2}, Т.А. Гуськова³, Г.Г. Юшков¹,
А.В. Машанов¹, В. В. Игumenъцева¹

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

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

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

Статья содержит результаты экспериментальных исследований, позволившие установить факт снижения чувствительности и развития токсикологической толерантности (привыкания) к противотуберкулезному препарату «Изониазид», многократно вводимому лабораторным животным в токсических дозах, а также определить скорость развития токсикологической толерантности, максимальную и среднюю продолжительность жизни, тяжесть проявления судорог.

Ключевые слова: противотуберкулезный препарат, изониазид, токсикологическая толерантность (привыкание), судороги, эпилептический статус, летальность, средняя продолжительность жизни, скорость развития привыкания, рациональная химиотерапия, экспериментальные исследования.

Введение. Основным высокоэффективным синтетическим противотуберкулезным препаратом (ПТП) первого ряда уже более 60 лет остается «Изониазид», он оказывает бактерицидное действие на *Mycobacterium tuberculosis* в стадии размножения, МПК = 0,015 мкг/мл. Изониазид (по химической природе – гидразид изоникотиновой кислоты) действует на возбудителя, расположенного вне- и внутриклеточно (внутриклеточные концентрации в 50 раз превышают внеклеточные). Препарат наиболее эффективен при остро протекающих процессах. Известно, что терапия изониазидом приводит к достаточно быстрому формированию резистентности микобактерий (в 70 % случаев) к действию ПТП «Изониазид» [4] как при монотерапии, так и в условиях различных режимов химиотерапии туберкулеза,

с применением различных ПТП (синтетического ряда и антибиотиков), с включением в их состав изониазида. Проблема развития множественной, а зачастую и мультирезистентности возбудителя туберкулеза к ПТП остается детерминирующей проблемой в определении эффективности и рациональности химиотерапии туберкулеза [14]. Одним из определяющих факторов развития резистентности микобактерий к ПТП, является достаточно продолжительная длительность химиотерапии с применением ПТП. В среднем продолжительность непрерывного, ежедневного приема ПТП составляет от 6 до 16 месяцев [7], что в свою очередь, гипотетически может представлять собой весьма значимую проблему фармако-терапии, связанную с развитием толерантности (привыкания) к длительно применяемым ПТП.

Усов Константин Ильич (Usov Konstantin Ilich), кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабораторией токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, Иркутская область, г. Ангарск, konstausov@yandex.ru

Гуськова Татьяна Анатольевна (Guskova Tatijana Anatolievna), член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки, РФ доктор медицинских наук, профессор, заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества», 115191, г. Москва, tagus@rambler.ru

Юшков Геннадий Георгиевич (Jushkov Gennadij Georgievich), кандидат медицинских наук, доцент, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, Иркутская область, г. Ангарск, prof_ushkov@mail.ru

Машанов Антон Владимирович (Mashanov Anton Vladimirovich), кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, Иркутская область, г. Ангарск, mashan_rpr@mail.ru

Игumenъцева Виктория Валерьевна (Igmenshcheva Viktoriya Valerevna), кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики, доцент кафедры «Экологии и безопасности деятельности человека» ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», 665835, Иркутская область, г. Ангарск, viktorija_igumen@mail.ru

Толерантность (привыкание) – это снижение чувствительности к лекарственному средству после его повторного введения, что вынуждает непрерывно увеличивать дозу для того, чтобы вызвать эффект той же интенсивности, имевшей место после введения меньшей дозы, но что, в свою очередь, может привести к усилению его побочных эффектов. Признаком формирования толерантности является частичная или полная потеря терапевтического (лечебного) эффекта при длительном применении лекарственного средства без явлений лекарственной зависимости, то есть без развития пристрастия [6]. Привыкание к лекарственным средствам можно рассматривать как частный случай общебиологического феномена адаптации организма к внешним воздействиям, проявляющийся снижением эффективности при повторных воздействиях одного и того же лекарства на организм. Оно наблюдается у человека и животных, воспроизводится на изолированных органах и отдельных клетках. У одноклеточных, в частности, у микроорганизмов, явления «привыкания» проявляются развитием устойчивости к действию антибиотиков и других химиотерапевтических средств [13].

Определение толерантности, скорости ее развития, с учетом длительности применения изониазида, а также изучение особенностей его токсического действия при длительном применении является актуальной проблемой лекарственной токсикологии, экспериментальной и клинической фармакологии, разрешение которой, несомненно, позволит специалистам более эффективно и рационально организовать фармакотерапию туберкулеза с использованием изониазида.

Цель исследования. Определить факт и скорость развития токсикологической толерантности при многократном введении препарата «Изониазид» в условиях токсикологического исследования с использованием крыс в качестве экспериментально-биологических моделей.

Материалы и методы исследования. В соответствии с действующими нормативными документами и методическими рекомендациями, принятыми на территории РФ для проведения экспериментальных токсикологических исследований, а также на основе многолетнего экспериментального опыта сотрудников лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ Биофизики ФГБОУ ВО «АнГТУ» по изучению противотуберкулезных препаратов, в качестве экспериментально-биологической модели были выбраны белые нелинейные крысы-самцы массой 180-200 г [10, 12]. Критериями включения животных в эксперимент являлись: заключение Службы ветеринарии Иркутской области, отсутствие видимых проявлений

заболеваний, однородность по массе тела, в ряде случаев – по анализу периферической крови и некоторым другим показателям в соответствии с принятыми в лаборатории стандартными операционными процедурами и паспортом состояния лабораторных животных. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария) (ветеринарное удостоверение 238 № 0019817). Эксперименты были проведены в соответствии с этическими требованиями по работе с экспериментальными животными, изложенными в следующих нормативно-правовых документах: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.) [8], «Правила надлежащей лабораторной практики» (приложение к приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) [9] и разрешены локальным этическим комитетом.

Эксперименты по изучению скорости развития толерантности организма животного к изониазиду осуществляли в трех направлениях.

Первое направление. Проводилось изучение влияния фиксированных (неизменных на протяжении всего эксперимента) токсических доз изониазида, вводимых ежедневно однократно (1 раз в сутки) до наступления летальности. Изониазид применяли в дозах, дробных от среднесмертельной, установленной и рассчитанной по методу Кербера [17]: 1/2 (600 мг/кг), 1/3 (400 мг/кг), 1/4 (300 мг/кг), 1/5 (240 мг/кг) и 1/10 (120 мг/кг) от DL_{50} (1200 мг/кг).

В эксперименте осуществляли общее обследование неврологического статуса крыс (ежедневно), оценивали особенности поведения и судороги по шкале Мареша [11] (ежедневно), регистрировали летальность, максимальную и среднюю продолжительность жизни.

В параллельных группах опыта определяли в плазме крови крыс содержание возбуждающих аминокислот. Определение проводили на аминокислотном анализаторе с постколоночной дериватизацией аминокислот с нингидрином «BioChrom 30+» (Великобритания), концентрацию ГАМК определяли по методике Carmona E. [18], экскрецию изониазида и ацетилизониазида в суточной моче крыс определяли по методике [1] с использованием реагента метаванадата аммония, спектрофотометрически; моча собиралась в обменные клетки чешской фирмы Simax.

Рандомизацию крыс на группы проводили по принципу исследуемого диапазона доз; каждая группа состояла из 10 крыс-самцов ($n = 10$) и представляла отдельную серию эксперимента.

Второе направление. Проводилось изучение влияния однократных (1 раз в сутки), ежедневно вводимых, возрастающих дробных (от установ-

ленной среднесмертельной дозы) доз изониазида, с оценкой клиники отравления, летальности, максимальной и средней продолжительности жизни. Каждая группа состояла из 10 крыс-самцов ($n = 10$) и представляла единую серию эксперимента.

Третье направление. Проводилось установление среднесмертельных доз препарата после длительного введения изониазида крысам (с продолжительностью курса 1, 2, 3 месяца) в максимально суточной дозе 15 мг/кг [7], с учётом коэффициента пересчета с крыс на человека [3]. При установлении среднесмертельных доз изониазида оценивали клинику отравления, определяли среднюю продолжительность жизни крыс. Каждая группа состояла из 10 крыс-самцов ($n = 10$) и представляла отдельную серию эксперимента.

В экспериментах использовали препарат «Изониазид®» производства ОАО «Московское производственное химико-фармацевтическое объединение им. Н.А. Семашко», г. Москва (таблетки, 0,3 г). Животным вводили препарат однократно, внутривенно в виде суспензии с дистиллированной водой с помощью металлического атравматичного зонда. Дозирование проводили по количеству активного вещества (изониазида) в таблетке, индивидуально для каждого подопытного животного с учетом ежедневного мониторинга массы тела, измеряемого за 30 минут до введения изониазида. Перед введением препарата таблетки растирались в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл [15].

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007, входящем в состав лицензионного пакета офисных приложений для комплексной обработки данных Microsoft Office 2007 (Microsoft Co., США); правообладатель лицензии ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет». Вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку среднего арифметического значения (m). Достоверными считались результаты при $p \leq 0,05$. Методики расчета показателей соответствуют общепринятым, изложенным в руководстве по математической статистике для медико-биологических исследований [2].

Результаты и обсуждение. Полученные данные летальности, средней и максимальной продолжительности жизни крыс, в условиях ежедневного перорального введения препарата «Изониазид», в установленной нами ранее среднесмертельной дозе ($DL_{50} = 1233 \pm 43$ мг/кг – крысы-самцы) [17] и 1/2, 1/3, 1/4 и 1/5 от DL_{50} , до наступления летальности, приведены в таблице 1. Ранее проведенные нами эксперименты по изучению клиники

острой токсичности изониазида показали, что при его введении в среднесмертельной дозе летальность наступала не позднее первых суток от момента введения, далее животные постепенно выходили из состояния визуальной определяемой интоксикации, и в более поздние сроки наблюдения летальность отсутствовала [16].

Повторное введение среднесмертельной дозы изониазида через 24 ч (2 сутки), крысам, заведомо перенесших острое отравление, вызванное введением DL_{50} изониазида, приводило к летальности 100 % крыс. Ежедневное введение изониазида в дозе 600 мг/кг (1/2 от DL_{50}) приводило к летальности 20 % крыс лишь к концу первой недели введения (на 6-7 сутки введения) и только к концу 3 недели летальность достигла 100 %, максимальная переносимость крыс определялась введением 19 доз 1/2 от DL_{50} , введение 20 дозы 1/2 от DL_{50} привело к наступлению 100 %-й летальности – этот феномен можно расценить как истинный признак развития толерантности организма крыс к изониазиду, так как за весь период эксперимента животные выдержали воздействие 10 эквивалентов среднесмертельной дозы изониазида, что определялось полученной крысами суммарной (курсовой) дозы (табл. 1). Применение изониазида в относительно низких дробных дозах (1/3, 1/4, 1/5 от DL_{50}) приводило лишь к увеличению скорости развития дозозависимой толерантности крыс к изониазиду и определялась введением, соответственно, 64 (1/3 от DL_{50}), 170 (1/4 от DL_{50}), 182 (1/5 от DL_{50}) доз на курс. Введение изониазида в дозе 1/10 от DL_{50} приводило к наступлению летальности 10 % крыс, к концу 181 суток. Средняя продолжительность жизни достоверно увеличивалась (табл. 1) в зависимости от кратности применяемых доз изониазида, что определяло и скорость формирования дозозависимой толерантности.

В целом, на протяжении всего эксперимента, в клинической картине острого воздействия (первые 20 суток введения изониазида) и последующего ежедневного введения, длительностью 65, 170, 182 суток (до наступления 100 % летальности крыс) преобладали признаки расстройства функций нервной системы, связанные, по-видимому, с тем, что препарат хорошо и быстро проникает через гематоэнцефалический барьер. Первичная симптоматика проявлялась двумя фазами: торможения и тяжелого двигательного возбуждения, эпистатуса. Фаза двигательного торможения (первая фаза) сопровождалась снижением локомоции (двигательной активности), «замиранием» животных, заторможенной реакцией на свет, звук (продолжительность фазы – 15-40 мин в зависимости от вводимой дозы). Первым, визуально определяемым симптомом приближения фазы «тяжелого двигательного

Таблица 1

Летальность, средняя и максимальная продолжительность жизни крыс при ежедневном пероральном введении препарата «Изониазид» (n = 50)

Доза препарата «Изониазид»	Летальность*					Средняя продолжительность жизни, 00:00 – часы, минуты (M ± m)	Максимальная продолжительность жизни**
	Через 24 ч	Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 3 месяца	Через 6 месяцев		
1200 мг/кг (DL ₅₀)	5/10	5/5	-	-	-	12:59 ± 4,3 (1)	2 суток
600 мг/кг (1/2 от DL ₅₀)	0/10	2/10	8/8	-	-	243:58 ± 36,5 (2)	20 суток
400 мг/кг (1/3 от DL ₅₀)	0/10	0/10	4/10	6/6	-	771:16 ± 42,5 (3)	65 суток
300 мг/кг (1/4 от DL ₅₀)	0/10	0/10	1/10	3/9	6/6	2824:30 ± 401,1 (4)	170 суток
240 мг/кг (1/5 от DL ₅₀)	0/10	0/10	0/10	2/10	8/8	3526:37 ± 333,8 (5)	182 суток
Коэффициент достоверности между экспериментальными группами (t)						t ₁₋₂ = 7,0; t ₁₋₃ = 17,8; t ₁₋₄ = 7,0; t ₁₋₅ = 10,5	

Примечание: * – в числителе – количество погибших крыс (летальность), в знаменателе – общее количество животных в группе, с учетом хронологической летальности крыс в экспериментальной группе;

** – максимальное время жизни последнего подопытного животного в экспериментальной группе, установленное по факту определения летальности (наступления биологической смерти);

возбуждения» у крыс, было разведение пальцев передних и задних конечностей в стороны, появление этого клинического симптома у крыс, в 70-80 % случаев, свидетельствовало о начале развития судорожного синдрома, эпистатуса. Фаза двигательного возбуждения, эпистатуса (вторая фаза) возникала вследствие снижения синтеза тормозного нейромедиатора ГАМК путем ингибирования пиридоксальфосфат-зависимого фермента декарбоксилазы глутаминовой кислоты [19] (табл. 2) и характеризовалась повышением рефлекторной возбудимости на свет, звук и переходом от единичных судорожных проявлений к развитию самоподдерживающегося симптоматического эпилептического статуса, с финальным проявлением болезненных для животного генерализованных клонико-тонических судорог, сопровождающихся сильной и достаточно продолжительной ригидностью мышц (тонические судороги) с последующим ритмическим чередованием мышечных сокращений и расслаблений (клонические судороги), а в некоторых случаях –

с наступлением глубокой комы. Определяемая на фоне величин динамического контроля избыточность аспартата и эндогенного глутамата (возбуждающих нейромедиаторов) и снижение концентрации ГАМК, по-видимому, является пусковым механизмом в развитии фазы тяжелого «двигательного возбуждения» (табл. 2).

Максимальная продолжительность эпистатуса – 2 ч при введении дробных доз от среднесмертельной, а при введении среднесмертельной дозы изониазид, максимально – до 5 ч, при соблюдении звукового и светового покоя. Динамика тяжести проявлений фазы «двигательного возбуждения», судорог, эпистатуса, представлена графической зависимостью от продолжительности ежедневного введения изониазид (рис. 1).

Максимальный судорожный синдром проявлялся при введении изониазид в дозе 600 мг/кг (1/2 от DL₅₀), на 8-11 сутки у крыс формировался эпистатус с проявлением болезненных клонико-тонических судорог. Судороги повторно инициировались при внешнем звуковом раздра-

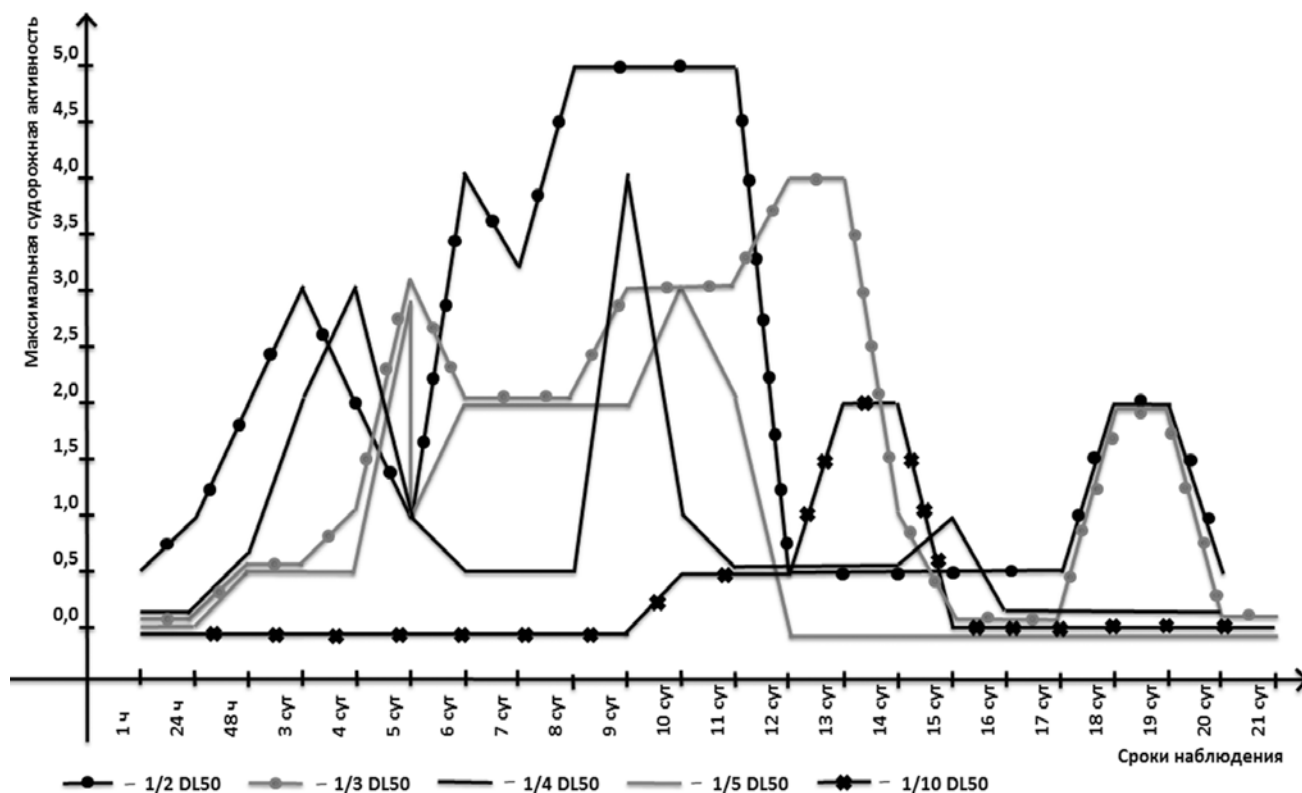


Рис. 1. Динамика тяжести судорог у крыс в фазу «двигательного возбуждения»

жении, в 30-50 % случаев с последующим вхождением животных в состояние глубокой комы и к 60 %-й летальности крыс в группе. В последующие 12-17 суток развивался рефрактерный (бессудорожный) период, последующее формирование судорожного синдрома проявлялось со значительно меньшей интенсивностью (рис.1), с проявлением лишь атипичных минимальных судорог, вздрагиванием всего тела, напоминающим озноб при лихорадке и эпизодами клонуса мышц головы, конечностей, глазные щели были прикрыты. К 20 суткам наступала 100 % летальность всех подопытных крыс, получавших изониазид в дозе 600 мг/кг (суммарная курсовая доза 12 г/кг). Интенсивность проявления судорог носила дозозависимый характер. К 21-м суткам ежедневного введения изониазида практически во всех группах наступал «большой» рефрактерный период, что было расценено нами, как наступление этапа стойкой толерантности к изониазиду, особенно показательного при введении изониазида в дозах 300 и 240 мг/кг (табл. 1). При введении изониазида в этих дозах, начиная с 2 месяца введения, наблюдалось достоверное повышение массы тела, средняя масса тела крыс в подопытных группах на конец 4 месяца достигла максимума $292,0 \pm 3,1$ г (при введении изониазида в дозе 300 мг/кг), $302,2 \pm 2,8$ г (при введении

изониазида в дозе 240 мг/кг), а у крыс из групп динамического контроля данный показатель составил, соответственно, $186,8 \pm 2,6$ и $192,2 \pm 3,0$ г при $p \leq 0,05$. Прирост массы тела можно объяснить относительно хорошим потреблением корма у крыс и преобладанием синтетических процессов обмена на фоне воздействия изониазидом, судороги регистрировались в этот период крайне редко и только у некоторых крыс. Как правило, через 30-40 минут после введения изониазида у крыс снижалась двигательная активность и наступал чуткий сон, при этом животные занимали характерную для этого периода наблюдения позу: скручиваясь в комочек, с подгибанием головы внутрь тела, оставаясь при этом на двух задних конечностях на опоре пола клетки, продолжительность сна – до 1 часа, после пробуждения признаки интоксикации визуально «стирались» и общее, визуально определяемое состояние подопытных крыс не отличалось от контрольных животных, что свидетельствовало о формировании стойкой толерантности крыс к ежедневно вводимым токсическим дозам изониазида. В более поздний период наблюдения (к концу 5-6 месяца непрерывного введения изониазида в дозах 300 и 240 мг/кг) следовало проявление вторичной симптоматики нейроорганоотоксического генеза, с усиливающимся во времени проявлением

Таблица 2

Динамика сопряженной нейрометаболической системы: эндогенный глутамат-ГАМК и аспартата в крови крыс при пероральном введении препарата «Изониазид», n = 180

Доза препарата (доля от DL ₅₀)	Показатель, нмоль/мл	Через 1 ч после 1-го введения	10 сутки введения	20 сутки введения
1200 мг/кг (DL ₅₀)	Аспартат	17,2 ± 1,1	100 % летальность	100 % летальность
	Глутамат	40,1 ± 2,8		
	ГАМК	8,5 ± 1,4		
	ГАМК / глутамат	0,2		
600 мг/кг (1/2 от DL ₅₀)	Аспартат	6,9 ± 0,8*	13,87 ± 0,8	100 % летальность
	Глутамат	20,8 ± 0,7	33,9 ± 3,0	
	ГАМК	29,0 ± 2,1	12,2 ± 1,6	
	ГАМК / глутамат	1,4	0,3	
400 мг/кг (1/3 от DL ₅₀)	Аспартат	4,5 ± 1,2	8,1 ± 2,1	6,8 ± 1,4
	Глутамат	21,5 ± 1,0	29,5 ± 0,6	21,8 ± 2,6
	ГАМК	34,1 ± 2,8	20,8 ± 3,4	30,9 ± 1,2
	ГАМК / глутамат	1,6	0,7	1,4
300 мг/кг (1/4 от DL ₅₀)	Аспартат	4,8 ± 0,4	7,9 ± 0,5	3,9 ± 0,3*
	Глутамат	18,1 ± 1,2	24,1 ± 0,8	20,0 ± 1,2
	ГАМК	38,5 ± 3,1*	32,1 ± 2,2*	42,0 ± 4,0*
	ГАМК/глутамат	2,1	1,3	2,1
240 мг/кг (1/5 от DL ₅₀)	Аспартат	4,6 ± 0,9*	10,1 ± 0,3	4,2 ± 0,6*
	Глутамат	16,0 ± 0,8*	30,2 ± 2,3	16,2 ± 0,4*
	ГАМК	42,0 ± 5,2*	18,2 ± 3,0	40,7 ± 4,0*
	ГАМК / глутамат	2,6	0,6	2,5
120 мг/кг (1/10 от DL ₅₀)	Аспартат	5,5 ± 0,5	3,8 ± 0,7*	4,0 ± 0,6*
	Глутамат	17,2 ± 1,1*	15,5 ± 1,6*	18,1 ± 1,2
	ГАМК	40,0 ± 4,0*	42,3 ± 2,1*	45,2 ± 3,9*
	ГАМК / глутамат	2,3	2,7	2,5
Динамический контроль	Аспартат	3,4 ± 0,3	3,1 ± 0,3	3,6 ± 0,5
	Глутамат	14,7 ± 0,9	14,4 ± 1,2	15,2 ± 0,5
	ГАМК	44,6 ± 4,1	44,1 ± 2,3	43,2 ± 3,5
	ГАМК / глутамат	3,0	3,1	2,8

Примечание: * – различия статистически недостоверные при $p \leq 0,05$

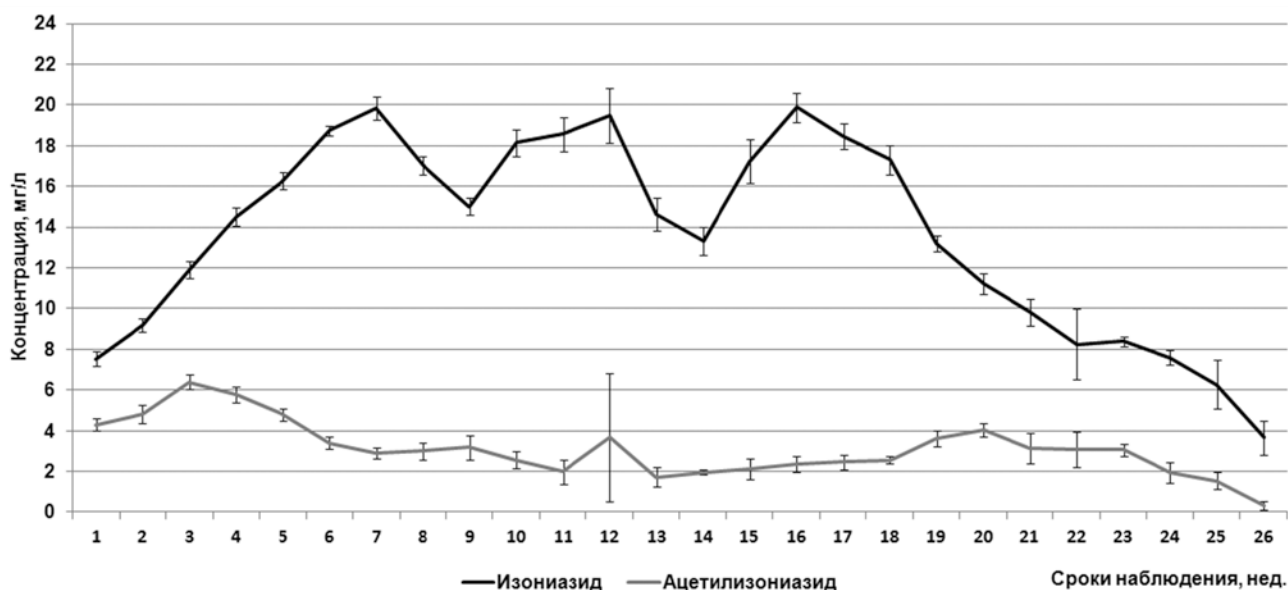


Рис. 2. Концентрационные профили зависимости изменения концентрации изониазида и ацетилизониазида от длительности введения изониазида в разовой ежедневной дозе 240 мг/кг (1/5 от DL₅₀)

следующих симптомов: 1) поза Вернике-Манна у 30 % подопытных крыс, проявляющаяся центральным гемипарезом статического характера и диагностированным односторонним спастическим напряжением мышц сгибателей правой передней лапы и разгибателей задней правой лапы у крыс, с ухудшением состояния ближе к концу 6 месяца эксперимента; 2) изменение мышечного тонуса (мышечной дистонии), в сторону его снижения – гипотонии (у 30 % подопытных крыс), вплоть до полной атонии; 3) общая заторможенность, вялость, сонливость, малоподвижность, снижение потребления корма и потеря способности ухода за собой. За 3-6 дней до наступления биологической смерти у 20 % подопытных крыс диагностировали хромодакриаррею (наличие красных порфириновых корочек вокруг глаз) и порфириновый эпистаксис (выделения порфирина из полости носа).

В целом к шестому месяцу введения изониазида у крыс отмечено усиление процесса биологического старения: зубы и когти приобретали желто-коричневый цвет, выпадали, наблюдалась нефрагментарная алопеция по всей площади поверхности тела крыс, шерсть выглядела неопрятно. После 24-25 недель ежедневного введения изониазида у крыс развивалась поздняя диарея (30-40 % случаев) или обстипация (60-70 %), по-видимому, вследствие хронической фармакологической стимуляции изониазидом моторной активности кишечника. Все проявления вторичной симптоматики свидетельствовали о развитии признаков функциональной кумуляции на фоне определяемого снижения экскреции изониазида через почки у животных, на поздних сроках на-

блюдения (рис. 2). Введение изониазида в дозе 120 мг/кг (1/10 от DL₅₀), приводило к отсроченным во времени эффектам с более низкой интенсивностью симптоматического проявления признаков интоксикации, судорожный синдром проявлялся с максимальной силой только к 13-14 суткам введения изониазида и был оценен максимально в 2 балла по шкале Мареша (рис. 1). Наблюдения, проводимые нами, после 15 суток введения изониазида в дозе 120 мг/кг свидетельствовали о значительном улучшении состояния крыс, которое проявлялось отсутствием судорог, физиологически нормальной двигательной активностью и поддержанием позы животного, хорошим потреблением корма, отсутствием патологических рефлексов и выделений из естественных отверстий. Начиная с 4 месяца введения, у подопытных животных отмечен достоверный прирост массы которая к 6 месяцу достигла $322,6 \pm 4,3$ г, по сравнению с величинами, полученными от групп крыс динамического контроля $198,1 \pm 2,9$ г, при $p \leq 0,05$. Только к концу 5 месяца введения была отмечена летальность одного животного (181 сутки введения), суммарная курсовая доза изониазида для первого погибшего животного составила 21,72 г/кг, что свидетельствует о выработке стойкой толерантности к токсической дозе изониазида.

Изучение динамики концентрации изониазида и ацетилизониазида, экскретируемого почками в мочу у подопытных животных, получавших препарат в дозе 1/5 от DL₅₀ (рис. 2), позволило установить, что количество определяемого изониазида статистически достоверно повышалось, а количество определяемого ацетилизониазида снижа-

Таблица 3

Динамика летальности крыс при пероральном введении изониазида в постоянно возрастающих дробных дозах от установленной среднесмертельной дозы изониазида

Показатели	«Лестница» исследуемых возрастающих доз изониазида					
	120 мг/кг (1/10 от DL ₅₀)	240 мг/кг (1/5 от DL ₅₀)	300 мг/кг (1/4 от DL ₅₀)	400 мг/кг (1/3 от DL ₅₀)	600 мг/кг (1/2 от DL ₅₀)	1200 мг/кг (DL ₅₀)
Длительность введения изониазида, дни	10	5	4	3	2	1
Схема введения изониазида в возрастающих дозах	с 1 по 10 сутки	с 11 по 15 сутки	с 16 по 19 сутки	с 20 по 22 сутки	с 23 по 24 сутки	25 сутки
Суммарная доза изониазида на конец каждого курса введения, мг/кг	1200	2400	3600	4800	6000	7200
Максимальное проявление судорог (баллы по шкале Мареша*)	0,5	2	4	2	3	4
Процент проявления судорог у крыс, %	20	70	100	44,5	12,5	62,5
Летальность**	0/10	0/10	1/10	1/9	0/8	0/8
Максимальная продолжительность жизни погибших крыс*** (00:00 - часы, минуты)	-	-	432:55	509:20	-	-

Примечание: * – 0,5 балла (абerrации в поведении), 2 балла (атипичные миоклонические судороги, слабые и умеренные вздрагивания всего тела), 3 балла (минимальные судороги с проявлением клонуса мышц головы и конечностей, сильными вздрагиваниями всего тела с отрывом от пола), 4 балла (тонические судороги тела, клонус передних конечностей, поза «кенгуру»). ** – в числителе: количество погибших крыс (летальность), в знаменателе – общее количество животных в группе, с учетом хронологической летальности крыс в экспериментальной группе. *** – максимальное время жизни подопытного животного в экспериментальной группе, установленное по факту определения его летальности (наступления биологической смерти).

лось прямо пропорционально в зависимости от длительности введения препарата. Полученные данные свидетельствует о хронологическом развитии метаболического синдрома у подопытных крыс, направленного на формирование форсированного выведения изониазида из организма, что было тормозным механизмом в отсутствие проявлений признаков материальной кумуляции изониазида. Установленный феномен, а также оценка динамики сопряженной нейрометаболической системы: эндогенный глутамат-ГАМК и аспартат в крови крыс (табл. 2), в определенной степени объясняет развитие стойкой толерант-

ности к ежедневному введению изучаемой токсической дозы изониазида.

Изучение динамики формирования толерантности к изониазиду в исследованиях с введением постоянно возрастающих, кратных от среднесмертельной дозы изониазида, показало развитие стойкой толерантности организма крыс к действию токсических доз изониазида по летальному эффекту (табл. 3).

На 25 сутки на фоне введения возрастающих доз изониазида, введение крысам среднесмертельной дозы изониазида (1233±43 мг/кг, табл. 3) привело к отсутствию летальности крыс. Судоро-

Таблица 4

Динамика летальности крыс при ежедневном пероральном введении препарата «Изониазид» в течение 30, 60 и 90 дней с последующим определением DL₅₀ (n = 60)

Длительность введения препарата	Ежедневное введение препарата			Однократное введение препарата после курсового применения		
	Доза препарата в сутки	Суммарная (курсовая) доза препарата, мг/кг	Летальность крыс	DL ₅₀ ' установленной на интактных крысах, мг/кг	Летальность крыс после введения DL ₅₀ ' установленной на интактных крысах	DL ₅₀ на 31, 61, 91 сутки от начала эксперимента, мг/кг
30 суток	15 мг/кг	450 мг/кг	0/10	1233 ± 43	3/10	1350 ± 43
60 суток	15 мг/кг	900 мг/кг	0/10	1233 ± 43	1/10	1566 ± 38
90 суток	15 мг/кг	1350 мг/кг	0/10	1233 ± 43	0/10	1810 ± 48

рожная активность после введения на 25 сутки изониазида была максимальна, и в фазу тяжелого двигательного возбуждения у 62,5 % крыс судороги достигали 4-5 баллов по шкале Мареша, в 38 % случаев после клонических, тонических или тонико-клонических судорог наступало состояние глубокой комы, средней продолжительностью 01 час 27 минут ± 12,74, с последующим самостоятельным выходом животных из состояния «изониазидовой» комы. В целом, изучение процесса формирования толерантности к изониазиду в эксперименте с лестничным наращиванием токсических доз изониазида, привело к летальности лишь 20 % крыс. Оценивая токсикологическую толерантность к изониазиду в процентах, по летальному эффекту она оказалась равна 80 %.

Изучение курсового введения изониазида в дозе 15 мг/кг в течение 30, 60 и 90 суток показало снижение чувствительности крыс при введении им среднесмертельной дозы вследствие развития токсикологической толерантности организма крыс к изониазиду (табл. 4).

Процент повышения установленных среднесмертельных доз изониазида у крыс, предварительно получавших курсами изониазид в дозе 15 мг/кг, с продолжительностью курсов 30, 60 и 90 суток, составил соответственно: 9 % → 21 % → 32 %, что свидетельствует о формировании токсикологической, дозозависимой, стойкой толерантности организма крыс к изониазиду. Изучение средней продолжительности жизни погибших животных за время наблюдения не выявило статистически достоверных отличий. Клиническая картина интоксикации, в целом, развивалась однотипно, как и при однократном введении в эксперименте по установлению па-

раметров острой токсичности, так и после курсового применения: гибель животных наступала в состоянии эпистатуса.

Исследования по введению изониазида в разное время суток продемонстрировали тенденцию к усилению скорости развития толерантности при применении препарата в 22 часа вечера.

Заключение. Проведенные экспериментальные исследования позволили установить факт и скорость развития толерантности к изониазиду в условиях токсикологического эксперимента, а также определить максимальную переносимость крысами токсических доз изониазида, в зависимости от длительности введения препарата. В экспериментах по изучению введения возрастающих токсических доз изониазида, включая среднесмертельную, была определена 80 %-я стойкая толерантность к изониазиду. Длительное введение изониазида, в дозе 15 мг/кг в течение 90 суток с последующим введением среднесмертельной дозы приводило к отсутствию летальности, что также свидетельствует о формировании стойкого привыкания организма крыс к изониазиду. В основе механизмов развития привыкания к изониазиду может лежать индукция микросомальных ферментов, известно, что изониазид индуцирует изофермент 2E1 цитохрома P-450 [5]. Полученные экспериментальные данные могут быть использованы при формировании рациональной фармакотерапии и фармакологической профилактики туберкулеза с применением изониазида, а также для дальнейшего изучения факторов, влияющих на усиление или ослабление скорости формирования толерантности, что особенно актуально при применении комбинаций противотуберкулезных лекарственных средств, содержащих изониазид.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гармонов С.Ю., Шитова Н.С., Яковлева (Жарехина) А.В., Юсупов Р.А. Метод косвенного определения активности N-ацетилтрансферазы при использовании в качестве реагента метаванадата аммония для оценки экскреции изониазида с мочой человека. Химио-фармацевтический журнал. 2008; 42 (8): 49-53.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика (пер. с англ.) / Москва: Практика, 1999; 459.
3. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. Москва: ИД «Русский врач»; 2003; 154.
4. Изониазид (Isoniazid), инструкция по применению. Available at: <http://www.medicinform.net/spravka/z/z104.htm>.
5. Клиническая фармакология: национальное руководство / под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепихина, В.И. Петрова. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014; 976.
6. Куценко С.А. Основы токсикологии. Available at: URL: <http://www.medline.ru/public/monografy/toxicology/#contents1p>.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Москва: Новая Волна, 2012; 1216.
8. О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных: приказ МЗ СССР от 12 августа 1977 г. № 755. Available at: URL: <http://www.vita.org.ru/exper/order-peotrovsky.htm>.
9. Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики: приказ министерства здравоохранения и социального развития РФ от 01 апреля 2016 г. № 199н. Available at: <http://www.docs.cntd.ru/document/420350679>.
10. РД 64-126-91 «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». Москва; 1991.
11. Редкозубова О.М. Особенности развития эпилептического статуса и способов его купирования у крыс разного возраста на литий-пилокарпиновой модели: дис. канд. биол. наук / М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2007; 200.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. ЧАСТЬ ПЕРВАЯ. МОСКВА: ГРИФ И К; 2012
13. Соловьев А.И. Почему организм привыкает к лекарственным средствам и можно ли с этим бороться? Фармацевт Практик. 2016; 5. Available at: URL: <http://www.fp.com.ua/articles/pochemu-organizm-privyikaet-k-lekarstvennyim-sredstvam-i-mozhno-li-s-etim-borotsya/>.
14. Стерликов С.А. Эффективность лечения пациентов с мультирезистентным туберкулезом в Российской Федерации и пути ее повышения. Здравоохранение Российской Федерации. 2014; 58 (5): 26-29.
15. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Онкиенко Ф.А. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. Москва: Медицина; 1978.
16. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г., Машанов А.В. Влияние хронобиологических ритмов на токсичность противотуберкулезного препарата «Изониазид» в условиях эксперимента. Токсикологический вестник. – 2016; 2: 31-36.
17. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г., Машанов А.В. Чувствительность животных различных возрастных групп к изониазиду в условиях токсикологического эксперимента. Токсикологический вестник. 2016; 5: 36-43.
18. Carmona E., Gomes C., Trolin G. Purification of GABA on Small Columns of Dowex 50W; Combination with a Method for Separation of Biogenic Amines. Acta Pharmacol. et Toxicol. 1980; 46: 235-240.
19. Eyüboğlu T., Derinöz O. Rhabdomyolysis due to Isoniazid Poisoning Resulting from the Use of Intramuscular Pyridoxine. Turkish Journal of Pediatrics. 2013; 55: 328-330.

REFERENCES:

1. Garmonov S. Yu., Shitova N. S., Yakovleva (Zharekhina) A. V., Yusupov R. A. Indirect Determination of N-Acetyltransferase Activity Using Ammonium Methavanadate Reactant for Evaluating Isoniazid Excretion with Human Urine. Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 2008; 42 (8): 49-53.
2. Glants S. Primer of Biostatistics. Moscow: Praktika, 1999 (in Russian).
3. Guskova T. A. Toxicology of drugs. Moscow: ID «Russkiy vrach», 2003 (in Russian).
4. Isoniazid, instruction manual. Available at: <http://www.medicinform.net/spravka/z/z104.htm> (accessed 23 January 2017) (in Russian).
5. Clinical pharmacology: national leadership. Moscow: GEOTAR-Media, 2014 (accessed 23 January 2017) (in Russian).
6. Kutsenko S. A. Fundamentals of toxicology. Available at: URL: <http://www.medline.ru/public/monografy/toxicology/#contents1p> (accessed 20 January 2017) (in Russian).
7. Mashkovskiy M. D. Medicines. Moscow: Novaya Volna, 2012 (in Russian).
8. On measures on further improvement of the organizational forms of work with the use of experimental animals. Available at: <http://www.vita.org.ru/exper/order-peotrovsky.htm> (accessed 5 May 2016) (in Russian).
9. Approval of the rules of good laboratory practice. Available at: <http://www.docs.cntd.ru/document/420350679> (accessed 20 January 2017) (in Russian).
10. RD 64-126-91. Terms of preclinical safety evaluation of pharmacological substances (GLP). Moscow; 1991 (in Russian).
11. Redkozubova O. M. Features of development of status epilepticus, and edema in rats of different ages on lithium-pilocarpine model. Cand. biol. sci. diss. Moscow: MGU, 2007; 200 (in Russian).
12. The guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Moscow; 2012 (in Russian).
13. Solovov A. I. Why the Body Gets Used to the Medicines and Whether to Deal with it? Farmatsevt Praktik. 2016; 5. Available at: URL: <http://www.fp.com.ua/articles/pochemu-organizm-privyikaet-k-lekarstvennyim-sredstvam-i-mozhno-li-s-etim-borotsya/> (accessed 20 January 2017) (in Russian).
14. Sterlikov S. A. The Effectiveness of Treatment of Patients with Multiresistant Tuberculosis in the Russian Federation. Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii. 2014; 58 (5): 26-29 (in Russian).
15. Trakhtenberg I. M., Sova R. E., Sheftel V. O., Onikienko F. A. Performance standards in laboratory animals in toxicological experiment. Moscow; 1978 (in Russian).
16. Usov K. I., Guskova T. A., Jushkov G. G., Mashanov A. V. The influence of chronobiological rhythms on the toxicity of anti-tuberculosis drug «isoniazid» in the experiment. Toksikologicheskiy vestnik. 2016; 2: 31-36 (in Russian).
17. Usov K. I., Guskova T. A., Jushkov G. G., Mashanov A. V. The Sensitivity of Animals of Different Age Groups to Isoniazid in Conditions Toxicological Experiment. Toksikologicheskiy vestnik. 2016; 5: 36-43 (in Russian).
18. Carmona E., Gomes C., Trolin G. Purification of GABA on Small Columns of Dowex 50W; Combination with a Method for Separation of Biogenic Amines. Acta Pharmacol. et Toxicol. 1980; 46: 235-240.
19. Eyüboğlu T., Derinöz O. Rhabdomyolysis due to Isoniazid Poisoning Resulting from the Use of Intramuscular Pyridoxine. Turkish Journal of Pediatrics. 2013; 55: 328-330.

K. I. Usov^{1,2}, T. A. Guskova³, G. G. Jushkov¹, A. V. Mashanov¹, V. V. Igumensheva¹

THE DEVELOPMENT OF TOXICOLOGICAL TOLERANCE TO ISONIAZID IN EXPERIMENT

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

²Irkutsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, 664003, Irkutsk, Russian Federation.

³Non-commercial partnership for healthcare assistance «Scientific Center of Quality Control», 115191 Moscow, Russian Federation.

Results of experimental studies are reported that made it possible to establish decrease in sensitivity and the development of toxicological tolerance (addiction) to the anti-tuberculosis drug “Isoniazid” repeatedly administered to laboratory animals in toxic doses and to determine growth rate of the toxicological tolerance development, maximum and average life expectancy, severity of seizures.

Key words: anti-tuberculosis preparation, isoniazid, toxicological tolerance (addiction), convulsions, epileptic status, lethality, life expectancy, rate of addiction development, rational chemotherapy, experimental studies.

Материал поступил в редакцию 09.02.2017 г.

УДК 546.723-31 : 615.916

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ ЗАДЕРЖКИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НИЗКОУРОВНЕВОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

М.П. Сутункова¹,
Б.А. Кацнельсон¹, Л.И. Привалова¹,
В.Б. Гурвич¹, Л.К. Коньшева¹,
В.Я. Шур², Е.В. Шишкина²,
И.А. Минигалиева¹,
С.Н. Соловьёва¹, И.В. Зубарев²

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

²Уральский Центр коллективного
пользования «Современные нанотехнологии»
Уральского федерального университета.
Екатеринбург, Российская Федерация

Витающие наночастицы (НЧ) оксида железа Fe_2O_3 со средним диаметром 14 ± 4 нч, образующиеся при искровой абляции электродов из железа 99.99% чистоты подавались в затравочную установку типа «только нос» для крыс по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 3, 6 или 10 мес. при средней концентрации 1.14 ± 0.01 мг/м³. Наночастицы, отфильтрованные из воздуха, отсасываемого из этой установки, оказались нерастворимыми в деионизированной воде, но постепенно растворялись в бесклеточном супернатанте жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже, и в стерильной бычьей сыворотке крови. Содержание Fe_2O_3 в лёгких было измерено с помощью ЭПР-спектроскопии, а факт задержки НЧ в лёгких и головном мозгу визуализирован при просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Найдено относительно низкое, но значимое накопление Fe_2O_3 в лёгких, постепенно нарастающее во времени, но с тенденцией к достижению равновесного уровня. При ПЭМ обнаружена задержка НЧ в альвеолоцитах и в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон, связанная с их ультраструктурным повреждением.

Разработана и идентифицирована многокамерная математическая модель, описывающая токсикокинетику ингалированных НЧ после отложения в глубоких дыхательных путях как процесс, контролируемый (а) их высокой способностью пенетрировать через альвеолярную мембрану; (б) активным эндоцитозом; (в) растворением «ин vivo». Однако в этом конкретном исследовании именно механизмы, зависящие от растворения, оказались доминирующими из-за относительно высокой растворимости мельчайших Fe_2O_3 -НЧ в биологических средах.

Ключевые слова: железоксидные наночастицы, токсикокинетика, системные модели.

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), к.м.н., заведующая лабораторией токсикологии внешней среды ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, marinasutunkova@yandex.ru

Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, bkaznelson@etel.ru

Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), д.м.н., профессор, заведующая лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП; 620014, г.Екатеринбург, privalova@ymrc.ru

Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), д.м.н., директор ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, gurvich@ymrc.ru

Коньшева Людмила Константиновна (Konysheva Ludmila Konstantinovna), к.б.н., научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, konkl@yandex.ru

Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich), д.ф.-м.н. профессор Уральского Центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, vladimir.shur@urfu.ru

Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna), к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Уральского Центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., заведующая лабораторией промышленной токсикологии ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, ilzira-minigalieva@yandex.ru

Соловьёва Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolayevna), младший научный сотрудник лаборатории токсикологии внешней среды ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, solovyevasn@ymrc.ru

Зубарев Илья Владимирович (Zubarev Ilya Vladimirovich), Уральский Центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, ilya.zubarev@urfu.ru

Введение. Будучи практически нерастворимыми в деионизированной воде, металлические и в особенности металлооксидные наночастицы (Me-НЧ), более или менее быстро растворяются *in vitro* в физиологическом растворе, но ещё больше – в биологических и модельных жидких средах, что указывает на высокую вероятность их растворимости *in vivo*. Токсикологическая значимость этого растворения не только ожидается *априори* [1], но и демонстрируется многими экспериментальными данными, в том числе, нашими собственными, полученными при субхронической внутрибрюшинной экспозиции крыс к НЧ металлического серебра в сравнении с заметно менее растворимыми НЧ металлического золота [2] и особенно к НЧ оксида меди [3] и оксида марганца [4]. Вместе с тем, хорошо известное из многих экспериментов, в том числе и наших, проведенных с этими же и другими Me-НЧ при их парентеральном введении [5,6] преимущественное накопление НЧ в печени и селезёнке – органах, богатых клетками РЭС, косвенно указывает на существенную токсикокINETическую роль резидентных макрофагов.

Однако особое значение имеет сравнительная оценка влияния растворимости и фагоцитоза на судьбу НЧ, отлагающихся в глубоких дыхательных путях при хронической ингаляционной экспозиции. Последняя наиболее важна именно для металлооксидных НЧ, поскольку они составляют существенную фракцию промышленных аэрозолей не только в наноиндустрии, но и при многих давно существующих технологиях (электросварка, сталеплавильное производство, цветная металлургия и др.), в которых заняты в сумме миллионные контингенты работающих.

Теоретические представления об аэродинамических механизмах, определяющих первичное отложение ингалируемых НЧ преимущественно в так называемой пульмонарной, или альвеолярной области лёгких, а также в носовых ходах, давно устоялись в науке. Они были включены в общеизвестную модель Международного Комитета по Радиационной защите [7], а последующие корректировки количественной оценки этого отложения, основанные на использовании различных математических моделях [8], не могут быть названы принципиальными. Между тем, именно как принципиальные должны быть охарактеризованы различия взглядов разных исследователей на роль физиологических и физико-химических механизмов, контролирующих дальнейшую судьбу НЧ, отложившихся при дыхании. В частности, конкретных экспериментальных и мо-

дельных оценок её зависимости от растворения Me-НЧ в организме пока имеется недостаточно для каких-либо обобщений. Если, например, эта роль была экспериментально оценена как малая по отношению к TiO_2 -НЧ [9], то это является скорее частным случаем, чем общей закономерностью. Отметим, что исследователи [10], проводившие подострую и субхроническую ингаляционную экспозицию мышей к ZnO-НЧ, выявили начальную фазу существенного повышения концентрации Zn^{2+} -иона в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), что косвенно свидетельствует о растворении этих НЧ уже на свободной поверхности глубоких дыхательных путей и альвеол ещё до их пенетрации в лёгочный интерстициум.

Между тем, автор диссертации [8], разработавший многокамерную системную модель кинетики отложения и задержки ингалируемых НЧ в лёгких, параметры которой были им оценены на базе различных опубликованных экспериментальных исследований других авторов с разными Me-НЧ при, как правило, краткосрочной ингаляции в малых концентрациях, принял нерастворимость этих НЧ в качестве одного из исходных постулатов. Напротив, мы [5] ранее предложили включить в многокамерную токсикокINETическую модель, рассматриваемую ниже, гипотетические дополнительные потоки элиминации растворяющихся НЧ из легких и легочно-ассоциированных лимфоузлов, но подчеркнули, что в то время не располагали данными, достаточными для количественной идентификации этих потоков.

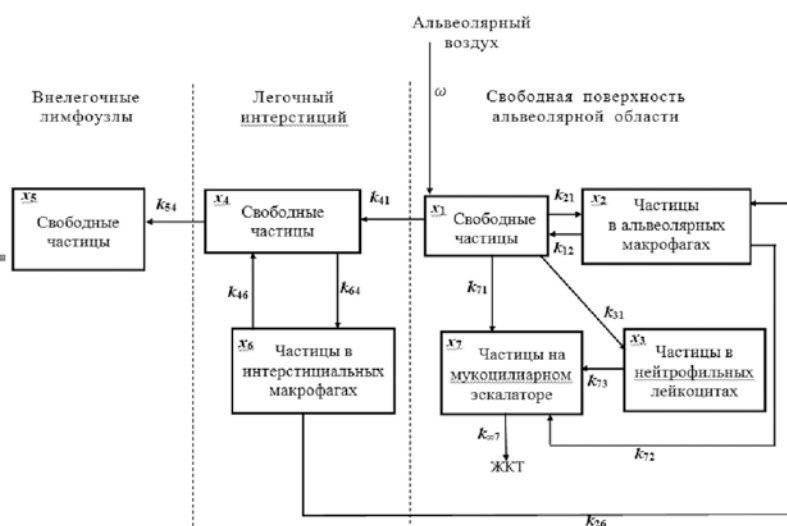


Рис. 1. Структура многокамерной модели кинетики лёгочной задержки, перераспределения и клиренса нерастворимых пылевых частиц, отложившихся при дыхании в пульмонарной области лёгких; ω – постоянная отложения, k_{ji} константа скорости пререноса частиц из камеры X_i в камеру X_j [12,22,23]

Тот же автор [8] отмечает, что «Katsnelson et al. (1992) опубликовали многокамерную модель задержки био-персистирующих частиц в пульмонарной области лёгких, включив в ней нейтрофилы, которые также участвуют в фагоцитозе, внося вклад в альвеолярный клиренс путём переноса своего груза частиц на мукоцилиарный эскалатор». Тем не менее, сам он в своей модели принимает, в полном соответствии с превалирующей в литературе традицией, альвеолярный макрофаг (АМ) в качестве единственного эффектора фагоцитарного механизма лёгочного клиренса наночастиц. На самом же деле, усиленная мобилизация нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) в ответ на пульмонарное отложение любых частиц, включая наноразмерные, давно и хорошо известна, но обычно характеризуется как признак воспаления [12-18]. Между тем, большим числом экспериментов, проведенных в нашем коллективе на протяжении десятков лет [19-21] было доказано, что нейтрофильный фагоцитоз цитотоксичных пылевых частиц является важным механизмом частичной компенсации повреждения ими макрофага, роль которого как основного участника лёгочного клиренса несомненна. Упомянутая выше многокамерная модель системы задержки практически нерастворимых пылевых частиц, схема которой показана на рисунке 1, была разработана на основе именно этих представлений.

Подтверждением их обоснованности может служить то, что при управляющих вмешательствах, имитирующих различия фагоцитарной реакции лёгких на отложение различных пылевых частиц с большим или меньшим вкладом НЛ, эта модель успешно прогнозировала кинетику хронической задержки в лёгких и лимфоузлах крысы при длительной ингаляции пыли неодинаковой цитотоксичности (кварцит, стандартный кварц DQ12, диоксид титана), а также при ингаляции той же самой кварцитной пыли на фоне такого мощного антицитотоксического агента как глутамат [11,21-24].

Отметим, однако, что неодинаковая задержка в лёгких кварцитной пыли и некоторых аэрозолей аморфного кремнезёма [25,26,27] свидетельствует о том, что и для малорастворимых микрометровых частиц роль растворения как механизма самоочищения лёгких от них не всегда является пренебрежимо малой. Этот механизм представляется тем более важным, когда речь идёт о Ме-НЧ, поскольку и цитотоксичность и растворимость этого класса аэрозолей варьируют в широких пределах.

Для проверки верности вышеизложенных представлений применительно к ингаляционной токсикологии металлооксидных наноаэрозолей было решено провести эксперименты с НЧ оксида железа Fe_2O_3 , которые являются основным

по массе компонентом сварочных дымов и эмиссий сталеварения, а тем самым, одним из гигиенически наиболее значимых примеров Ме-НЧ.

Материалы и методы исследования.

Экспериментальная часть. Витающие НЧ со средним диаметром 14 ± 4 нм, образующиеся в генераторе Palas DNP-3000 при искровой абляции электродов из железа 99.99% чистоты, подавались в затравочную установку типа «только нос» для 60 крыс (поставка фирмы CN Technologies, США) по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 3, 6 или 10 мес. при средней концентрации, соответственно, 1.00 ± 0.12 , 1.09 ± 0.10 и 1.14 ± 0.01 мг/м³. Химическая идентичность НЧ как Fe_2O_3 подтверждена с помощью Рамановской спектроскопии.

Частицы, выделенные микропористым фильтром PSI (Performance Systematix, Inc., USA) из воздуха, отсасываемого из этой установки, оказались нерастворимыми в деионизированной воде, но постепенно растворялись в бесклеточном супернатанте жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) у неэкспонированных крыс, и в стерильной бычьей сыворотке крови.

Содержание Fe_2O_3 -НЧ в лёгких каждой крысы, умерщвлённой по истечении одного из вышеуказанных периодов экспозиции, было измерено по иону Fe^{2+} с помощью ЭПР-спектроскопии (EMXplus EPR Spectrometer фирмы Bruker, США) и пересчитано на молекулярную массу Fe_2O_3 и на показатель сухой массы органа. Кроме того, задержка НЧ в лёгких и головном мозгу визуализировалась при просвечивающей электронной микроскопии ультратонких срезов с использованием ультрамикротом (Power Tome, «RMC», США) и микроскопа AURIGA («Carl Zeiss; MT», Германия) в STEM режиме в диапазоне увеличения от $\times 1200$ до $\times 200000$.

Общий и дифференциальный подсчёт клеток был произведен в БАЛЖ, полученной через 24 часа после завершающей экспозиции каждого периода, а также после однократного интратрахеального введения либо наносуспензии Fe_2O_3 со средним диаметром частиц $17,1 \pm 3,9$ нм (0,3 мг в объёме 1 мл), полученной лазерной абляцией такого же чистого железа в деионизированной воде, либо такой же дозы водной взвеси кварца DQ12 (с частицами менее 5 мкм), либо той же воды без частиц.

Адаптация системной модели. При расчёте постоянной массы наночастиц, первично отлагающихся на свободной поверхности так называемой пульмонарной области глубоких дыхательных путей крысы, для всех подопытных групп были приняты: (а) взвешенная по времени средняя концентрация Fe_2O_3 во вдыхаемом воздухе, равная 1,10 мг/м³; (б) минутный объём

лёгочной вентиляции 100 мл, что в 1,3 раза выше минимальной величины, найденной в литературе – 78 мл (29) и в 2,1 раза ниже максимальной – 210 мл (30); (в) 52%-ное фракционное отложение НЧ в пульмонарной области, что близко к минимальной оценке по разным методам [8]. Отметим, что ориентировочный характер параметров (б) и (в) не только неизбежен, принимая во внимание противоречивости имеющихся в литературе оценок, но и вполне допустим для системной модели подобного рода.

В качестве исходной была принята та многокамерная модель, структура которой показана на рисунке 1 и которая представляет собой систему дифференциальных уравнений, описывающих предусмотренные этой структурой процессы перераспределения, выведения и задержки частиц в лёгких. При этом был выбран тот набор коэффициентов этой системы, который был ранее идентифицирован [23] для оптимальной имитации экспериментальных данных о задержке SiO_2 в лёгких и лёгочно-ассоциированных лимфоузлах в процессе хронической ингаляции кварца DQ12 [31]. Этот конкретный выбор был продиктован как ожиданием высокой цитотоксичности Fe_2O_3 -НЧ¹, так и сходными условиями экспозиции, которая в эксперименте с DQ12 была проведена на протяжении от 3 до 24 мес. по 30 часов в неделю при той же самой средней концентрации 1 мг/м³.

Адаптация этой модели к специфике настоящего эксперимента осуществлялась на основе подхода, разработанного нами ранее для решения аналогичных задач системного моделирования [11,22,23 и др.]. Этот подход основан на компьютерных программах, сочетающих формальную итеративную процедуру с определёнными ограничениями или, наоборот, прямыми заданиями, касающимися того или иного изменения коэффициентов модели по знаку и/или величине. Эти ограничения и задания должны быть оправданы теоретическими представлениями о закономерностях функционирования моделируемой системы, а также собственными или имеющимися в литературе экспериментальными данными.

Критерием успешности этой процедуры (так называемой идентификации модели) является удовлетворительная имитация динамики задержки, то есть накопления хронически ингалируемых частиц в ткани лёгких и лимфоузлов. Необходимо понимать, однако, что основная цель системного моделирования состоит не в надёжном предсказании какого-то количественного показателя как такового, а в подтверждении внутренней не-

противоречивости (консистентности) той гипотезы о структуре рассматриваемой системы и процессах, её контролирующих, которая воплощена данной моделью. Поэтому имитация, о которой идёт речь, должна быть адекватной в главном, но не обязательно полной в деталях.

Так, например, имеются все основания допустить, что чем мельче частицы тем вероятнее их диффузия через биологические мембраны (в отношении пенетрации в кровь из альвеол 22 нм $^{59}\text{Fe}_2\text{O}_3$, введенных интратрахеально, это показано в эксперименте [33]). Поэтому представлялось необходимым увеличить по сравнению с исходной моделью константу скорости переноса свободных НЧ в лёгочный интерстициум (на модели Рис. 1 это константа k_{41} переноса из камеры X_1 в камеру X_4). Даже при отсутствии оснований для априорного назначения кратности этого изменения, сама по себе обязательность его, причём именно в сторону увеличения, может служить примером того ограничения свободы итеративной процедуры, о котором только что было сказано.

Второй пример касается введения в модель конечного значения k_{31} - константы скорости переноса из камеры X_1 в камеру X_3 , описывающего вторичное освобождение НЧ при разрушении НЛ, их фагоцитированных. При моделировании задержки вышеперечисленных пылей она была принята равной нулю (почему соответствующая связь между указанными камерами и не была показана схемой модели на рис.1). Это объяснялось тем, что нагрузка единичного НЛ микрометровыми пылевыми частицами была мала по сравнению с единичным АМ и поэтому не приводила к существенному повреждению и разрушению клетки. Однако накопленный нами опыт интратрахеального воздействия различными Ме-НЧ, начиная с Fe_2O_3 -НЧ [5,32], показал, что они поглощаются единичным НЛ очень жадно (хотя и менее жадно, чем единичным АМ), а электронно-микроскопическое исследование выявляло ультраструктурное повреждение не только в АМ, но и в НЛ).

Результаты вышеописанного эксперимента *in vitro*, выявившие растворимость Fe_2O_3 -НЧ в биологических жидкостях, позволяют предположить, что они могут растворяться *in vivo*, где бы ни находились после отложения. Однако для учёта роли этого процесса в кинетике лёгочной задержки мы приняли достаточным (и, как выяснилось далее, необходимым) включить в структуру модели элиминационные потоки, обусловленные растворением свободных (то есть

¹ Высокая пульмонарная цитотоксичность, по данным наших интратрахеальных экспериментов, свойственна практически всем ранее изученным Ме-НЧ, причём для 10 нм частиц другого оксида железа (Fe_3O_4) она была найдена более высокой по сравнению с кварцевыми микрочастицами [5,32].

внеклеточных) частиц, идущие из камер X_1 и X_4 . Выбирая величину константы скорости s_1 для первого из этих потоков, мы ориентировались на константу скорости растворения Fe_2O_3 -NPs с фильтра в БАЛЖ (равную 32 нед⁻¹), поскольку эта жидкость близка к той среде, в которой частицы плавают на свободной поверхности пульмонарной области лёгких. Оговоримся однако, что точного равенства этих двух констант в принципе не может быть и потому, что указанная естественная среда была разбавлена водой, которой производится лаваж, и потому, что пульмонарной области достигают при ингаляции наиболее мелкие, то есть наиболее растворимые НЧ (в то время как на фильтре осаждались НЧ из камеры без предварительной сепарации по размерам), и потому, что какая-то часть этих НЧ, проникшая в толщу фильтра, оказывается мало доступной для контакта с растворителем.

Задать ориентир для выбора значения s_4 - константы скорости элиминационного потока из камеры X_4 ещё сложнее, прежде всего, потому, что для оценки этой величины *in vitro* затруднительно найти модельную жидкую среду, достаточно близкую по составу и свойствам к тканевой жидкости крысиных лёгких. Используемая нами в этом качестве стерильная бычья сыворотка крови кажется сравнительно неплохим решением задачи, но разумеется, далёким от «точности». К тому же, кинетика растворения в этой среде частиц с фильтра аппроксимировалась двухэкспоненциальной функцией времени. Мы приняли допущение, что те мельчайшие НЧ, с которыми

может быть связана быстрая фаза растворения, *in vivo* в значительной степени растворились ещё до пенетрации через альвеолярную мембрану. Поэтому константа s_4 должна бы быть существенно ниже константы s_1 и не слишком отличаться от константы скорости медленной фазы растворения *in vitro* (равной 4,9 нед⁻¹).

В итоге итерационная процедура, ориентированная на вышеприведенные оценки, выбрала значения рассматриваемых констант равными для $s_1 = 30$ нед⁻¹ и для $s_4 = 2.5$ нед⁻¹. Для элиминации НЧ из лёгочно-ассоциированных лимфоузлов, представленных в модели камерой X_5 , мы условно объединили растворение в один поток с прямой пенетрацией НЧ в лимфу и кровь, что и может оправдать найденное итерацией более высокое по сравнению с последней величиной значение константы $s_5 = 6$ нед⁻¹.

Методические приёмы выбора тех констант модели, которые связаны с фагоцитозом частиц, целесообразнее рассмотреть в следующем Разделе в рамках обсуждения некоторых результатов экспериментальной оценки этого процесса.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных таблицы 1, и ингаляционное воздействие, и интратрахеальное введение Fe_2O_3 -НЧ вызвали дополнительную мобилизацию в глубокие дыхательные пути альвеолярных макрофагов (АМ) и преимущественно нейтрофильных лейкоцитов (НЛ), подсчитанных в БАЛЖ, причём численное отношение НЛ/АМ статистически значимо возросло. Исследованиями нашей лаборатории [22,23,27,34,35,36] было давно по-

Таблица 1

Клеточность жидкости, полученной у крыс при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ), $\bar{x} \pm s_x$

Воздействие	Число клеток $\times 10^6$			НЛ/АМ
	Все	Альвеолярные макрофаги (АМ)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
24 часа после завершающей экспозиции 3-месячного ингаляционного периода ¹				
Fe_2O_3 - НЧ	2,45±0,33*	1,96±0,28	0,46±0,08*	0,25±0,02*
Контрольная камера	1,47±0,23	1,35±0,21	0,11±0,03	0,08±0,02
24 часа после интратрахеального введения (0,3 мг в 1 мл)				
Fe_2O_3 -НЧ	3,59±0,24*+	2,69±0,24	0,84 ±0,09*+	0,35±0,06*
Кварц DQ12	5,22±0,32*	3,09±0,24*	2,09±0,41*	0,85±0,28*
Вода (контроль)	2,16±0,26	2,04±0,24	0,12±0,03	0,05±0,01

Приложение: ¹аналогичные результаты получены после 6 и 10 месяцев ингаляций.

*статистически значимое ($p < 0.05$) отличие от контрольного показателя; + то же от показателя при действии кварца DQ12.

казано и в дальнейшем неоднократно подтверждено, что при пульмонарном отложении пылевых частиц такая мобилизация фагоцитирующих клеток ауторегулируется организмом в соответствии с количеством образующихся продуктов макрофагального разрушения. Поэтому отношение НЛ/АМ может использоваться как информативный, хотя и косвенный критерий цитотоксичности отложившихся частиц для АМ. В частности, было найдено, что интратрахеально введенные частицы Fe_3O_4 диаметром 10 нм или даже 50 нм, судя по этому критерию, существенно более цитотоксичны, чем частицы диаметром 1,1 мкм [5,32].

Правда, при интратрахеальном введении Fe_2O_3 -НЧ мобилизация НЛ была намного менее выраженной, чем при введении DQ12, однако при практически равном вовлечении АМ в элиминацию частиц обоюрод даже существенное межгрупповое различие вовлеченности нейтрофильного фагоцитоза едва ли играло важную токсикокинетическую роль. Другими словами, у нас не оказалось надёжно экспериментально обоснованных количественных ограничений для подбора программной итерации тех констант модели, которые связаны с фагоцитозом частиц, однако имелись некоторые априорные ограничения и ориентиры.

Так, исходя из более высокой фагоцитарной активности АМ по сравнению с НЛ по отношению к любым частицам, в том числе, к железоксидным НЧ [5,32], было задано условие $k_{21} > k_{31}$. Исходя из того, что скорость вторичного освобождения фагоцитированных частиц в результате разрушения клеточного пула естественно ниже скорости их поглощения, можно было задать условия $k_{21} > k_{12}$, $k_{31} > k_{13}$ и $k_{64} > k_{46}$. Учитывая, что относительно низкая нагрузка частицами единичного НЛ делает вероятность его разрушения частицами невысокой по сравнению с единичным АМ, мы приняли условие $k_{13} \ll k_{12}$ (Как уже отмечено выше, в исходной модели это разрушение было не учтено вовсе).

Вместе с тем, нам неизвестны данные о сравнительной фагоцитарной активности АМ и интерстициального макрофага, а соотношение между численностью наличных пулов этих клеток является заведомо динамичным, что в совокупности делает невозможным задать условие того или иного неравенства констант k_{21} и k_{64} . Можно было лишь предположить, что они ско-

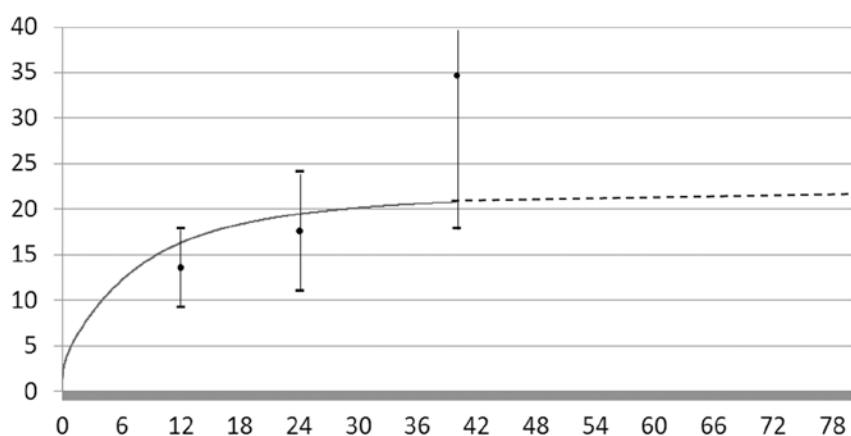


Рис. 2. Временной ход накопления Fe_2O_3 -НЧ в лёгких крыс, предсказываемый модифицированной многокамерной моделью на 10-месячный период реально осуществлённых ингаляционных экспозиций (сплошная линия) и в случае его удлинения до 20 мес. (пунктирная линия). По оси абсцисс отложены недели от момента начала экспозиций, по оси ординат – абсолютное содержание Fe_2O_3 в лёгких, мкг. Экспериментальные показатели обозначены с 95% ДИ.

рее не равны, чем одинаковы. С другой стороны, как исходная, так и модифицированная модель принимают, что непосредственное токсикокинетическое последствие разрушения лёгочного макрофага любой локализации или нейтрофила (возвращение частиц из внутриклеточного в свободное положение) не зависит от того, какой вариант клеточной смерти (апоптоз, аутофагия или некроз) привёл к указанному разрушению фагоцитов. Даже если это допущение несколько упрощает реальность, уместно подчеркнуть ещё раз, что подобные упрощения при построении модели системы не только неизбежны, но и не лишают её познавательной ценности в рамках поставленной задачи.

Однако итерационная процедура, корректируемая всеми этими ограничениями, допущениями и условиями, включая обоснованное выше требование увеличить константу k_{41} , не смогла достичь хотя бы приблизительной имитации динамики нарастания задержки частиц в лёгких. Перед нами стояла альтернатива: либо допустить ничем не обоснованное изменение любых констант исходной модели, просто подгоняя её отклик под ответ (что лишило бы системное моделирование его смысла, сформулированного выше), либо сначала включить в структуру модели обоснованные выше выходы из системы, связанные с растворением НЧ, а затем повторно запустить процедуру идентификации всех параметров модифицированной модели с учётом всех вышеизложенных условий и ограничений.

Как можно увидеть на рисунке 2, в этом случае модель действительно прогнозировала характерную для токсикокинетики 1-го порядка кривую накопления с постепенным выходом на плато.

При этом, хотя ни одна из трёх экспериментальных точек и не легла на кривую, но ни одна из них не отклоняется от неё статистически значимо. Таким образом, эксперимент дал вполне удовлетворительное подтверждение consistency модели, а тем самым – и той теории, на базе которой она была первоначально развита и в настоящее время модифицирована.²

Особо следует подчеркнуть, что алгоритм и результат этого модифицирования вполне согласуются с признанием важной токсикокинетической роли постепенного растворения НЧ «in vivo» – во всяком случае, для частиц Fe_2O_3 в нижнем диапазоне наноразмерности. Отметим, что именно этот механизм самоочищения лёгких является наиболее вероятным объяснением того, почему накопление оксида железа в лёгких оказалось в 15-16 раз ниже, чем накопление диоксида кремния при сопоставимой экспозиции к пыли кварца DQ12 [31]: например, после 3 месяцев ингаляции 13,5 мкг и 207 мкг, соответственно, а после 10 месяцев – 34,6 мкг и 550 мкг, соответственно.

К сожалению, мы располагаем показателем содержания Fe_2O_3 в лёгочно-ассоциированных лимфоузлах только по объединённой ткани всех крыс группы к 10-месячному сроку эксперимента. В расчёте на одно животное оно составило 0,003 мкг, что близко к модельной имитации (0,004 мкг).

Рисунки 3 и 4 дают пример электронно-микроскопической визуализации накопления НЧ в альвеолоцитах типа I и типа II, которое с рассматриваемых в данной статье позиций лёгочной токсикокинетики частиц является промежуточной фазой их транслокации через альвеолярную мембрану, чему в нашей модели соответствует переход из камеры X_1 в камеру X_2 . Этой моделью он рассматривается, по сути дела, как пассивная диффузия, но нельзя исключить какую-то роль физиологического (клеточно-опосредованного) компонента. С другой стороны, участвующие в нём клетки, образующие альвеолярную мембрану, могут быть повреждены действием цитотоксичных частиц. Во всяком

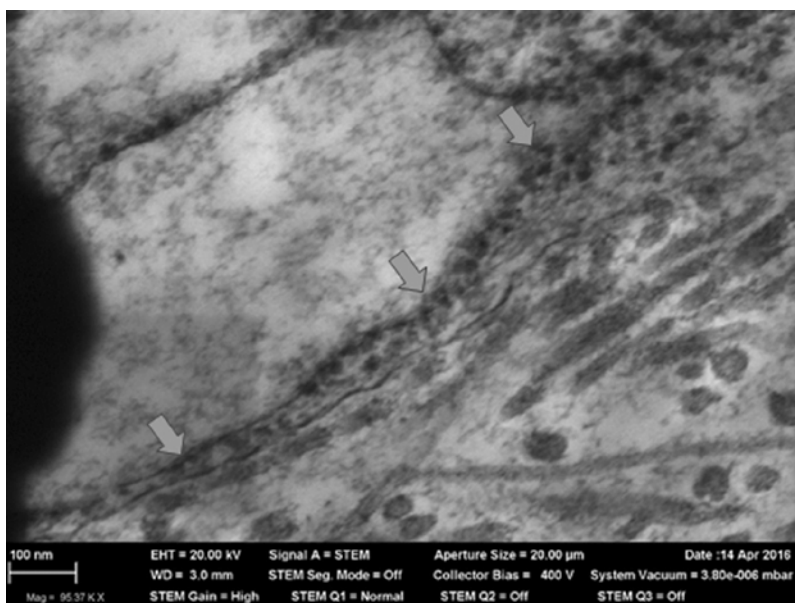


Рис. 3. Альвеолоцит типа I в лёгких крысы после 6 мес. ингаляции наночастиц, накопление которых в клетке указано стрелками. (ПЭМ, увеличение $\times 95\,370$).

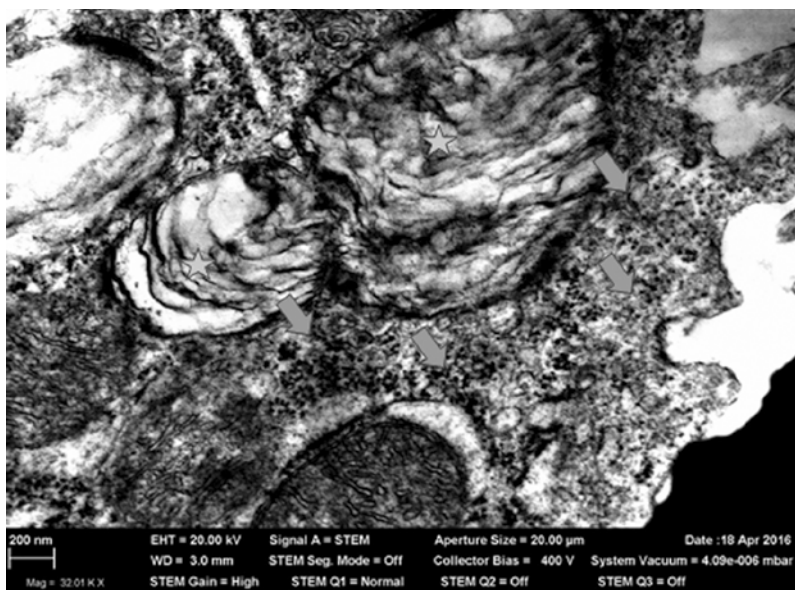


Рис. 4. Альвеолоцит типа II в лёгких крысы после 6 мес. ингаляции наночастиц, накопление которых в клетке указано стрелками, а звёздочками – дезорганизация мембран мультислойного тельца (ПЭМ, увеличение $\times 32\,010$).

случае, мы видим в альвеолоците типа II, показанном на рис. 4, выраженную дезорганизацию мембран мультислойного тельца и можем предположить, что такое повреждение этих органелл, участвующих в образовании сурфактанта, может привести к нарушениям лёгочной механики.

² Целесообразно напомнить, что речь идёт о модели системы, а не о модели данных, которая вполне удовлетворительно аппроксимировала бы те же самые экспериментальные результаты линейной зависимостью. Смысл и назначение этих двух принципов моделирования совершенно различны.

Мы находим НЧ также в ольфакторной области головного мозга, где они обнаруживаются только в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон и сопряжены с очаговой демиелинизацией (рис. 5). Такая, казалось бы, странная локализация может быть объяснена транслокацией НЧ со стороны ольфакторного эпителия носовой полости, в которой они, как хорошо известно [7,8 и др.], отлагаются в значительной степени напрямую в мозг вдоль волокон обонятельного нерва. Этот путь транслокации различных НЧ был непосредственно прослежен многими экспериментаторами [37,38,39].

Однако общее накопление Fe_2O_3 в мозгу наших крыс оказалось недостаточным для количественного определения с помощью ЭПР-спектроскопии, что не позволяет идентифицировать рассматриваемый токсикокинетический механизм в структуре многокамерной модели.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о том, что лёгочная токсикокинетика (задержка, перераспределение и элиминация) металлоксидных наночастиц контролируются как физиологическими, так и физико-химическими механизмами, а именно их высокой способностью к диффузионному проникновению через мембраны, наряду с активным эндоцитозом, осуществляемым различными клетками, и постепенным растворением *in vivo*.

Логично предположить, что относительный вклад перечисленных механизмов в эти токсикокинетические процессы для разных НЧ неодинаков в зависимости от их размера и химического состава, но для изученных нами Fe_2O_3 -НЧ нижнего диапазона наноразмерной шкалы наиболее высока роль растворения в биологической среде.

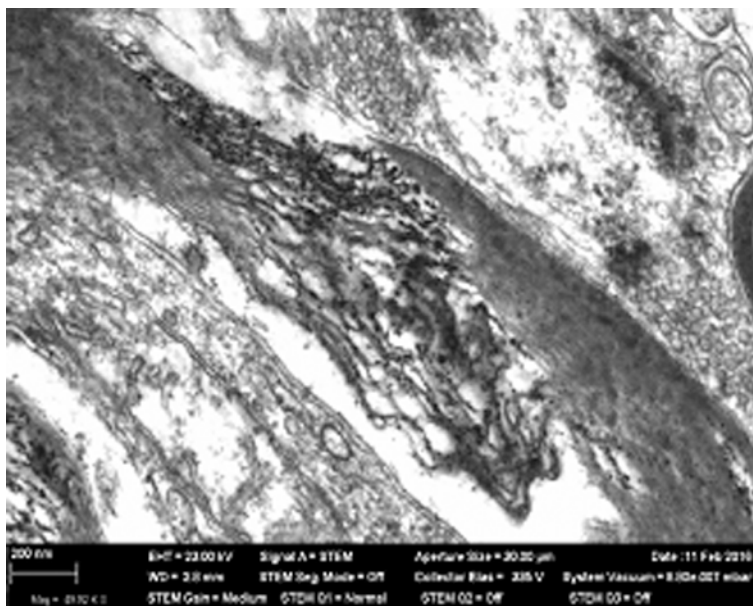


Рис. 5. Продольное сечение нервного волокна в ольфакторной области головного мозга крысы после 10 мес. ингаляции наночастиц. Видно фокальное повреждение миелиновой оболочки в местах их накопления (ПЭМ, увеличение $\times 49\,920$).

Хорошо известная способность различных НЧ, отложившихся при ингаляции в носовой полости, к транслокации вдоль волокон обонятельного нерва, может служить объяснением того, что мы обнаружили очаги скопления Fe_2O_3 -НЧ в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон ольфакторной области головного мозга.

Как в лёгких, так и в мозгу даже относительно малотоксичный оксид железа проявляет в наносостоянии высокую цитотоксичность. Развита нами многокамерная модель учитывает важную кинетическую роль цитотоксического повреждения лёгочных макрофагов с компенсаторной мобилизацией нейтрофильных лейкоцитов и в будущем может послужить основой также для анализа вероятной кинетической роли цитотоксического повреждения альвеолоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Utembe W., Potgieter K., Stefaniak A.B., Gulumian M. Dissolution and biodegradability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. Part. Fibre Toxicol. 2015; 12: 11.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B. Comparative *in vivo* assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. Int. J. Mol. Sci. 2013; 14: 2449-2483.
3. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. Int. J. Mol. Sci. 2014; 15: 12379-12406.
4. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. International Journal of Molecular Sciences. 2015; 16 (9): 22555-225
5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe_3O_4) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? Int. J. Occup. Environ. Health. 2010; 16: 508-5
6. Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. Food and Chemical Toxicology. 2015; 86: 351-364
7. ICRP. Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. Ann ICRP 24.1994; 66: 1-482.
8. Kolanjiyil A.V. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. Raleigh, NC. 2013.
9. Creutzenberg, O. Toxic Effects of Various Modifications of a Nanoparticle Following Inhalation (Research Project F 2246). Dortmund, Berlin, Dresden; the Federal Institute for Occupational Safety and Health. 2013; 4
10. Adamcakova-Dod A., Stebounova L.V., Kim, J.S., Vorrink S.U., Ault A.P., O'Shaughnessy P.T., Grassian V.H., Thorne P.S. Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. Part. Fib. Toxicol. 2014; 11: 15.
11. Katsnelson B.A., Konyshova L.K., Privalova L.I., Morosova K.I. Development of a multicompartamental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. Brit. J. Ind. Med. 1992; 49: 172-181.

12. Renwick L., Brown D., Clouter K., Donaldson K. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. *Occup. Environ. Med.* 2004; 61: 442-447.

13. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepfel A., Karg E., Ritter B. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(3): 328-333.

14. Sager T.M., Porter D.W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry V.A., Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles in vitro and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicol.* 2007; 1: 118-129.

15. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115: 397-402.

16. Neuberger M. Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln, in: Gazsó, A., Grefler, S., Schiemer, F. (Eds), Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien. Springer, Wien – New York. 2007; 181-197.

17. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M. A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 181-187.

18. Liu J., Feng X., Wei L., Chen L., Song B., Shao L. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Crit. Rev. Toxicol.* 2016; 46(4): 348-3

19. Старикова С. К., Кацнельсон Б. А., Аронова Г. В., Шнайман И. М. Участие полинуклеаров в альвеолярном

фагоцитозе кварцевой пыли и его связь с биологической агрессивностью кварца. «Бюллетень эксперим. биол. и медицины». 1970; 9: С. 113-116

20. Привалова Л. И. Гигиеническое значение цитотоксического действия силикозоопасной пыли как фактора, контролирующего защитную реакцию самоочищения легких. Автореф. дис. канд. мед. наук. Свердловск: НИИ ГТ и ПЗ. 1979; 211 С.

21. Привалова Л. И. Гигиенические аспекты неспецифического действия малорастворимых цитотоксических пылевых частиц. Автореф. дис. докт. мед. наук. Свердловск: МНЦП и ОЗРПП. 1990; 389 С.

22. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Sharapova N.Ye., Privalova L.I. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occup. Environ. Med.* 1994; 51: 173-180.

23. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalat. Toxicol.* 1997; 9: 703-715.

24. Кацнельсон Б. А., Привалова Л. И., Алексеева О. Г., Ползик Е. В. Пневмокониозы: патогенез и биологическая профилактика. Екатеринбург: УрО РАН. 1995; 325

25. Петин Л. М. К обоснованию предельно допустимой концентрации кремнеземсодержащих аэрозолей конденсации. *Гиг. труда.* 19№ С. 28-33.

26. Подгайко Г. А., Кацнельсон Б.

А., Лемяев М. Ф., Соломина С. Н., Саитов В. А., Русяева Л. В. Новые данные к оценке силикозоопасности промышленных аэрозолей на основе коллоидного раствора кремниевой кислоты. В кн.: Домнин С. Г. и Кацнельсон Б. А. (ред.) «Профессиональные болезни пылевой этиологии. Выпуск 7». М.: НИИГ им. Эрисмана, 19С. 93-100.

27. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kisilitsina N.S., Podgaiko G.A. Correlation between cytotoxicity and fibrogenicity of silicosis-inducing dusts. *Med. Lav.* 1984; 75: 450-462.

28. Ramahandran G. Assessing nanoparticle risk to human health. Elsevier, Amsterdam. 2016.

29. Maulderly J.L., McCunney R.G. Particle overload in the rat lung and lung cancer. Implications for human risk assessment. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1997.

30. Bellmann B., Creutzenberg O., Dassenbrock C. Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1991; 17: 300-313.

31. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe₃O₄ (magnetite) nanoparticles. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2011; 16: 47-63.

32. Zhu M.T., Feng W.Y., Wang Y., Wang B., Wang M., Ouyang H. Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment. *Toxicol. Sciences.* 2009; 107(2): 342-351.

33. Privalova L.I., Katsnelson B.A.,

Osipenko A.B., Yushkov B.H., Babushkina L.G. Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 1980; 356: 205-218.

34. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelichnykh L.N. Some peculiarities of the pulmonary phagocytotic response, dust kinetics, and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels. *Brit. J. Ind. Med.* 1987; 44: 228-2

35. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kisilitsina N.S. On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis. *Med. Lav.* 1995; 86: 511-5

36. Katsnelson B.A., Privalova L.I. Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles. *Environ. Health Perspect.* 1984; 55: 313-325.

37. Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W. Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 2004; 16(6/7): 437-445.

38. Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter J., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(8): 1172-1178.

39. Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-S. Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent eils in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 2012; 48(2): 464-71.

REFERENCES:

1. Utembe W., Potgieter K., Stefaniak A.B., Gulumian M. Dissolution and biodegradability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. *Part. Fibre Toxicol.* 2015; 12: 11.

2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14: 2449-2483.

3. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its attenuation with the help of a combination of bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15: 12379-12406.

4. 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. *International Journal of Molecular Sciences.* 2015; 16(9): 22555-225

5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe₃O₄) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int. J. Occup. Environ. Health.* 2010; 16: 508-5

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 and Chemical Toxicology.* 2015; 86: 351-364

7. ICRP. Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. *Ann ICRP* 24. 1994; 66: 1-482.

8. Kolanjiyil A.V. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. Raleigh, NC. 2013.

9. Creutzenberg, O. Toxic Effects of Various Modifications of a Nanoparticle Following Inhalation (Research Project F 2246). Dortmund, Berlin, Dresden; the Federal Institute for Occupational Safety and Health. 2013; 4

10. Adamcakova-Dod A., Stebounova L.V., Kim, J.S., Vorrink S.U., Ault A.P., O'Shaughnessy P.T., Grassian V.H., Thorne P.S. Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Part. Fib. Toxicol.* 2014; 11: 15.

11. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.I., Morosova K.I. Development of a multicompartmental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit. J. Ind. Med.* 1992; 49: 172-181.

12. Renwick L., Brown D., Clouter K., Donaldson K. Increased inflammation

and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types. *Occup. Environ. Med.* 2004; 61: 442-447.

13. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepfel A., Karg E., Ritter B. Instillation of six different ultrafine carbon particles indicates a surface area threshold dose for acute lung inflammation in mice. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(3): 328-333.

14. Sager T.M., Porter D.W., Robinson V.A., Lindsley W.G., Schwegler-Berry V.A., Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles in vitro and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicol.* 2007; 1: 118-129.

15. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115: 397-402.

16. Neuberger M. Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln, in: Gazsó, A., Grefler, S., Schiemer, F. (Eds), Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien. Springer, Wien – New York. 2007; 181-197.

17. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M. A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 181-187.

18. Liu J., Feng X., Wei L., Chen L., Song B., Shao L. The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Crit. Rev. Toxicol.* 2016; 46(4): 348-3

19. Старикова С. К., Katsnelson B.A., Аронова Г. В., Шнайман И. М. The

input of polymorphonuclear leukocytes into the alveolar phagocytosis of the quartz dust and its dependence on the quartz biological aggressivity. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 1970; 9: 113-116 (in Russian)

20. Privalova L.I. "The hygienic significance of the silicosis-inducing dust's cytotoxicity as a factor controlling the defensive response of the pulmonary clearing." Candidate of medical sciences dissertation abstract. Sverdlovsk: The Institute of Industrial Hygiene & Occupational Disease. 1979; 211 P. (in Russian)

21. Privalova L.I. "Hygienic dimensions of non-specific action of low-soluble dust particles" Doctor of medical sciences dissertation abstract. Sverdlovsk: The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers. 1990; 389 P. (in Russian)

22. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Sharapova N.Ye., Privalova L.I. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occup. Environ. Med.* 1994; 51: 173-180.

23. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalat. Toxicol.* 1997; 9: 703-715.

24. Katsnelson B.A., Privalova L.Y., Alekseyeva O.G., Pokzik Ye. V. "Pneumokoniosis: the pathogenesis and

- biological prophylaxis". Ekaterinburg: The Ural Branch of the RAS. 1995; 325 P.
25. *Petin L.M.* Data for establishing the maximal allowable concentration of silica-containing condensation aerosols. *Gigiyena Truda* 1978; 6: 28-33. (in Russian).
26. *Podgayko G.A., Katsnelson B.A., Lemyasev M.F., Solomina S.N., Saitov V.A., Russjayeva L.V.* New data for assessment of the silicosis risks due to industrial aerosols based on a colloidal solution of silicic acid, in: *Domnin, S.G., Katsnelson, B.A. (Eds.), Occupational diseases due to dusts. Issue Erisman's Institute, Moscow. 1982. (in Russian)*
27. *Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kislitsina N.S., Podgaiko G.A.* Correlation between cytotoxicity and fibrogenicity of silicosis-inducing dusts. *Med. Lav.* 1984; 75: 450-462.
28. *Ramahandran G.* Assessing nanoparticle risk to human health. Elsevier, Amsterdam. 2016.
29. *Maulderly J.L., McCunney R.G.* Particle overload in the rat lung and lung cancer. Implications for human risk assessment. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1997.
30. *Bellmann B., Creutzenberg O., Dasenbrock C.* Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1991; 17: 300-313.
31. *Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A.* Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe₃O₄ (magnetite) nanoparticles. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2011; 16: 47-63.
32. *Zhu M.T., Feng W.Y., Wang Y., Wang B., Wang M., Ouyang, H.* Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment. *Toxicol. Sciences.* 2009; 107(2): 342-351.
33. *Privalova L.I., Katsnelson B.A., Osipenko A.B., Yushkov B.H., Babushkina L.G.* Response of a phagocyte cell system to products of macrophage breakdown as a probable mechanism of alveolar phagocytosis adaptation to deposition of particles of different cytotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 1980; 356: 205-218.
34. *Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelnichnykh L.N.* Some peculiarities of the pulmonary phagocytotic response, dust kinetics, and silicosis development during long term exposure of rats to high quartz levels. *Brit. J. Ind. Med.* 1987; 44: 228-2
35. *Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kislitsina N.S.* On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis. *Med. Lav.* 1995; 86: 511-5
36. *Katsnelson B.A., Privalova L.I.* Recruitment of phagocytizing cells into the respiratory tract as a response to the cytotoxic action of deposited particles. *Environ. Health Perspect.* 1984; 55: 313-325.
37. *Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W.* Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 2004; 16(6/7): 437-445.
38. *Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G.* Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(8): 1172-1178.
39. *Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-Sh.* Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent ell in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 2012; 48(2): 464-71.

M.P. Sutunkova¹, B.A. Katsnelson¹, L.I. Privalova¹, V.B. Gurvich¹, L.K. Konyshcheva¹, V.Ya. Shur², E.V. Shishkina², I.A. Minigaliev¹, S.N. Solovyeva¹, I.V. Zubarev²

EXPERIMENTAL AND MATHEMATICAL MODELING OF THE IRON OXIDE NANOPARTICLE PULMONARY RETENTION AT LONG-TERM LOW-LEVEL INHALATION EXPOSURE

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

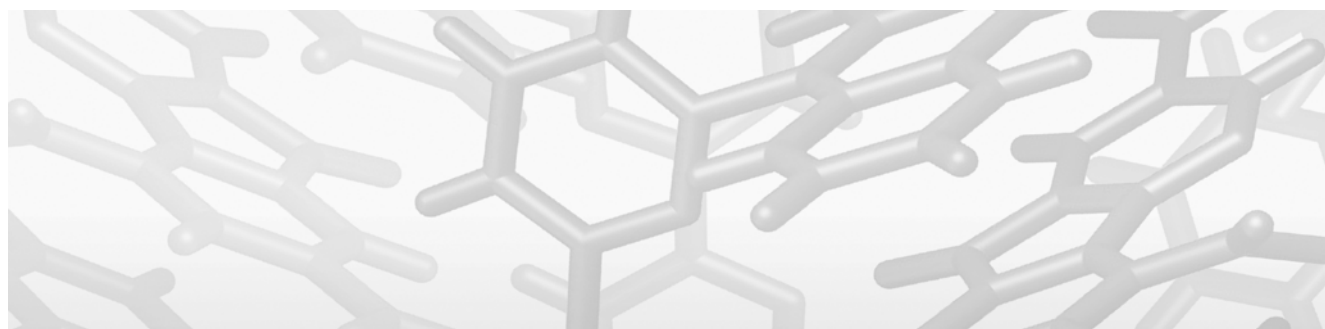
²Ural Center for Shared Use «Modern Nanotechnologies», Ural Federal University, 620000 Ekaterinburg, Russian Federation

Airborne Fe₂O₃ nanoparticles (NPs) with the mean diameter of 14±4 nm produced at spark ablation from 99.99% pure iron rods were fed into a «nose-only» exposure tower for rats exposed for 4 h a day, 5 days a week during 3, 6 or 10 months at a mean concentration of 1.14±0.01 mg/m³. Nanoparticles filtered out of the air exhausted from the exposure tower proved insoluble in de-ionized water but gradually dissolved in the cell free fluid supernatant produced by broncho-alveolar lavage and in the sterile bovine blood serum. The Fe₂O₃ content in lungs was measured by the Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy. NP retention in lungs and in brain was visualized with the Transmission Electron Microscopy (TEM). It was found a relatively low but significant pulmonary accumulation of Fe₂O₃, gradually increasing with time but tending to attain an equilibrium level. Besides, TEM-images showed nanoparticles retention within alveolocytes and the myelin sheaths of brain fibers associated with their ultrastructural damage.

A multi compartment system model was developed and identified which describes toxicokinetics of inhaled nanoparticles after their deposition in the lower airways as a process controlled by their (a) high ability to penetrate through the alveolar membrane; (b) active endocytosis; (c) *in vivo* dissolution. However, in this particular study, dissolution-depending mechanisms proved to be dominant due to the rather high solubility of the finest Fe₂O₃-NPs in biological milieu.

Keywords: iron oxide nanoparticles, toxicokinetics, system modeling.

Материал поступил в редакцию 01.06.2016 г.



УДК615.9

ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИПЕПТИДА И АМИНОКИСЛОТ НА РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРЫ НЕРВНОЙ ТКАНИ В ПРИСУТСТВИИ ЦИКЛОФОСФАНА

*В.Б. Долго-Сабуров¹, Н.И. Чалисова²,
Л.В. Лянгинен¹, Е.С. Заломаева²*

¹ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт Петербург, Российская Федерация

²Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, 197034, г. Санкт Петербург, Российская Федерация

В органотипической культуре исследовали сочетанное влияние ингибитора синтеза ДНК циклофосфана, используемого для моделирования резорбтивного действия иприта, с полипептидом кортексином или с каждой из 20 кодируемых аминокислот на развитие процессов клеточной пролиферации в эксплантатах коры головного мозга крыс. При сочетанном введении циклофосфана совместно с кортексином или с каждой из 20 кодируемых аминокислот, за исключением глицина, наблюдалась отмена ингибирующего влияния цитостатического вещества. Таким образом, кортексин и аминокислоты оказывают протекторное влияние на клеточную пролиферацию в культуре ткани ЦНС при действии ипритоподобных веществ.

Ключевые слова: циклофосфан, аминокислоты, полипептиды, культура ткани.

Введение. Актуальной проблемой клинической токсикологии является поиск веществ, способных оказывать протекторное действие при нарушениях синтеза и репарации ДНК, возникающих как результат действия таких токсикантов, как иприты и иприто-подобные соединения, а также цитостатические препараты. Одним из основных патогенетических особенностей действия иприта на организм является чрезвычайная вялость процессов регенерации тканей, развитие кахексии, депрессии, ослабление защитных иммунологических реакций организма [1]. Для моделирования действия иприта используется противоопухолевый цитостатик циклофосфан. Молекулярный механизм токсического действия циклофосфана, как у иприта, связан с его алкилирующими свойствами и с угнетением системы антиоксидантной защиты [2,3].

В последние десятилетия большое внимание уделяется комплексным полипептидным препаратам, существенно увеличивающим регенерационные способности различных тканей за счет

стимуляции процессов репарации и синтеза ДНК [4-6]. Один из таких препаратов - кортексин, представляющий комплекс полипептидных фракций, экстрагированных из мозга телят, используется в неврологической практике и предположительно может оказать защиту от повреждающего действия факторов химической природы. В недавних работах [7,8], показано, что в органотипической культуре ткани каждая из 20 кодируемых аминокислот оказывает различное - стимулирующее или ингибирующее, - влияние на развитие эксплантатов. Органотипическое культивирование фрагментов тканей и анализ зоны роста эксплантатов является наиболее адекватным и удобным методом для быстрой количественной оценки направленности влияния исследуемых биологически активных веществ. *Целью данной работы* явилось исследование влияния комплексного пептида кортексина и 20 кодируемых аминокислот в присутствии циклофосфана на развитие органотипической культуры коры головного мозга крыс.

Долго-Сабуров Валерий Борисович (Dolgo-Saburov Valeriy Borisovich), доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник по специальности токсикология лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт Петербург, institute@toxicology.ru

Чалисова Наталья Иосифовна (Chalissova Natalia Iosifovna), профессор, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник по специальности физиология человека и животных группы пептидной регуляции старения Института физиологии им. И.П.Павлова РАН, 197034, г. Санкт Петербург, ni_chalissova@mail.ru

Лянгинен Лидия Васильевна (Lyaginen Lidiya Vasilyevna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник по специальности токсикология лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», 192019, г. Санкт Петербург, pikalova_lidiya@mail.ru

Заломаева Екатерина Сергеевна (Zalomaeva Ekaterina Sergeevna), научный сотрудник группы пептидной регуляции старения Института физиологии им. И.П.Павлова РАН, 197034, г. Санкт Петербург, kostikorange@yandex.ru

Материалы и методы исследования. Органотипическое культивирование тканей проводили в стерильных условиях. В экспериментах использовано 1200 фрагментов коры головного мозга 3-месячных самцов крыс линии Вистар. Фрагменты коры головного помещали в чашки Петри с питательной средой, состоящей из 35% среды Игла, 35% раствора Хенкса, 25% фетальной телячьей сыворотки с добавлением глюкозы (0,6%), гентамицина (100 ед/мл). Используются комплексный биорегуляторный пептид кортексин, L-аминокислоты (фирма «Sigma» США) – глицин (Gly), аланин (Ala), аспарагин (Asn), гистидин (His), лизин (Lys), серин (Ser), глутамин (Gln), аргинин (Arg), пролин (Pro), аспарагиновая (Asp) и глутаминовая (Glu) кислоты, тирозин (Tyr), цистеин (Cys), валин (Val), треонин (Thr), метионин (Met), лейцин (Leu), изолейцин (Ile), фенилаланин (Phe), триптофан (Trp). Для пептида эффективной концентрацией было 2 нг/мл, для аминокислот 0,05 нг/мл, для циклофосфана 1 мкг/мл. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C и 5% CO₂ и через 3 сут просматривали под фазово-контрастным микроскопом с микротеленасадкой (серия 10, МТН-13 «Альфа-Телеком»). Используя программу PhotoM 1.2. определяли индекс площади (ИП) в условных единицах, как соотношение площади эксплантата (вместе с зоной выселяющихся клеток) к площади центральной зоны. Достоверность различий сравниваемых средних значений ИП контрольных и опытных образцов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента с использованием пакета программ «Microsoft Excell».

Результаты и обсуждение. В 1-е сутки культивирования происходило распластывание эксплантатов на коллагеновой подложке, выселение пролиферирующих и мигрирующих нейроцитов, глиоцитов, фибробластов. Через 3 сут, если в эксперименте имелась стимуляция развития зоны роста в результате клеточной пролиферации, ИП экспериментальных эксплантатов увеличивался по сравнению с ИП контрольных эксплантатов.

В первой серии опытов циклофосфан вводили в культуральную среду эксплантатов коры головного мозга в концентрациях 0,1-10 мкг/мл. Обнаружено, что уже начиная с концентрации 0,1 мкг/мл начиналось частичное ингибирование зоны роста, что приводило к статистически достоверному уменьшению индекса площади на $18\pm 3\%$ ($n=20$, $p<0,05$), по сравнению с контрольными значениями ($n=19$). При дальнейших увеличениях концентраций рост эксплантатов затормаживался еще больше. При концентрации циклофосфана 0,5 мкг/мл ИП эксплантатов уменьшался уже на $25\pm 5\%$ ($n=18$, $p<0,05$), по сравнению с индексом площади в контроле ($n=20$). При введении циклофосфана в культуральную среду в концентрации 1 мкг/мл возникло статистически достоверное угнетение развития эксплантатов коры головного мозга крыс, ИП был меньше на 23-32%, чем ИП контрольных эксплантатов.

При изолированном введении в культуральную среду кортексина в эффективной концентрации 2 нг/мл выявлено статистически достоверное увеличение зоны роста эксплантатов и ИП увеличивался на $28\pm 5\%$ ($n=20$, $p<0,05$), по сравнению с значением ИП в контроле ($n=19$) (табл. 1). При сочетанном действии циклофосфана с кортексином наблюдалось устранение ингибирующего влияния цитостатика и статистически не достоверная стимуляция роста эксплантатов коры головного мозга на $7\pm 3\%$ ($n=20$, $p<0,05$) по сравнению с контрольным значением ИП ($n=20$). Для того, чтобы подтвердить протекторное действие кортексина на фоне действия цитостатика, были проведены эксперименты с введением этих веществ с интервалами во времени 10 мин после введения каждого препарата. Ингибирующее влияние циклофосфана уменьшилось при одновременном введении веществ в целом на 31%, а при разновременном на 3% и 6% (табл. 1).

Таким образом, наиболее эффективное протекторное влияние происходит при одновременном введении в питательную среду полипептида и цитостатика.

Таблица 1

Влияние кортексина и циклофосфана (ЦФ) на индекс площади (ИП) эксплантатов коры головного мозга крыс

ИП (%) по отношению к контролю				
Кортексин	ЦФ	Кортексин одновременно с ЦФ	Кортексин, через 10 мин ЦФ	ЦФ, через 10 мин кортексин
+28±5*	-24±5*	7±3	-18±5*	-21±3*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с показателем в контроле.

Влияние аминокислот, циклофосфана и их сочетаний на индекс площади (% по отношению к контролю) эксплантатов коры головного мозга крыс

Аминокислоты (АК)	АК (0,05 нг/мл)	Циклофосфан (ЦФ) (1 мкг/мл)	ЦФ+АК
Gly	-30±9*	-29±5*	-27±3*
Ala	3±1	-25±3*	2±1
Asn	5±3	-32±7*	11±5
Hys	+42±7*	-27±3*	-8±3
Lys	3±2	-29±5*	-10±2
Ser	-5±2	-31±5*	-3±1
Gln	-15±6	-23±2*	-4±2
Arg	8±5	-25±5*	8±3
Pro	-23±2*	-24±3*	-15±2
Glu	24±3*	-32±4*	6±2
Asp	+47±7*	-27±2*	1±1
Cys	-2±1	-27±5*	7±1
Tyr	-20±5*	-29±7*	-5±3
Val	+50±9*	-25±5*	9±5
Thr	+41±5*	-29±5*	4±3
Met	+39±9*	-25±7*	-11±5
Leu	+45±11*	-27±5*	-7±1
Ile	+42±9*	-28±7*	3±1
Phe	-7±5	-31±9*	-6±2
Trp	-18±3*	-26±5*	8±3

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Изучены влияния аминокислот на эксплантаты коры головного мозга. При изолированном введении в культуральную среду гистидина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, валина, треонина, метионина, лейцина, изолейцина обнаружено увеличение ИП эксплантатов на 24-50%, по сравнению с контрольными ИП (табл.2).

При сочетанном введении циклофосфана в культуральную среду в концентрации 1 мкг/мл с глутаминовой кислотой в эффективной кон-

центрации 0,05 нг/мл, происходило устранение угнетающего эффекта на эксплантаты, которое выражалось в том, что устранялось ингибирующее влияние циклофосфана, снижающее ИП на 32±4 % ($n=24$, $p < 0,05$), по сравнению с контролем ($n=20$), и происходило статистически не достоверное увеличение зоны роста эксплантатов на 6±2% ($n=24$, $p > 0,05$) Таким образом, ингибирующее влияние циклофосфана в целом уменьшилось на 38% (рис.1).

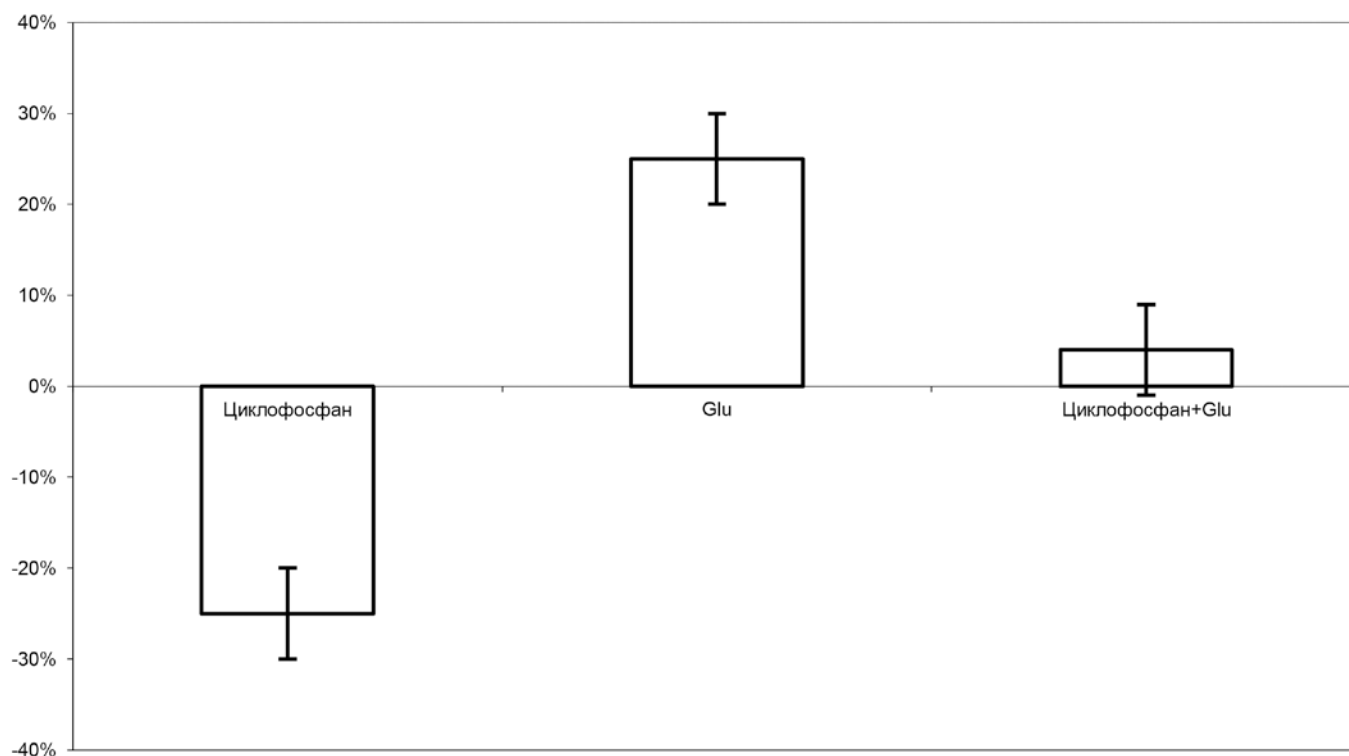


Рис. 1. Влияние циклофосфана, глутаминовой кислоты (Glu) и одновременного введения в культуральную среду циклофосфана и глутаминовой кислоты на индекс площади (ИП) эксплантатов коры головного мозга крыс. По оси ординат: индекс площади в %. Вертикальные отрезки – 95% доверительные интервалы средних значений. * – достоверные различия, по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Устранение ингибирующего влияния цитостатика на культуру нервной ткани на 17-21% отмечалось также при сочетанном действии с аминокислотами (за исключением глицина), не оказывавшими стимулирующего влияния на эксплантаты. Полученные нами данные показывают, что кодируемые аминокислоты, являющиеся простейшими регуляторами физиологических функций [9-11], способны устранять ингибирующий эффект циклофосфана в органотипической культуре нервной ткани. В настоящее время накапливаются данные, подтверждающие концепцию о том, что в организме имеются относительно независимые регуляторные системы – пептидная и аминокислотная [12-13]. Результаты наших экспериментов показывают, что полипептид и кодируемые аминокислоты могут оказывать протекторное действие в присутствии цитостатического агента. Возможным объяснением может быть то, что иприто-подобное вещество циклофосфан способно вступать в связь с анионами фосфорных и карбоновых кислот, фенолов, а также с аминокислотами. Эти химические радикалы широко представлены в нуклеиновых кислотах, ферментах и структурных белках. Возможно, при сочетанном введении циклофосфана с по-

липептидом или аминокислотами, цитостатик связывается с аминокислотными группами пептида или аминокислот, теряя возможность связывания с другими химическими радикалами в клетках ткани.

Выводы:

1. При действии циклофосфана, моделирующего резорбтивное действие иприта, в культуре ткани коры головного мозга происходит угнетение клеточной пролиферации. Этот эффект циклофосфана необходимо учитывать при развитии побочных последствий химиотерапии с его применением, т.к. в случаях курсового применения препарата могут развиваться патологические изменения в тканях ЦНС.

2. Полипептид кортексин и кодируемые аминокислоты устраняют ингибирующее действие циклофосфана в культуре ткани коры головного мозга. Зона роста эксплантатов после сочетанного воздействия с циклофосфаном с этими веществами увеличивалась, достигая контрольных значений.

3. Создается база для разработки методов терапевтического использования полипептида кортексина и аминокислот при лечении последствий отравлений ипритом и для снятия побочных эффектов курса цитостатиков в онкологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Beheshti J., Mark E., Akbaei H. Mustard lung secrets: Long term clinicopathological study following mustard gas exposure. *Pathol. Res. Pract.* 2006; 202 (10): 739-44.
2. Кашуро В.А., Глушков С.И., Карпищенко А.И., Новикова Т.М., Глушкова Т.И., Минаева Л.В., Сибирев С.А. Состояние системы глутатиона в тканях паренхиматозных органов лабораторных животных при повторном введении циклофосфана. *Нефрология.* 2006; 10 (4): 82-.
3. Кашуро В.А., Карпищенко А.И., Куценко С.А., Глушков С.И. Возможность использования определения показателей системы глутатиона в лабораторной диагностике осложненной курсового лечения циклофосфаном. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2002; (10): 43.
4. Головки А.И., Иванов М.Б., Башарин В.А., Носов А.В. Терапевтическая эффективность церебролизина и пираретама при закрытой черепно-мозговой травме у крыс на фоне острой интоксикации этанолом. *Medline.ru.* 2003; 4 (1): 482-5.
5. Иванов М.Б., Башарин В.А., Сорокина Е.Г., Гранстрем О.К. Применение церебрамида для восстановления высших нервных функций после черепно-мозговой травмы. *Terra Medica.* 2007; (6): 30-4.
6. Коваленко А.Л., Носов А.В., Башарин В.А., Иванов М.Б., Александров М.В., Луцкий М.А. Цитофлавин и церебролизин в коррекции последствий экспериментального геморрагического инсульта. *Профилактическая и клиническая медицина.* 2002; (3): 104-.
7. Чалисова Н.И., Концевая Е.А., Войцеховская М.А., Комашня А.В. Регуляторное влияние кодируемых аминокислот на основные клеточные процессы у молодых и старых животных. *Успехи геронтологии.* 2011; 24 (2): 189-99.
8. Чалисова Н.И., Иванов М.Б., Аржавкина Л.Г., Пикалова Л.В., Смирнов А.В. Протекторное влияние пептидов и аминокислот на развитие культуры лимфоидной ткани в присутствии циклофосфана. *Токсикологический вестник.* 2010; (4): 41-5.
9. Vary T. Oral leucine enhances myocardial protein synthesis in rats acutely administered ethanol. *J Nutr.* 2009; 139(8):1439-.
10. Brasse-Lagnel C., Lavoinne A., Husson A. Control of mammalian gene expression by amino acids, especially glutamine. *Febs J.* 2009; 276: 1826-44.
11. Fafournoux P., Averous J., Bruhat A., Carraro V., Jousse C., Maurin A.C. et al. Adaptation to the availability of essential amino-acids: role of GCN2/eIF2 /ATF4 pathway. *Biol Aujourd'hui.* 2015; 209 (4): 317-.
12. Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г., Елаева Н.Л., Савенко Ю.Н., Лапина Н.В., Аксёнов В.В. Динамика содержания нейротрофических факторов головного мозга при экспериментальной коме у крыс. *Казанский медицинский журнал.* 2013; 94 (5): 695-.
13. Швецов А.В., Дюжинова Н.А., Савенко Ю.Н., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А. Влияние экспериментальной комы на экспрессию белка bcl-2 и каспаз-3, 9 в мозге крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015; 160 (8): 178-81.

REFERENCES:

1. Beheshti J., Mark E., Akbaei H. Mustard lung secrets: Long term clinicopathological study following mustard gas exposure. *Pathol. Res. Pract.* 2006; 202 (10): 739-44.
2. Kashuro V.A., Glushkov S.I., Karpishchenro A.I., Novikova T.M., Glushkova T.I., Minaeva L.V., Sibirev S.A. Glutathione system in parenchymatous tissues of laboratory animals by repeated cyclophosphane introduction. *Nephrology.* 2006; 10 (4): 82-.
3. Kashuro V.A., Karpishchenro A.I., Kutsenko S.A., Glushkov S.I., Possibility of use of glutathione system parameters in laboratory diagnostics of the complications of cyclophosphane cure treatment. *Clinic laboratory diagnostics.* 2002; (10): 43.
4. Golovko A.I., Ivanov M.B., Basharin V.A., Nosov A.V. Therapeutic effect of cerebrolysin and pirapetam by the craniocerebral trauma in rats on the background of acute ethanol intoxication. *Medline.ru.* 2003; 4 (1): 482-5.
5. Ivanov M.B., Basharin V.A., Sorokina E.G., Granstrem O.K. Cerebramide use for the repair of higher nervous functions after craniocerebral trauma. *Terra Medica.* 2007; (6): 30-4.
6. Kovalenko A.L., Nosov A.V., Basharin V.A., Ivanov M.B., Alexandrov M.V., Lutsik M.A. Cytoflavinum and cerebrolysin in the correction of sequela of the experimental haemorrhagic insult. *Prophylactic and Clinical Medicine.* 2002; (3): 104-.
7. Chalisova N.I., Kontsevaya E.A., Voitsek-hovskaya M.A., Komashnya A.V. Regulatory effect of the coded amino acids on basic cellular processes in young and old rats. *Advance in Gerontology.* 2011; 24 (2): 189-99.
8. Chalisova N.I., Ivanov M.B., Ar-gavkina L.G., Pikalova L.V., Smirnov A.V. Protector effect of peptides and amino acids on the development of lymphoid tissue culture at the cyclophosphane presence. *Toxicological Review.* 2010; (4): 41-5.
9. Vary T. Oral leucine enhances myocardial protein synthesis in rats acutely administered ethanol. *J Nutr.* 2009; 139(8):1439-.
10. Brasse-Lagnel C., Lavoinne A., Husson A. Control of mammalian gene expression by amino acids, especially glutamine. *Febs J.* 2009; 276: 1826-44.
11. Fafournoux P., Averous J., Bruhat A., Carraro V., Jousse C., Maurin A.C. et al. Adaptation to the availability of essential amino-acids: role of GCN2/eIF2 α /ATF4 pathway. *Biol Aujourd'hui.* 2015; 209 (4): 317-.
12. Kashuro V.A., Batotsirenova E.G., Elaeva N.L., Savenko Yu.N., Lapina N.V., Akseonov V.V. Dynamic of the neurotrophic factor content in the brain by the experimental coma in rats. *Medical J. of Kazan.* 2013; 94 (5): 695-.
13. Shvetsov A.V., Dyuzhikova N.A., Savenko Yu.N., Batotsirenova E.G., Kashuro V.A. Effect of the experimental coma on expression of bcl-2 protein and caspase-3, 9 in rat brain. *Bull. Exper. Biology Medicine.* 2015; 160 (8): 178-81.

V.B. Dolgo-Saburov¹, N.I. Chalisova², L.V. Lyanginen¹, E.S. Zalomaeva²

PROTECTIVE EFFECT OF POLYPEPTIDE AND AMINO ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF THE NERVOUS TISSUE CULTURE IN THE PRESENCE OF CYCLOPHOSPHAMIDE

¹Institute of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency, 192019, St. Petersburg, Russian Federation

²I.P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 199034, Saint-Petersburg, Russian Federation

In an organotypic culture, an investigation was conducted into combined effects of cyclophosphamide DNA as synthesis inhibitor used to model a resorptive action of mustard gas, and cortexin polypeptide or each of 20 encoded amino acids on the development of cell proliferation in cerebral cortex explants of the rat. The combined administration of cyclophosphamide together with cortexin or with each of the 20 encoded amino acids, except glycine, showed suppression of the cytostatic agent inhibitory effect. Thus, cortexin and amino acids have a protective effect on cell proliferation in the tissue culture of the central nervous system under the action of mustard-like substances.

Keywords: Cyclophosphamide, amino acids, polypeptides, tissue culture.

Материал поступил в редакцию 13.01.2017 г.

УДК 546 : 615.099

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ КОРРЕКЦИИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ПОРАЖЕНИИ МОНООКСИДОМ УГЛЕРОДА (обзор литературы)

П.Г. Толкач¹, В.А. Башарин¹,
С.Х. Сарманаев²

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 125371, г. Москва, Российская Федерация

В обзоре представлены перспективные направления коррекции нейротоксических нарушений при поражении монооксидом углерода. Показано, что интоксикация монооксидом углерода, помимо развития гемической гипоксии, приводит к опосредованному повреждению структур центральной нервной системы, которые развиваются как в раннем, так и отдалённом периоде отравления. Эти повреждения могут быть обусловлены развитием оксидативного стресса, активацией программируемой клеточной гибели, воздействием на систему межклеточной сигнализации и др. Имеются данные о том, что монотерапия кислородом не приводит к полному восстановлению когнитивных функций в отдалённом периоде тяжёлого отравления монооксидом углерода. Установлено, что для коррекции нарушений функций центральной нервной системы при остром поражении монооксидом углерода необходимо применять средства, обладающими нейротропными механизмами действия. В обзоре представлены данные об эффективности применения гидрогенированного раствора, раствора метана, аллопуринола, эритропоэтина, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, ремифентанила, мезенхимальных стволовых клеток, церебролизина для коррекции нарушения функций центральной нервной системы при данном виде патологии.

Ключевые слова: монооксид углерода, нейротоксичность, кислород, нейротропность, гидрогенированный раствор, аллопуринол, эритропоэтин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, мезенхимальные стволовые клетки, церебролизин.

Введение. Поражение монооксидом углерода (СО, оксид углерода) является одной из ведущих причин летальных исходов от отравлений [1]. Отравления этим газом могут произойти в результате токсического действия компонентов пожаров [1,2], совершения суицидальных попыток [3], неправильной эксплуатации систем домашнего отопления [4] и др. У пострадавших, которых спасли после отравления СО, вслед за асимптоматичным периодом, могут развиваться нарушения функций центральной нервной системы (ЦНС) [5-9], которые существенно снижают качество жизни таких пострадавших [7,8,10]. Механизм развития этих нарушений не может быть в полной мере обусловлен развитием гемической гипоксии вследствие образования карбоксигемоглобина (HbCO) [7,8,11], что требует поиска новых маркеров патогенеза поражения структур

ЦНС оксидом углерода, разработки прогностических методов, что будет способствовать внедрению новых терапевтических подходов.

Имеются данные о том, что отравление СО приводит к развитию опосредованных нейротоксических механизмов действия. В число этих механизмов могут входить: развитие оксидативного стресса и воспалительных реакций [5,12], активация программируемой клеточной гибели [12,13], запуск процессов эксайтотоксичности [9,14] и др. В РФ доступными антидотами отравления СО являются кислород и ацизол [1]. Согласно данным литературы применение кислорода для предотвращения отдалённых нарушений функций центральной системы малоэффективно при данном виде патологии [6,15]. Перспективным направлением для коррекции нарушений функций ЦНС при тяжёлых

Толкач Павел Геннадьевич (Tolkach Pavel Gennad'evich), капитан медицинской службы, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, pgtolkach@gmail.com

Башарин Вадим Александрович (Basharin Vadim Aleksandrovich), д.м.н., полковник медицинской службы, главный токсиколог-радиолог МО РФ, начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, basharin1@mail.ru

Сарманаев Салават Хамитович (Sarmanaev Salavat Hamitovich), д.м.н., профессор, начальник кафедры токсикологии и клинической фармакологии, заместитель руководителя токсикологического центра ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 125371, г. Москва, ssarm@bk.ru

поражениях СО может быть применение препаратов и растворов, обладающих нейропротективными механизмами действия [6].

Перспективные направления коррекции нейротоксических нарушений при поражении монооксидом углерода. Оказание помощи пострадавшим при отравлении СО включает комплекс мероприятий по прекращению дальнейшего поступления токсиканта в организм [16,17]. Для этого используются средства защиты органов дыхания или предпринимаются меры направленные на быстрейшее удаление пострадавшего из загрязнённой зоны [18].

На сегодняшний день в РФ доступными антидотами оксида углерода являются кислород и ацизол [1,7,19]. Ацизол – комплексное цинкорганическое соединение (бис-(1-винилимидазол)цинкдиацетат). Препарат используется в форме капсул и раствора для инъекций. Механизм действия основан на снижении сродства гемоглобина к оксиду углерода, улучшении кислородосвязывающих и газотранспортных функций крови [19]. Кислородотерапия пострадавших, подвергшихся поражению СО, может проводиться как в нормобарическом, так и в гипербарическом режимах. Для достижения этих целей используется нормобарическая оксигенация (НБО) и гипербарическая оксигенация (ГБО) [20].

Нормобарическая оксигенация проводится всем пострадавшим, подвергшимся воздействию СО [9, 16-18]. Лечебное действие НБО заключается в более быстрой диссоциации НbСО и скорейшей элиминации монооксида углерода из организма. Показаниями к проведению ГБО являются: угнетение сознания, наличие патологических неврологических симптомов, кардиальная ишемия, тяжёлый ацидоз, повышение уровня НbСО в крови более 25% (20% при наличии кардиальной ишемии, 15% у беременных женщин) [14]. Механизм действия ГБО при отравлении монооксидом углерода может быть связан с увеличением насыщения тканей кислородом и более быстрой элиминацией СО из организма [21], увеличением продукции макроэргических соединений [22], снижением уровня оксидативного стресса и воспаления [23]. Эффективность проведения ГБО зависит от времени начала её проведения после экспозиции токсиканта. Так, имеются данные, что раннее проведение ГБО (менее часа после поражения) малоэффективно, так как может привести к дополнительному образованию активированных форм кислорода (АФК), окислению белков, активации каспазного каскада [24]. Кроме того, ГБО малоэффективна при её применении спустя более 5 часов после экспозиции токсиканта. Вероятно, это связано с активно развившимся каспазным каскадом, который уже не может быть предотвращён применением ГБО

[25]. Таким образом, наибольшая эффективность применения ГБО при тяжёлом поражении СО показана при её применении не ранее чем через один час и не позднее пяти часов после окончания интоксикации [13]. Однако следует учитывать, что, применение ГБО ограничено доступностью и высоким риском развития осложнений при использовании кислорода под давлением более 3 ата [13].

Ввиду наличия ограничений по использованию ГБО, кислородотерапию можно проводить посредством использования гипероксигенированного раствора. Гипероксигенированный раствор представляет собой раствор кристаллоидов, насыщенного кислородом, парциальное давление которого составляет 100-120 кПа, что более чем в 10 раз превышает таковое в артериальной крови [26]. В исследовании S. Xingxing (2013) была показана эффективность лечебного применения гипероксигенированного раствора при остром тяжёлом поражении лабораторных животных СО. Было выявлено, что внутривенное применение гипероксигенированного раствора приводило к значимому снижению содержания НbСО уже через 5 мин после начала лечения. Отмечалось снижение содержания белка s100 β в плазме крови животных через 2,5 часа после окончания интоксикации СО. Протективный эффект применения гипероксигенированного раствора подтверждается нормализацией памяти и обучаемости, оценённых у лабораторных животных в отдалённом периоде поражения. Механизм протективного действия гипероксигенированного раствора может быть связан со скорейшим устранением гемической гипоксии и нормализацией проницаемости гематоэнцефалического барьера [9].

Механизмы действия кислорода и ацизола направлены на устранение гемической гипоксии и не могут в полной мере предотвратить развитие других нейротоксических механизмов действия СО [6,18,19,27]. Роль опосредованного нейротоксического действия СО в развитии когнитивных нарушений была доказана в экспериментах, моделирующих гипоксическую гипоксию. Так, в этих экспериментах были продемонстрированы существенные различия по биохимическим и гистологическим признакам повреждения ЦНС по сравнению с экспериментальными моделями интоксикацией оксидом углерода [18]. Таким образом, применение антидотов (кислорода и ацизола) пострадавшим, подвергшимся тяжёлому отравлению СО, может достигать наибольшей эффективности в комбинации с другими средствами терапии, обладающими нейропротективными механизмами действия [6].

Одним из механизмов нейротоксического действия СО является развитие оксидативного

стресса [5,12,14,28]. Инициация этого процесса при поражении СО может происходить различными путями.

Существенный вклад в развитие оксидативного стресса после экспозиции токсичной концентрации СО вносят металлы с переменной валентностью (железо) [29]. Железо катализирует взаимодействие супероксид аниона с перекисью водорода, в результате чего образуется высоко-реактивный гидроксильный радикал. Выявлено, что при отравлении СО происходит десятикратное увеличение содержания железа в цитозоле клеток ЦНС. Вероятно, это связано с активацией гемоксигеназы, фермента, который расщепляет гем на биливердин, железо и эндогенный оксид углерода, вызванной развившейся гипоксией после тяжёлого поражения СО [30].

Другим механизмом, инициирующим развитие оксидативного стресса при данном виде патологии, является влияние СО на систему ксантиноксидоредуктаз [14,31]. Ксантиноксидаза восстанавливает кислород до супероксид аниона, спонтанно дисмутирующего в пероксид водорода. Эти события приводят к развитию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в структурах ЦНС [32]. В результате перекисидации липидов в головном мозге образуется малоновый диальдегид (МДА). Показано, что через 6 ч после острого тяжёлого отравления СО в коре головного мозга крыс в 2 раза увеличивается содержание МДА, а возвращение его концентрации к норме происходит только через 14 сут после воздействия [33].

Малоновый диальдегид, образующийся вследствие перекисидации липидов, взаимодействуя с аминокислотными остатками катионного основного белка миелина (ОБМ), может изменить его заряд, трансформировать пространственную структуру, тем самым способствуя представлению его как антигена для иммунной системы организма [34]. Изменённый ОБМ запускает адаптивную реакцию со стороны иммунной системы, в результате чего повреждается он сам, и развиваются нарушения функций центральной нервной системы. Важно отметить, что эти нарушения развиваются в отдалённом периоде поражения монооксидом углерода [35].

При отравлении СО оксидативный стресс может развиваться вследствие угнетения системы антиоксидантной защиты клетки. Так, в исследовании P. Whang (2009) выявлено, что уровень восстановленного глутатиона, активность глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы значительно снижены после поражения СО, причём эти изменения сохранялись в течение 21 сут после отравления [36].

Таким образом, развитие оксидативного стресса в структурах ЦНС после тяжёлого поражения СО может быть обусловлено как гиперпродук-

цией АФК, так и снижением антирадикальной защиты клетки или комбинацией этих факторов [21].

Исходя из полученных данных литературы, следует то, что одним из направлений предотвращения оксидативного стресса, вызванного отравлением СО, является использование препаратов, обладающих антиоксидантной активностью.

Имеются данные о том, что применение гидрогенированного раствора может стать новым направлением в терапии тяжёлого поражения СО [14,28]. Гидрогенированный раствор представляет собой раствор кристаллоидов, насыщенный водородом в концентрации 0,55-0,65 мМ/л [37]. В исследовании W. Wang (2013) было показано, что внутрибрюшинное введение крысам гидрогенированного раствора (6 мл/кг) способствовало коррекции когнитивных нарушений, развивающихся в отдалённом периоде отравления СО. Было установлено, что его применение приводило к снижению содержания свободного железа в ЦНС и плазме крови крыс. Нейропротективный механизм действия гидрогенированного раствора может быть связан со снижением уровня оксидативного стресса, посредством ингибирования образования активных форм кислорода за счёт формирования хелатных комплексов со свободным железом в плазме крови и головном мозге [12].

Ещё одним газом, который можно рассматривать в качестве эффективного компонента терапии тяжёлых отравлений СО является метан. В организме человека метан синтезируется анаэробными бактериями, легко проникает через мембрану клеток и диффундирует между органеллами. Метан используется в форме раствора для инъекций. Для этого метан растворяется в физиологическом растворе в течение 4 часов под давлением в 0,4 МПа, концентрация метана в растворе составляет 0,99 мМ/л.

В исследовании D. Fan (2016) в экспериментальной модели на крысах было показано, что применение раствора метана (10 мл/кг внутрибрюшинно однократно непосредственно после экспозиции монооксида углерода) способствовало снижению числа повреждённых нейронов в отдалённом периоде (9 сут) отравления СО. Применение метана снижало уровень перекисного окисления липидов и стимулировало антиоксидантную защиту нейронов головного мозга крыс. Было продемонстрировано достоверное увеличение активности супероксиддисмутазы и снижение содержания малонового диальдегида и степени окислительного повреждения ДНК в гиппокампе крыс, получивших терапию метаном, в сравнении с отравленными животными контрольной группы. В группе животных, получивших раствор метана, отмечалось значитель-

ное снижение уровня воспалительных факторов (ФНО-1 α и ИЛ-1 β) в гиппокампе и коре больших полушарий головного мозга крыс. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что применение метана может ограничивать развитие отдалённых нарушений функций ЦНС индуцированных нейротоксическими влияниями CO, за счёт наличия у него антиоксидантного и противовоспалительного механизмов действия [38].

Другим эффективным антиоксидантом, который может использоваться для предотвращения оксидативного стресса, связанного с отравлением CO, является аллопуринол. Аллопуринол – высокоэффективный ингибитор ксантиноксидазы и «поглотитель» АФК [39]. В исследовании С. Dong (2015) животным, подвергшимся тяжёлому поражению CO, вводили внутривенно раствор аллопуринола (50 мг/кг/12 час 6-кратно). Было продемонстрировано, что применение аллопуринола приводило к уменьшению гибели нейроцитов в гиппокампе и коре больших полушарий, снижению экспрессии провоспалительных цитокинов (ФНО-1 α), и ограничению деградации основного белка миелина. Более того, было отмечено восстановление когнитивных функций у животных в отдалённом периоде поражения CO. Механизм нейропротективного действия аллопуринола может быть связан с угнетением активности ксантиноксидазы и ограничением развития оксидативного стресса [5].

Другим механизмом нейротоксического действия оксида углерода является его участие в активации программируемой гибели клеток [40], которая может развиваться как по пути апоптоза, так и аутофагии [41].

Оксид углерода блокирует цитохромоксидазу в митохондриях, что приводит к блокированию переноса электронов по дыхательной цепи, снижению митохондриального мембранного потенциала и повреждению структуры митохондрии [18]. В результате нарушения целостности наружной мембраны митохондрий происходит утечка цитохрома C в цитоплазму. Эти события способствуют активации митохондриального (внутреннего) пути апоптоза, что приводит к запуску проапоптотических сигналов в клетке посредством активации эффекторных и исполнительных каспаз [41,42].

В исследовании Q. Li (2015) выявлено, что при тяжёлом поражении CO отмечаются признаки апоптоза в клетках коры больших полушарий головного мозга и гиппокампа. Методом проточной цитометрии было показано, что количество апоптотических клеток было увеличено на 1 сут и достигало максимума на 3 сут после поражения; спустя 28 сут – количество апоптотических кле-

ток снижалось. Это может быть связано с тем, что клетки, подвергшиеся раннему апоптозу, уже были лизированы [43].

Программируемая гибель нейронов может быть запущена не только по пути апоптоза, но и вследствие аутофагии [41]. Аутофагия способствует защите структур ЦНС, когда происходит повреждение нейронов. Однако она сама в результате гиперактивации может привести к повреждению и гибели нейронов. Одним из маркеров аутофагии является белок беклин-1 [12]. Это белок, экспрессируемый геном, индуцирующим аутофагию, способствует формированию аутофагосомы на ранних этапах. В гиппокампе лабораторных животных, подвергшихся поражению CO, отмечалось увеличение беклин-1-позитивных клеток спустя 3 и 7 сут после интоксикации [12].

Запуск проапоптотического сигнала может произойти посредством развития эксайтотоксичности. Установлено, что непосредственно после тяжёлого отравления CO в головном мозге крыс происходит увеличение содержания возбуждающей глутаминовой аминокислоты [44]. В результате действия избыточного количества глутамата на N-метил-D-аспаратные-рецепторы (NMDA) происходит изменение проницаемости ионных каналов, ведущее к накоплению внутриклеточного Ca²⁺. Это способствует запуску каскада реакций с активацией протеолитических ферментов и разрушением клеточных структур [45]. Помимо NMDA-рецепторов, глутамат действует на каинатные рецепторы, которые широко распространены в пирамидных нейронах гиппокампа. Активация этих рецепторов способствует пролонгированному увеличению возбудимости этих клеток и длительному поступлению Ca²⁺ в цитоплазму [46], обуславливающему отдалённое повреждающее действие в результате развития эксайтотоксичности в ответ на единичный стимул [47].

Согласно приведённым данным литературы процессы апоптоза и аутофагии в структурах ЦНС лабораторных животных начинают развиваться уже на 1 сут после экспозиции токсичной концентрации CO, достигая максимума к 7 сут и сохраняясь до 21 суток [12,43]. Соответственно, эти процессы могут обуславливать развитие нарушений функций ЦНС как в раннем, так и в отдалённом периоде поражения CO и могут быть ответственны за развитие токсической энцефалопатии у пострадавших.

Одним из путей предотвращения развития апоптоза после отравления CO является воздействие на баланс внутриклеточного Ca²⁺. Так, в исследовании J.Q. Yang (2001) было обнаружено, что применение блокатора Ca²⁺-каналов – нимодипина (1 мг/кг/сут в течение 7 дней) приводило к сни-

жению летальности экспериментальных мышей, нормализации когнитивных функций в отдалённом периоде поражения СО. Более того, в результате гистологического исследования полей СА₁ и СА₃ гиппокампа было выявлено снижение нейрональной гибели на 14 сут после экспозиции СО на фоне применения нимодипина. Полученные результаты указывают на нейропротективный механизм действия блокатора Са²⁺-каналов при отравлении СО, который может быть связан с обратимым изменением концентрации внутриклеточного Са²⁺ [48].

Другим методом предотвращения активации апоптоза является воздействия на баланс белков-регуляторов апоптоза. Так в исследовании S. Moallem (2015) было показано, что введение крысам рекомбинантного эритропоэтина (5000 ед/кг внутривенно непосредственно после острого поражения СО) привело к ингибированию апоптоза в ЦНС. Было отмечено уменьшение количества апоптотических клеток в структурах головного мозга крыс в отдалённом периоде поражения [49]. Антиапоптотический механизм действия эритропоэтина может быть связан с его влиянием на белки-регуляторы апоптоза, в частности Вах и Bcl₂. Активированный белок Вах приводит к снижению митохондриального мембранного потенциала, что способствует выходу цитохрома С из митохондрии и активации каспазного каскада. Активированный белок Bcl₂ предотвращает снижение митохондриального мембранного потенциала. Увеличение соотношения Вах/Bcl₂ – маркер активации апоптоза. Применение эритропоэтина приводило к достоверному снижению соотношения Вах/Bcl₂ и восстановлению мембранного митохондриального потенциала после тяжёлого отравления СО [4, 49].

Ещё одним препаратом, обладающим антиапоптотическим механизмом действия, является гранулоцитарный колонестимулирующий фактор (Г-КСФ). В исследовании M. Hashemzadei (2016) было выявлено, что внутривенное введение крысам Г-КСФ (100 мг/кг/сут в течение 5 суток) приводило к изменению баланса белков-регуляторов апоптоза. Было установлено, что на 5 сут после экспозиции происходит рост активации таких антиапоптотических белков, как JAK-2, STAT-3 и Akt1, которые приводят к снижению транскрипции проапоптотических белков семейства Bad и эффекторной каспазы-3, что способствует ограничению апоптотической гибели клеток на фоне тяжёлого отравления СО [50].

Другим механизмом действия Г-КСФ при тяжёлом поражении СО является его трофическое действие на различные типы клеток, в том числе на нейрональные [51]. В исследовании M. Ghobary

(2013) было показано, что введение крысам Г-КСФ (150 мг/кг однократно непосредственно после экспозиции), приводило к уменьшению содержания маркеров повреждения ЦНС (белка s100β) в плазме крови на 1 сут после поражения. При проведении гистологического исследования было выявлено, что применение Г-КСФ приводило к выраженной ремиелинизации белого вещества в головном мозге крыс на 7 сут после тяжёлого отравления СО [52]. Нейропротективное действие Г-КСФ может быть связано с наличием у него антиапоптотической [53] и противовоспалительной активности [54]. Выявлено, что Г-КСФ взаимодействует с рецепторами, находящимися на поверхности глиальных клеток и нейронов, в результате чего происходит миграция циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток в область повреждения [52].

Отравление СО приводит к изменению в системе нейромедиаторов. Так, была предложена теория «катехоламинового стресса», обуславливающего развитие отдалённых нарушений функций ЦНС после экспозиции СО в токсичной концентрации [55]. В эксперименте было показано, что поражение СО приводило к избыточному выбросу дофамина симпатическими нейронами, за счёт стимуляции его экзоцитоза [56]. Реоксигенация тканей, происходящая после отравления СО, приводит к окислительному дезаминированию избытка внеклеточного дофамина, в результате чего образуются АФК, ведущие к развитию окислительного стресса и электрофильные хиноны дофамина, обладающие цитотоксическим действием [57]. Причём вышеописанные изменения сохраняются в течение нескольких недель после отравления СО [55]. Основываясь на теории «катехоламинового криза», вызванного СО, были предприняты попытки коррекции развивающихся нарушений посредством проведения симпатолитической терапии. Было показано, что применение симпатолитиков (дексметомидина, ремифентанила) приводило к супрессии симпатических нейронов, за счёт предотвращения выброса дофамина в ответ на тяжёлое поражение СО [6].

В результате нейротоксического действия СО происходит повреждение и гибель клеток в структурах ЦНС. Таким образом, одним из методов поддержания трофики повреждённых тканей головного мозга является применение стволовых клеток. Стволовые клетки способны реагировать на белки, экспрессируемые нейронами или другими клетками в поражённых структурах ЦНС, что способствует их миграции в повреждённые области [58].

В исследовании G. Jiang (2009) крысы подвергались тяжёлому поражению СО, что приводило к нарушению когнитивных функций в отдалён-

ном периоде. Было установлено, что внутривенное введение мезенхимальных стволовых клеток спустя 1 сут после экспозиции приводило к восстановлению пространственной памяти экспериментальных животных в отдалённом периоде поражения СО. Инфузированные стволовые клетки были обнаружены в областях головного мозга наиболее подверженных токсическому действию СО: гиппокампа, базальные ганглии, субвентрикулярное белое вещество [59]. При гистологическом исследовании на 35 сут после экспозиции СО была отмечена нормализация гистоархитектоники полей гиппокампа. Стволовые клетки обеспечивают трофическую поддержку повреждённых тканей головного мозга за счёт локального синтеза нейтрофинов и других факторов роста, что приводит к стимуляции ремиелинизации, ангиогенеза, синаптогенеза, нейротрофической и восстановлению повреждённых нейронов [59].

Ещё одним методом коррекции нарушений функций ЦНС после поражения СО является применение препаратов из группы нейропептидов. В исследовании О.В. Королёвой (1998) была продемонстрирована эффективность применения церебролизина в качестве корректора нарушенной функций ЦНС после отравления СО. Было показано, что церебролизин (2,5 мл/кг/сут в течение 14 дней) способствует нормализации пространственной памяти крыс в отдалённом периоде после поражения СО и восстановлению гистоархитектоники полей гиппокампа. Механизм действия церебролизина может быть связан с его нейротрофической активностью, повышением эффективности аэробного энергетического метаболизма головного мозга, антиоксидантным действием [60].

Заключение. Отравление СО приводит к развитию нарушений функций ЦНС у пострадавших в периоде реконвалесценции. Механизм развития этих нарушений связан, с развитием гемической гипоксии. Лечебное применение кислорода не приводит к полному восстановлению нарушений функций ЦНС после поражения СО. Вероятно, это связано с тем, что применение кислорода (лечебное) не способно в полной мере предотвратить развитие опосредованных нейротоксических механизмов действия монооксида углерода. Показано, что при острой интоксикации монооксидом углерода запускаются различные опосредованные нейротоксические механизмы, что требует поиска новых маркеров патогенеза поражения СО. Основанные на оценке вновь установленных биомаркеров токсического процесса объективные методы прогноза будут способствовать разработке новых терапевтических подходов при отравлении СО.

Предположительно, одним из методов коррекции когнитивных нарушений при данном виде патологии является использование препаратов и растворов, обладающих нейротрофическими механизмами действия. В число таких средств могут входить препараты, обладающие антиоксидантным, антиапоптотическим и противовоспалительным действием. Помимо этого показали свою эффективность препараты из группы блокаторов Ca^{2+} -каналов и симпатолитиков; установлен эффект препаратов мезенхимальных стволовых клеток. Одним из направлений в коррекции постинтоксикационных нарушений функций ЦНС при отравлении СО возможно использование пептидных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сарманов С.Х., Башарин В.А., Шербашов К.А. Токсико-химическое поражение на пожаре. Биомед. журн. «Medline.ru». 2015; 16: 434-42.
2. Черкашин Д.В., Чумаков В.В., Чумаков А.В. и др. Ингаляционные отравления при пожарах на подводных лодках Военно-морского флота: особенности лечебно-диагностического подхода. Вестн. Рос. Воен.-мед. акад. 2015; 3 (51): 22-27.
3. Taki K. Potential application of hyperbaric oxygen therapy (HBOT) to carbon monoxide poisoning: acute co poisoning in Japan. J. Jpn. Assoc. Clin. Hyperb. 2009; 6: 7-12.
4. Rezaee M.A., Mohanmpour A.H., Imenshahidi M. et al. Protective effect of erythropoietin on myocardial apoptosis in rats exposed to carbon monoxide. Life sciences. 2016; 148: 118-24.
5. Dong G., Ren M., Wang X. et al. Allopurinol reduces severity of delayed neurologic sequelae in experimental carbon monoxide toxicity in rats. Neurotoxicology. 2015; 48: 171-177.
6. Oh S., Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. Neural. Regen. Res. 2015; 10 (1): 36-48.
7. Sarmanov S.Kh. Carboxyhemoglobin concentration in cases of acute carbon monoxide poisonings (ACMP). Toxicology Lett. 2003; 144 (1): 159.
8. Sarmanov S.Kh. Epidemiology of carbon monoxide (CM) poisonings in Ufa. J Toxicol Clin Toxicol. 2003; 41(5): 713.
9. Xingxing S., Xu H., Meng X. et al. Potential use of hyperoxygenated solution as a treatment strategy for carbon monoxide poisoning. Plos. One. 2013; 8 (12): 1-9.
10. Софронов Г.А., Черный В.С., Александров М.В. Качество жизни лиц, перенесших острые отравления продуктами горения. Вестн. Рос. Воен.-мед. акад. 2012; 2 (38): 6-10.
11. Prockop L.D., Chichkova R.I. Carbon monoxide intoxication: an updated review. J. Neurol. Sci. 2007; 262 (1-2): 122-30.
12. Wang W., Tian L., Li Y. et al. Effects of hydrogen-rich saline on rats with acute carbon monoxide poisoning. J. Emerg. Med. 2013; 44 (1): 107-15.
13. Juric D.M., FINDERLE Z., SUPUT D. et al. The effectiveness of oxygen therapy in carbon monoxide poisoning is pressure- and time-dependent: A study on cultured astrocytes. Toxicol. Lett. 2015; 233 (1): 16-21.
14. Roderiquez J.D., Josefa C.S., Feldman M.J. et al. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. Toxicology. 2015; 334: 45-58.
15. Chiew A.L., Buckley N.A. Carbon monoxide poisoning in the 21st century. Critical. Care. 2014; 18: 221.
16. Маркизова Н.Ф. Токсичные компоненты пожаров. СПб.: Фолиант; 2011.
17. Зобнин Ю.В. Отравление монооксидом углерода (угарным газом). СПб.: Тактик-Студио; 2011.
18. Тиунов Л.А. Токсикология окиси углерода. М.: Медицина; 1980.
19. Баринов В.А., Алексанини С.С., Радионов И.А. и др. Экспериментальное обоснование новой лекарственной формы антидота оксида углерода и других продуктов горения. Экология человека. 2006; 5: 20-24.
20. Weaver L.K., Howe S., Hopkins R. et al. Carboxyhemoglobin half-life in carbon monoxide-poisoned patients treated with 100% oxygen at atmospheric pressure. Chest. 2000; 117 (3): 801-8.
21. Suat Z., Behcet A., Karta S. et al. An assessment of antioxidant status in patient with carbon monoxide poisoning. World J. Emerg. Med. 2014; 5: 91-5.
22. Brown, S.D., Piantadosi C.A. Recovery of energy metabolism in rat brain after carbon monoxide hypoxia. J. Clin. Invest. 1992; 89 (2): 666-72.
23. Thom S.R. Carbon monoxide pathophysiology and treatment. Physiol. Med. Hyper. Ther. 2008; 12: 321-47.
24. Weber S.U., Koch A., Kankleit J. et al. Hyperbaric oxygen induces apoptosis via a mitochondrial mechanism. Apoptosis. 2009; 14 (1): 97-107.

25. Porter A.G., Janicke R.U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ.* 1999; 6 (2): 99-104.
26. Gao C., Xu L., Chai W. et al. Amelioration of intestinal ischemia-reperfusion injury with intraluminal hyperoxygenated solution: studies on structural and functional changes of enterocyte mitochondria. *J. Surg. Res.* 2005; 129 (9): 298-305.
27. Hampson N.B., Piantadosi C.A., Thom S.R. et al. Practice recommendations in the diagnosis, management, and prevention of carbon monoxide poisoning. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 186 (11): 1095-101.
28. Shen M., He J., Cai J. et al. Hydrogen as a novel and effective treatment of acute carbon monoxide poisoning. *Med. Hypotheses.* 2010; 75 (2): 235-7.
29. Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 39 (1): 44-84.
30. Cronje F.J., Carrway M.S., Freiberger J.J. et al. Carbon monoxide actuates O(2)-limited heme degradation in the rat brain. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37 (11): 1802-12.
31. Thom S.R. Carbon monoxide-mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J. Appl. Physiol.* 1990; 68 (3): 997-1003.
32. Thom S.R., Ohnishi S.T., Fisher D. et al. Pulmonary vascular stress from carbon monoxide. *Toxicol. Appl. Pharm.* 1999; 154 (1): 12-9.
33. Heung M.L., Lance M.H., George H.G. Differential inhibition of mitochondrial respiratory complexes by inhalation of combustion smoke and carbon monoxide, in vivo, in the rat brain. *Inhal. Toxicol.* 2010; 22 (9): 770-7.
34. Thiele G.M., Tuma D.G., Willis M.S. et al. Soluble protein modified with acetaldehyde and malondialdehyde are immunogenic in the absence of adjuvant. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1998; 22 (8): 1731-9.
35. Watanabe S., Matsubo H., Kobayashi Y. et al. Transient degradation of myelin basic protein in the rat hippocampus following acute carbon monoxide poisoning. *Neurosci. Res.* 2010; 68 (3): 232-40.
36. Wang P., Zeng T., Zhang C. et al. Lipid peroxidation was involved in the memory impairment of carbon monoxide-induced delayed neuron damage. *Neurochem. Res.* 2009; 34 (7): 1293-8.
37. Nakao A., Toyoda Y., Sharma P. et al. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome-an open label pilot study. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2010; 46 (2): 140-38.
38. Fan D., Hu H, Sun Q. et al. Neuroprotective effects of exogenous methane in a rat model of acute carbon monoxide poisoning. *Brain res.* 2016; 1633: 62-39.
39. Moorhouse P.C., Grootveld M., Halliwell B. et al. Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS Lett.* 1987; 213 (1): 23-8.
40. Piantadosi C.A., Zhang J., Levin E.D. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. *Exp. Neurol.* 1997; 147 (1): 103-14.
41. Вересов В.Г. Структурная биология апоптоза. Минск: Белорус. Наука; 2008.
42. Tofiahi R., Tillmark N., Dare E. et al. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to CO in vitro. *Brain Res.* 2006; 1098: 1-8.
43. Li Q., Cheng Y., Bi M.J. et al. Effects of N-Butylphthalide on the expressions of Nogo/NgR in rat brain tissue after carbon monoxide poisoning. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015; 39 (2): 953-44.
44. Piantadosi C.A., Zhang J., Demchenko I.T. Production of hydroxyl radical in the hippocampus after CO hypoxia or hypoxic hypoxia in the rat. *Free Radic. Biol. Med.* 1997; 2 (4): 725-32.
45. Liu Y., Fechte L.D. MK801 protects against carbon monoxide induced hearing loss. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995; 132 (2): 196-202.
46. Melyan Z., Wheal H.V. Metabotropic action of kainite receptors in the regulation of ISAHF and excitability in CA1 pyramidal cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011; 717: 49-58.
47. Гордон Р.Я., Л.В. Шубина, Капралова М.В. и др. Особенности нейродегенерации полей гиппокампа после действия каиновой кислоты у крыс. *Цитология.* 2014; 56 (12): 919-25.
48. Yang J.Q., Zhou Q.X. Protective effect of nimodipine against cerebral injury induced by subacute carbon monoxide intoxication in mice. *Acta. Pharmacol. Sin.* 2001; 22 (5): 423-7.
49. Moallem S.A., Mohamadpour A.H., Abnous K. et al. Erythropoietin in the treatment of carbon monoxide neurotoxicity in rat. *Food Chem. Toxicol.* 2015; 26: 56-64.
50. Hashemzaei M., Shahidi M.I., Moallem S.A. et al. Modulation of JAK2, STAT3 and Akt1 proteins by granulocyte colony stimulating factor following carbon monoxide poisoning in male rat. *Drug Chem. Toxicol.* 2016; 1: 1-5.
51. Konishi Y., Chui D.H., Hirose H. et al. Trophic effect of erythropoietin and other hematopoietic factors on central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Brain Res.* 1993; 609 (1-2): 29-35.
52. Ghorbani M., Moallem S., Abnous K. et al. The effect of granulocyte colony-stimulating factor administration on carbon monoxide neurotoxicity in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2013; 36 (1): 102-8.
53. Yata K., Matchett G.A., Tsubokawa T. et al. Granulocyte-colony stimulating factor inhibits apoptotic neuron loss after neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Brain Res.* 2007; 1145: 227-38.
54. Gibson C.L., Jones N.C., Prior M.L. et al. G-CSF suppresses edema formation and reduces interleukin-1 beta expression after cerebral ischemia in mice. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2005; 64 (9): 763-9.
55. Park E.J., Min Y.G., Kim G.W. et al. Pathophysiology of brain injuries in acute carbon monoxide poisoning: a novel hypothesis. *Med. Hypotheses.* 2014; 83: 186-9.
56. Hara S., Mukai T., Kurosaki K. et al. Modification of the striatal dopaminergic neuron system by carbon monoxide exposure in free-moving rats, as determined by in vivo brain microdialysis. *Arch. Toxicol.* 2002; 76 (10): 596-605.
57. Hauser D.N., Dukes A.A., Mortimer A.D. et al. Dopamine quinone modifies and decreases the abundance of the mitochondrial selenoprotein glutathione peroxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 65: 419-58.
58. Hess D., Borlongan C. Stem cells and neurological diseases. // *Cell Prolif.* 2008; 41: 94-114.
59. Jiang G., Gao J., Xu Y. et al. Structural and functional improvement of injured brain after severe acute carbon monoxide poisoning by stem cell-based therapy in rats. *Crit. Care Med.* 2009; 37: 1416-22.
60. Koroleva V.I., Korolev O.S., Mares V. et al. Hippocampal damage induced by carbon monoxide poisoning and spreading depression is alleviated by chronic treatment with brain derived polypeptides. *Brain Research.* 1999; 816: 618-27.

REFERENCES:

1. Sarmanav S.Kh., Basharin V.A., Sherbashov K.A. The Toxic-chemical damage on fire. *Medline.ru.* 2015; 16: 434-2 (in Russian).
2. Cherkashin D.V., Tchumakov V.V., Tchumakov A.V. et al. Inhalation poisoning at fires on naval submarines: features of medical and diagnostic approach. *Vestn. Ros. Voen.-med. Akad.* 2012; 2 (38): 6-10 (in Russian).
3. Taki K. Potential application of hyperbaric oxygen therapy (HBOT) to carbon monoxide poisoning: acute poisoning in Japan. *J. Jpn. Assoc. Clin. Hyperb.* 2009; 6: 7-12.
4. Rezaee M.A., Mohamadpour A.H., Imenshahidi M. et al. Protective effect of erythropoietin on myocardial apoptosis in rats exposed to carbon monoxide. *Life sciences.* 2016; 148: 118-24.
5. Dong G., Ren M., Wang X. et al. Allopurinol reduces severity of delayed neurologic sequelae in experimental carbon monoxide toxicity in rats. *Neurotoxicology.* 2015; 48: 171-6.
6. Oh S., Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. *Neural. Regen. Res.* 2015; 10 (1): 36-48.
7. Sarmanav S.Kh. Carboxyhemoglobin concentration in cases of acute carbon monoxide poisonings (ACMP). *Toxicology Lett.* 2003; 144 (1): 159.
8. Sarmanav S.Kh. Epidemiology of carbon monoxide (CM) poisonings in Ufa. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2003; 41(5): 713.
9. Xingxing S., Xu H., Meng X. et al. Potential use of hyperoxygenated solution as a treatment strategy for carbon monoxide poisoning. *Plos. One.* 2013; 8 (12): 1-9.
10. Sofronov G.A., Chernyy V.S., Aleksandrov M.V. Quality of life of the persons who have transferred sharp poisonings by products of burning. *Vestn. Ros. Voen.-med. akad.* 2012; 2 (38): 6-10 (in Russian).
11. Prockop L.D., Chichkova R.I. Carbon monoxide intoxication: an updated review. *J. Neurol. Sci.* 2007; 262 (1-2): 122-30.
12. Wang W., Tian L., Li Y. et al. Effects of hydrogen-rich saline on rats with acute carbon monoxide poisoning. *J. Emerg. Med.* 2013; 44 (1): 107-15.
13. Juric D.M., FINDERLE Z., SUPUT D. et al. The effectiveness of oxygen therapy in carbon monoxide poisoning is pressure- and time-dependent: A study on cultured astrocytes. *Toxicol. Lett.* 2015; 233 (1): 16-14.
14. Roderiquea J.D., Josefa C.S., Feldman M.J. et al. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. *Toxicology.* 2015; 334: 45-58.
15. Chiew A.L., Buckley N.A. Carbon monoxide poisoning in the 21st century. *Critical. Care.* 2014; 18: 221.
16. Markizova, N.F. Toxic components of fire. *SPb.: Foliant;* 2008 (in Russian).
17. Zobnin Yu.V. Carbon monoxide poisoning (Carbon monoxide). *SPb.: Taktik-Studio;* 2011 (in Russian).
18. Tiunov L.A. Toxicology of carbon monoxide. *Moscow: Medicina;* 1980 (in Russian).
19. Barinov V.A., Chumakov V.V., Nichiporenko S.P. et al. Experimental grounding of new drug form of carbon monoxide antidote and other combustion products. *Jekologija cheloveka.* 2006; 5: 20-24.
20. Weaver L.K., Howe S., Hopkins R. et al. Carboxyhemoglobin half-life in carbon monoxide-poisoned patients treated with 100% oxygen at atmospheric pressure. *Chest.* 2000; 117 (3): 801-8.
21. Suat Z., Behcet A., Karta S. et al. An assessment of antioxidant status in patient with carbon monoxide poisoning. *World J. Emerg. Med.* 2014; 5: 91-5.
22. Brown, S.D., Piantadosi C.A. Recovery of energy metabolism in rat brain after carbon monoxide hypoxia. *J. Clin. Invest.* 1992; 89 (2): 666-72.
23. Thom S.R. Carbon monoxide pathophysiology and treatment. *Physiol. Med. Hyper. Ther.* 2008; 12: 321-47.
24. Weber S.U., Koch A., Kankeliet J. et al. Hyperbaric oxygen induces apoptosis via a mitochondrial mechanism. *Apoptosis.* 2009; 14 (1): 97-107.
25. Porter A.G., Janicke R.U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ.* 1999; 6 (2): 99-104.
26. Gao C., Xu L., Chai W. et al. Amelioration of intestinal ischemia-reperfusion injury with intraluminal hyperoxygenated solution: studies on structural and functional changes of enterocyte mitochondria. *J. Surg. Res.* 2005; 129 (9): 298-305.
27. Hampson N.B., Piantadosi C.A., Thom S.R. et al. Practice recommendations in the diagnosis, management, and prevention of carbon monoxide poisoning. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 186 (11): 1095-101.
28. Shen M., He J., Cai J. et al. Hydrogen as a novel and effective treatment of acute carbon monoxide poisoning. *Med. Hypotheses.* 2010; 75 (2): 235-7.
29. Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 39 (1): 44-84.
30. Cronje F.J., Carrway M.S., Freiberger J.J. et al. Carbon monoxide actuates O(2)-limited heme degradation in the rat brain. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37 (11): 1802-12.
31. Thom S.R. Carbon monoxide-mediated brain lipid peroxidation in the rat. *J. Appl. Physiol.* 1990; 68 (3): 997-1003.
32. Thom S.R., Ohnishi S.T., Fisher D. et al. Pulmonary vascular stress from carbon monoxide. *Toxicol. Appl. Pharm.* 1999; 154 (1): 12-9.
33. Heung M.L., Lance M.H., George H.G. Differential inhibition of mitochondrial

- respiratory complexes by inhalation of combustion smoke and carbon monoxide, in vivo, in the rat brain. *Inhal. Toxicol.* 2010; 22 (9): 770-7.
34. Thiele G.M., Tuma D.G., Willis M.S. et al. Soluble protein modified with acetaldehyde and malondialdehyde are immunogenic in the absence of adjuvant. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1998; 22 (8): 1731-9.
35. Watanabe S., Matsubo H., Kobayashi Y. et al. Transient degradation of myelin basic protein in the rat hippocampus following acute carbon monoxide poisoning. *Neurosci. Res.* 2010; 68 (3): 232-40.
36. Wang P., Zeng T., Zhang C. et al. Lipid peroxidation was involved in the memory impairment of carbon monoxide-induced delayed neuron damage. *Neurochem. Res.* 2009; 34 (7): 1293-8.
37. Nakao A., Toyoda Y., Sharma P. et al. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome-an open label pilot study. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2010; 46 (2): 140-140.
38. Fan D., Hu H., Sun Q. et al. Neuroprotective effects of exogenous methane in a rat model of acute carbon monoxide poisoning. *Brain res.* 2016; 1633: 62-62.
39. Moorhouse P.C., Grootveld M., Halliwell B. et al. Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS Lett.* 1987; 213 (1): 23-8.
40. Piantadosi C.A., Zhang J., Levin E.D. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. *Exp. Neurol.* 1997; 147 (1): 103-14.
41. Veresov V.G. Structural biology of apoptosis. Minsk: Belarus. nauka; 2008 (in Russian).
42. Tofiahi R., Tillmark N., Dare E. et al. Hypoxia-independent apoptosis in neural cells exposed to CO in vitro. *Brain Res.* 2006; 1098: 1-8.
43. Li Q., Cheng Y., Bi M.J. et al. Effects of N-Butylphthalide on the expressions of Nogo/NGR in rat brain tissue after carbon monoxide poisoning. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015; 39 (2): 953-953.
44. Piantadosi C.A., Zhang J., Demchenko I.T. Production of hydroxyl radical in the hippocampus after CO hypoxia or hypoxic hypoxia in the rat. *Free Radic. Biol. Med.* 1997; 2 (4): 725-32.
45. Liu Y., Fechte L.D. MK801 protects against carbon monoxide induced hearing loss. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995; 132 (2): 196-202.
46. Melyan Z., Wheal H.V. Metabotropic action of kainite receptors in the regulation of IsAHP and excitability in CA1 pyramidal cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011; 717: 49-58.
47. Gordon R.Ya., L.V. Shubina, M.V. Kapralova et al. Peculiarities of neurodegeneration in hippocampus fields after kainic acid action in rats. *Cytology.* 2014; 56 (12): 919-25 (in Russian).
48. Yang J.Q., Zhou Q.X. Protective effect of nimodipine against cerebral injury induced by subacute carbon monoxide intoxication in mice. *Acta. Pharmacol. Sin.* 2001; 22 (5): 423-7.
49. Moallem S.A., Mohamadpour A.H., Abnous K. et al. Erythropoietin in the treatment of carbon monoxide neurotoxicity in rat. *Food Chem. Toxicol.* 2015; 26: 56-64.
50. Hashemzaei M., Shahidi M.I., Moallem S.A. et al. Modulation of JAK2, STAT3 and Akt1 proteins by granulocyte colony stimulating factor following carbon monoxide poisoning in male rat. *Drug Chem. Toxicol.* 2016; 1: 1-5.
51. Konishi Y., Chui D.H., Hirose H. et al. Trophic effect of erythropoietin and other hematopoietic factors on central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Brain Res.* 1993; 609 (1-2): 29-35.
52. Ghorbani M., Moallem S., Abnous K. et al. The effect of granulocyte colony-stimulating factor administration on carbon monoxide neurotoxicity in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2013; 36 (1): 102-8.
53. Yata K., Matchett G.A., Tsubokawa T. et al. Granulocyte-colony stimulating factor inhibits apoptotic neuron loss after neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Brain Res.* 2007; 1145: 227-38.
54. Gibson C.L., Jones N.C., Prior M.L. et al. G-CSF suppresses edema formation and reduces interleukin-1 beta expression after cerebral ischemia in mice. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2005; 64 (9): 763-9.
55. Park E.J., Min Y.G., Kim G.W. et al. Pathophysiology of brain injuries in acute carbon monoxide poisoning: a novel hypothesis. *Med. Hypotheses.* 2014; 83: 186-9.
56. Hara S., Mukai T., Kurosaki K. et al. Modification of the striatal dopaminergic neuron system by carbon monoxide exposure in free-moving rats, as determined by in vivo brain microdialysis. *Arch. Toxicol.* 2002; 76 (10): 596-605.
57. Hauser D.N., Dukes A.A., Mortimer A.D. et al. Dopamine quinone modifies and decreases the abundance of the mitochondrial selenoprotein glutathione peroxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 65: 419-419.
58. Hess D., Borlongan C. Stem cells and neurological diseases. // *Cell Prolif.* 2008; 41: 94-114.
59. Jiang G., Gao J., Xu Y. et al. Structural and functional improvement of injured brain after severe acute carbon monoxide poisoning by stem cell-based therapy in rats. *Crit. Care Med.* 2009; 37: 1416-22.
60. Koroleva V.I., Korolev O.S., Mares V. et al. Hippocampal damage induced by carbon monoxide poisoning and spreading depression is alleviated by chronic treatment with brain derived polypeptides. *Brain Research.* 1999; 816: 618-27.

P.G. Tolkach¹, V.A. Basharin¹, S.Kh. Sarmanaev²

PROSPECTIVE METHODS FOR CORRECTION OF NEUROTOXIC IMPAIRMENTS CAUSED BY SEVERE CARBON MONOXIDE POISONING (Review)

¹S.M. Kirov Military Medical Academy", RF Ministry of Defense, 194044 St.-Petersburg, Russian Federation

²Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Federal Medical Biological Agency, 125371 Moscow, Russian Federation

The review sets forth perspective directions of correction of neurotoxic disorders in case of carbon monoxide damage. It was shown that carbon monoxide intoxication, in addition to the development of hemic hypoxia, leads to indirect lesions in the structures of the central nervous system that develop both in the early and delayed periods of poisoning. Those lesions can be caused by the development of oxidative stress, activation of programmed cell death, impact on the intercellular signaling system etc. There is evidence that oxygen monotherapy does not lead to a complete recovery of cognitive functions in a delayed period of severe carbon monoxide poisoning. It was found out that to correct central nervous system functions disorders in case of acute damage by carbon monoxide, it is necessary to use agents possessing neuroprotective mechanisms of action. The review reports data on the effectiveness of hydrogenated solution, methane solution, allopurinol, erythropoietin, granulocyte colony-stimulating factor, remifentanyl, mesenchymal stem cells, cerebrolysin for correction of the central nervous system disorders in this type of pathology.

Keywords: carbon monoxide, neurotoxicity, oxygen, neuroprotection, hydrogenated solution, allopurinol, erythropoietin, granulocyte colony-stimulating factor, mesenchymal stem cells, cerebrolysin.

Переработанный материал поступил в редакцию 20.03.2017 г.

УДК 546.8 : 615.099

ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ GLYPTOTENDIPES GLAUCUS MG. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ СВИНЦА

Н.А. Дурнова¹, Ю.В. Климова¹,
М.Ю. Воронин²

¹ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ
им. В.И. Разумовского Министерства
Здравоохранения Российской Федерации,
410012, г. Саратов, Российская Федерация
²ФГБОУ ВПО Саратовский национальный
исследовательский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, Российская Федерация

Представлены результаты анализа цитогенетического воздействия ионов свинца на политенные хромосомы (ПХ) *Glyptotendipes glaucus* Mg. Функциональное состояние политенных хромосом определяли посредством вычислений: индекса компактности хромосом (CR); коэффициента генетической активности ядрышкового организатора (NOR) и коэффициента генетической активности кольца Бальбиани (BRR). При увеличении концентрации раствора нитрата свинца индекс компактности возрастает, т. е. компактность хромосом уменьшается: медианы значений CR (при измерении плеча E) в контроле составляют 6.05, для максимальной исследованной концентрации – 7.3. В результате воздействия ионов свинца происходит снижение активности генов ядрышкового организатора: медианы значений NOR снижаются от 2.3 в контроле до 2.0 для самых высоких использованных в эксперименте концентраций. Активность генов кольца Бальбиани с увеличением концентрации раствора нитрата свинца возрастает: медианы значений BRR в контроле составляют 1.45, для максимальной исследованной концентрации – 1.95. Геном *G. glaucus* реагирует на изменение концентрации ионов свинца в среде неоднозначно: происходит снижение коэффициента генетической активности ядрышкового организатора, тогда как генетическая активность кольца Бальбиани, наоборот, возрастает.

Ключевые слова: тяжелые металлы, политенные хромосомы, хирономиды, генетическая активность.

Ведение. В настоящее время, наряду с токсикантами органического происхождения, увеличивается ежегодное поступление в естественные биогеохимические циклы соединений тяжелых металлов (ТМ), в результате чего нарушается постоянство элементарного состава окружающей среды, что является дестабилизирующим фактором функционирования биологических систем. К широко распространенным и потенциально опасным токсикантам относятся соединения свинца [1].

Токсическое действие ТМ на организм гидробионтов в естественных условиях во многом

зависит от формы их существования в среде, поэтому актуально проведение экспериментальных исследований, моделирующих влияние различных концентраций ионов свинца на организм гидробионтов. Экспериментальные исследования токсикологических и генотоксических эффектов воздействия ТМ на организм гидробионтов делает их актуальными и перспективными в общей проблеме биологических аспектов охраны окружающей среды [2-5]. При этом важным аспектом является регистрация морфо-функциональных нарушений, происходящих на уровне организма и клетки, и выявление зависимости подобных процессов от

Дурнова Наталья Анатольевна (Durnova Natalya Anatolievna), доцент, доктор биологических наук, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники «ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 410012, г. Саратов, ndurnova@mail.ru

Климова Юлия Валерьевна (Klimova Julia Valerievna), аспирант кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники «ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 410012, г. Саратов, ulia.klimowa2015@yandex.ru

Воронин Максим Юрьевич (Voronin Maksim Yurievich), кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и экологии животных «ФГБОУ ВПО Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» Министерства образования и науки Российской Федерации, 410012, г. Саратов, voroninmj@yandex.ru

концентрации токсиканта в среде, уровня биоаккумуляции и экспозиции [6-8].

В основе ответной реакции любого организма на влияние извне лежит реакция клетки, прежде всего, её хромосомного аппарата – носителя наследственной, структурной, регуляторной информации. Уникальным объектом для исследования функциональной активности интерфазной хромосомы являются гигантские или политенные хромосомы слюнных желез личинок хирономид, выполняющие тканеспецифические функции, заключающиеся в продукции секреторного материала [9, 10]. Ранее в качестве тест-объекта по влиянию тяжелых металлов использовался *Chironomus plumosus* L., обитающий на дне водоема, поэтому при проведении хронического эксперимента возникала необходимость добавления грунта к анализируемому раствору ксенобиотика, что в целом существенно искажало эффект его действия. Личинки *Chironomus* доступны для массового сбора только в определенный, кратковременный период времени (с января по март) [11,12].

Выбор в качестве модельного объекта для оценки степени токсичности ионов свинца фитофильного вида хирономид – *Glyptotendipes glaucus* Mg. (триба *Chironomini*, подсемейство *Chironominae*, семейство *Chironomidae*), личинки которого большую часть года заселяет прибрежно-водную растительность и любые погруженные субстраты [13]. Личинки *G. glaucus* доступны для массового сбора практически круглогодично, к тому же при проведении даже хронического эксперимента нет необходимости добавления грунта в тестируемый раствор ксенобиотика, что делает результаты эксперимента более достоверными.

Цель настоящей работы – изучить влияние ионов свинца различной концентрации на морфофункциональные характеристики политенных хромосом *Glyptotendipes glaucus*.

Материалы и методы исследования. Собранных в природе личинок хирономид *G. glaucus* с целью акклимации выдерживали в течение суток в дехлорированной воде при комнатной температуре. Далее по 10 особей помещали в растворы нитрата свинца соответствующих концентраций 0.01, 0.02, 0.1, 0.5 мг/л и в контроль (дехлорированная вода). Эксперимент проводили без смены среды. Рабочие растворы готовили непосредственно перед началом исследований разведением стандартного 1М раствора нитрата свинца. Экспозиция – 12 часов. У каждой особи исследовалось по 10 клеток слюнных желез. По окончании времени эксперимента личинок высушивали в течение одной минуты на фильтровальной бумаге и фиксировали в смеси Кар-

нуа (этанол, уксусная кислота, в соотношении 3:1). Емкости с личинками и фиксирующим раствором хранили при пониженной температуре (+4°C). В качестве метода кариологического анализа применяли этил-орсеиновую методику [14], которая позволяет одновременно фиксировать и окрашивать хромосомы. Из клеток слюнных желез личинок хирономид готовили давленные препараты. Анализ и фотографирование хромосом проводилось с помощью микроскопа Primo Star Carl Zeiss с использованием фотокамеры Axio CamER c5s при увеличениях 16×40 и 16×100.

Функциональное состояние политенных хромосом определяли посредством вычислений: индекса компактности хромосом (CR) – отношения абсолютной длины плеча E хромосомы III к ширине её центромеры [15,16]; коэффициента генетической активности ядрышкового организатора (NOR) – отношения максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 хромосомы IV; коэффициента генетической активности кольца Бальбиани (BRR) – отношение максимального диаметра кольца Бальбиани к ширине интактного района 6 хромосомы IV [17]. В соответствии с результатами описательной статистики множественное сравнение выборок проводили с использованием непараметрического аналога дисперсионного анализа – критерию Краскела-Уоллиса и Медианному тесту.

Результаты и обсуждение. Непосредственная связь работы ядрышкового организатора – локуса, ответственного за синтез рРНК, с процессами биосинтеза белка, делает ядрышко основной мишенью стрессовых воздействий [18]. Воздействия ионов свинца в эксперименте вызвало снижение активности генов ядрышкового организатора у *G. glaucus*. Анализ распределения значений NOR (по критериям Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка и Лиллиефорса) показал статистически достоверное отклонение от нормального для исследованных выборок в растворах нитрата свинца. Для этих же выборок отмечены достоверные асимметрия и эксцесс. Медианы значений NOR с увеличением концентрации раствора нитрата свинца в целом снизились от 2.3 в контроле и концентрации 0.01 мг/л (рис.) до 2.0 – для самых высоких использованных в эксперименте концентраций (0.1 и 0.5 мг/л). Это определило статистически достоверные отличия между выборками из высоких концентраций нитрата свинца и самых низких концентраций в растворе, что предполагает снижение интенсивности общего метаболизма в клетках [7]. Активность биохимических механизмов снижается и клетке требуется меньше рРНК.

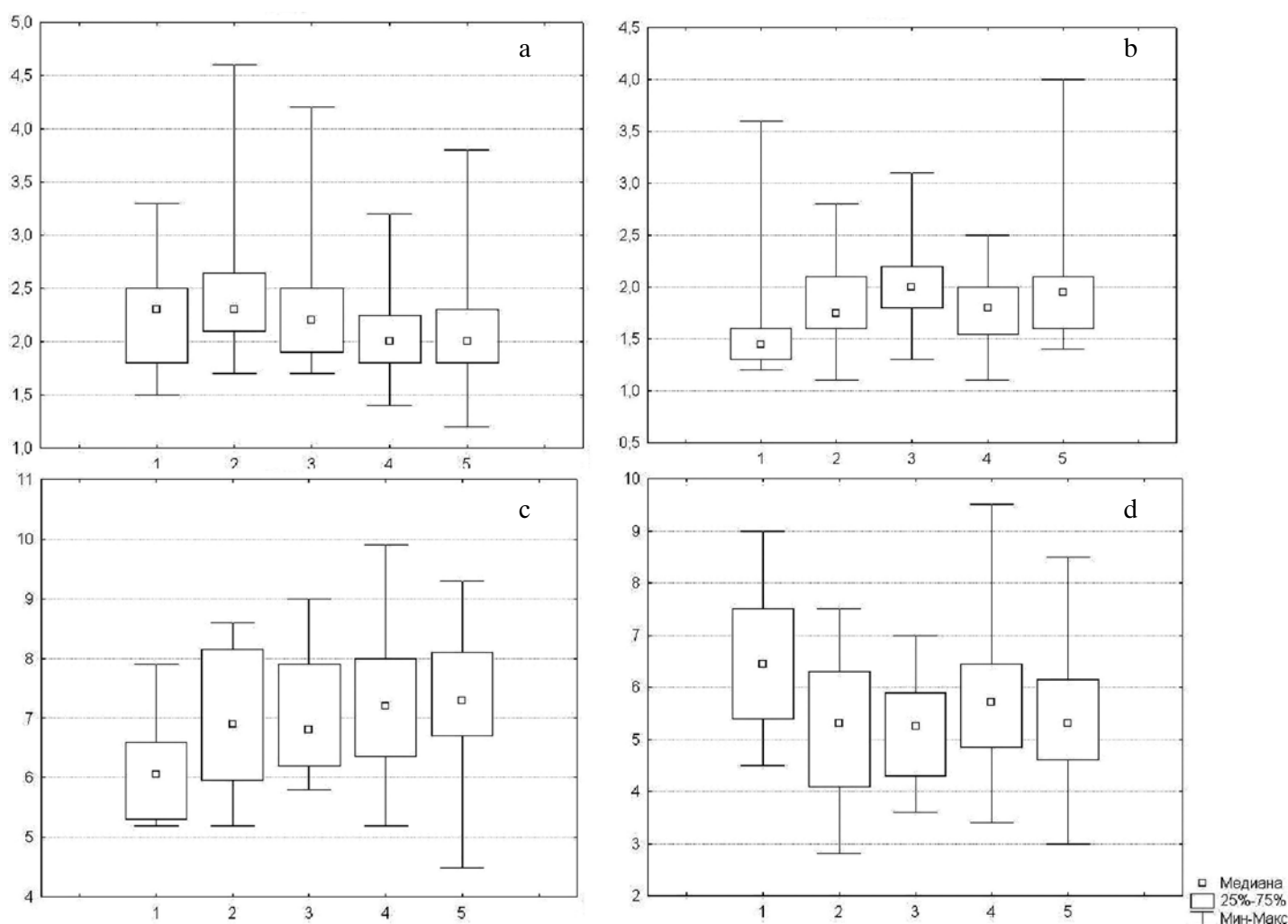


Рис. Распределение значений: «а» – отношений максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 хромосомы IV; «б» – отношений максимального диаметра кольца Бальбиани к ширине интактного района 6 хромосомы IV; «с» – абсолютной длины плеча E хромосомы III к ширине её центромеры; «д» – абсолютной длины плеча F хромосомы III к ширине её центромеры в контрольной выборке – «1», в растворе нитрата свинца 0.01 мг/л – «2», 0.02 мг/л – «3», 0.1 мг/л – «4», 0.5 мг/л – «5»

Кольца Бальбиани, в генах которых кодируется синтез тканеспецифических секреторных белков, также могут являться мишенью стрессовых воздействий [19]. Результаты проведенного эксперимента показали, что значения BRR распределены ненормально для всех исследованных выборок, кроме раствора в концентрации 0.1 мг/л. Для данных значений отмечены достоверные асимметрия и эксцесс. Медианы значений BRR с увеличением концентрации раствора нитрата свинца возрастают (см. рис.). В контроле значения составляют 1.45, для максимальной исследованной концентрации – 1.95. Для всех исследованных концентраций отмечены статистически значимые отличия от контроля. Это позволяет говорить о высокой чувствительности данно-

го показателя к воздействию раствора нитрата свинца.

Значения индекса компактности хромосом (CR) распределены ненормально в выборке раствора с концентрацией 0.02 мг/л. Достоверная асимметрия распределения по данному показателю отмечена в контрольной выборке и в выборках из концентраций раствора нитрата свинца 0.02, 0.1, 0.5 мг/л. Отмечен эксцесс для выборок из растворов с концентрациями: 0.01, 0.02 мг/л. Медианы значений CR с увеличением концентрации раствора нитрата свинца возрастают (см. рис.). Значения CR в контроле составляют 6.05, для максимальной исследованной концентрации – 7.3. Для всех исследованных концентраций отмечены статистически значимые отличия от контроля. Это также позволят

говорить о высокой чувствительности данного показателя к воздействию раствора нитрата свинца. При увеличении концентрации раствора нитрата свинца индекс компактности возрастает, т. е. компактность хромосом уменьшается, а функциональная активность увеличивается.

Ранее установлено, что у *Ch. plumosus* под действием тяжелых металлов (Cd, Pb, Hg) компактность ПХ, также как и в нашем эксперименте, уменьшается согласно динамике биоаккумуляции личинками хирономид каждого из металлов. Наименьшая компактность наблюдается при максимальном уровне содержания ионов металлов в тканях. В экспериментах установлено, что изменение индекса компактности связано с концентрацией ионов свинца в среде и хорошо согласуется с динамикой накопления этого токсиканта тканями личинок хирономид [7].

Отличия от личинок *Ch. plumosus*, у личинок *G. glaucus* в плече E имеются активные районы, которые не позволяют в полной мере оценить как изменяется индекс компактности хромосом. Поэтому мы дополнительно измеряли плечо F для достоверности результатов. Достоверных отличий между выборами при сравнении отношений абсолютной длины плеча F хромосомы III к ширине её центромеры не обнаружено.

Таким образом, геном *G. glaucus* реагирует на изменение концентрации ионов свинца в среде неоднозначно: происходит снижение коэффициента генетической активности ядрышкового организатора, а коэффициент генетической ак-

тивности кольца Бальбиани возрастает, т.е. тканеспецифическая активность клеток слюнных желез увеличивается. Вероятно, у *G. glaucus* механизм адаптации, протекающий на клеточном уровне, требует своего пластического обеспечения – наработки под контролем генетического аппарата клетки тканеспецифических белков.

Заключение. При воздействии ионов свинца в концентрациях, близких к фоновым, наблюдается неоднозначное изменение функциональной активности ПХ *G. glaucus*: происходит снижение коэффициента генетической активности ядрышкового организатора, генетическая активность кольца Бальбиани, наоборот, возрастает.

При увеличении концентрации раствора нитрата свинца индекс компактности возрастает, т. е. компактность хромосом уменьшается, что может свидетельствовать об увеличении функциональной активности хромосом в целом.

Полученные результаты свидетельствуют о специфической реакции ядерного генома *G. glaucus* на присутствие в среде ионов свинца, что может быть связано с особыми адаптационными механизмами у этого вида на хромосомном и клеточном уровнях. Повышение экспозиции в эксперименте позволит более детально рассматривать динамику ответной реакции генома на токсическое воздействие ионов свинца и, следовательно, возможные биологические последствия загрязнения водоемов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. - М.: 1996; 319.
2. Petrova N., Michailova P., Bovero S. Cytogenetic characteristics of *Chironomus nuditaris* Str. (Chironomidae, Diptera) and its relationship with species from the plumosus group. Late 20th century research on Chironomidae: an anthology from the 13th Intern. symposium on Chironomidae. Freiburg. 5–9 Sept. 1997; 201 – 208.
3. Michailova P., Belcheva R. Mutat. Res. Environ. Mutagenes and Related Subj. 1989; V. 2- № - P.: 308 – 3
4. Белоногова Ю. В. Экологические последствия влияния тяжелых металлов на гидробионтов Автореф. дис. ... канд. биолог. наук. Экология, 1999; 126.
5. Michailova P., Petrova N., Sella G. Polyetene chromosomes of Chironomidae (Diptera) as a bioassay of tracemetal- induced genome instability 2012; Fauna norvegica (31) 227 – 234.
6. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. - Л.: 1972; 1
7. Ершов Е.А., Плетнева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М.: 1989; 2
8. Эмсли Дж. Элементы: Пер. с англ. - М.:1993; 2
9. Киннадзе И.И. Функциональная организация хромосом. - Л.: 1972; 211.
10. Киннадзе И.И. Молекулярно-цитологическая организация колец Бальбиани и генов, локализованных в них. Организация и экспрессия генов тканеспецифической функции у Diptera. - Новосибирск: Наука. 1985; 23–
11. Белянина С. И., Кузьмина К. А., Сигарева Л. Е. Гигантские хромосомы хирономид как тест - объекта для оценки токсических эффектов пестицидов на гидробионтов. Харьков. 1979; 103.
12. Федорова И.А., Полуконова Н.В. Оптимизация методов анализа токсикологических и цитогенетических эффектов лекарственных препаратов на *Chironomus* (Diptera) in vivo в остром эксперименте. Материалы II Международной научно - практической конференции «экология биосистем: проблемы изучения, идентификации и прогнозирования». 25-30 августа 20Астрахань. 2009; 67-74.
13. Калугина Н.С. Систематика и биология фитофильных хирономид Учинского водохранилища (Diptera, Chironomidae). Автореф. канд. биол. наук. М.: 1960;
14. Демин С. Ю., Шобанов Н. А. Кариотип комара *Chironomus entis* из группы plumosus в европейской части СССР. Цитология: 1990; 1046- 1054.
15. Ильинская Н.Б. Характеристика политенных хромосом различной степени компактности у личинок природной популяции хирономуса. Цитология. 1984; Т. № 543-551.
16. Ильинская Н. Б. Согласованность изменений компактности политенных хромосом и их плеч в клетках слюнных желез при акклимации личинок мотыля к различным температурам. Цитология. 1990; Т. № 993- 1001.
17. Федорова И. А., Полуконова Н. В. Цитогенетические эффекты холинотропных препаратов при комбинированном действии на личинок *Chironomus plumosus* (Diptera) in vivo. Цитология, 2009; Том 51, № 849 – 855.
18. Зацепина О. В. Современные представления о свойствах и функциях ядрышка: ядрышко как мишень стрессовых воздействий на клетки. Цитология. 2007; № 53 (9): 748-749.
19. Киннадзе И. И., Истомина А. Г., Гундерина Л. И. и др. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии: Триба Chironomini. Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1996; 166.

REFERENCES:

1. Maystrenko VN, Khamitov R. Z., Budnikov G. K., / Ecological and analytical monitoring of super. - M.: 1996; 319.
2. Petrova N., Michailova P., Bovero S. Cytogenetic characteristics of *Chironomus nuditaris* Str. (Chironomidae, Diptera) and its relationship with species from the plumosus group. Late 20th century research on Chironomidae: an anthology from the 13th Intern. symposium on Chironomidae. Freiburg. 5–9 Sept. 1997; 201–208.
3. Michailova P., Belcheva R. Mutat. Res. Environ. Mutagenes and Related Subj. 1989; V. 2 № 308-312.
4. Belonogova YV. Environmental consequences of influence of heavy metals on aquatic Abstract. Ecology, 1999; 126.

5. Michailova P., Petrova N., Sella G. Polytene chromosomes of Chironomidae (Diptera) as a bioassay of tracemetal-induced genome instability 2012; Fauna norvegica (31) 227 – 234.
6. Levina EN. General toxicology of metals. – L.:1972; 140.
7. Ershov, EA, Pletneva T. V., Mechanisms of toxic effect of inorganic compounds. M.: 1989; – 272.
8. Emslie J. Elements: Trans. from English. – M.: 1993; 256.
9. Kiknadze II, The functional organization of chromosomes. – A.: 1972; – 211.
10. Kiknadze II, Molecular and cytological organization and rings Balbiani genes localized in them // Organization of tissue-specific gene expression and function in Diptera. – Novosibirsk: Nauka. 1985; 23-97.
11. Belyanina SI, Kuzmin KA, Sigareva LE. Giant chromosomes chironomids as a test – object to evaluate the toxic effects of pesticides on aquatic organisms. Kharkiv, 1979; 103.
12. Fedorova IA, Polukonova NV. Optimization of methods of analysis of cytogenetic and toxicological effects of drugs on Chironomus (Diptera) in vivo in acute experiment // Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference " Ecology of biological systems : problems of studying , identifying and forecasting ." Astrakhan, 25-30 August 2009; 67-74.
13. Kalugina, NS. Systematics and biology phytophilic chironomid Uchinskaya reservoir (Diptera, Chironomidae). Author. cand. biol. Sciences. – M.: 1960; 14.
14. Demin, S. Yu., Lobanov N. A. Karyotype of Chironomus entis mosquito from the group plumosus in the European part of the USSR. Cytology: 1990; 1046 – 1054.
15. Ilinskaya NB. Characteristics of polytene chromosomes of varying degrees of compactness in the larvae of the natural population chironomusa. Cytology. 1984; V. № 543-551.
16. Ilinskaya NB. Consistency changes compactness polytene chromosomes and their shoulders in the cells of the salivary glands in acclimation moth larvae to different temperatures . Cytology. 1990; T. № 993- 1001
17. Fedorova IA, Polukonova NV. Cytogenetic effects cholinetropic drugs when combined action on the larvae of Chironomus plumosus (Diptera) in vivo. Cytology, 2009; Volume 51, № 849 – 855.
18. Zatepina OV. Modern ideas about the properties and functions nucleolus: the nucleolus as a target of stress on cells. Cytology. 2007; № 53 (9): 748-749.
19. Kiknadze II , Istomin AG , Gunderina LI et al karyofonds chironomid Cryolithozone Yakutia : . Chironomini Tribe . Novosibirsk: Nauka . RAS Siberian Publishing House, 1996; 166.

N.A. Durnova¹, Y.V. Klimova¹, M.Y. Voronin²

POLYTENE CHROMOSOMES OF *GLYPTOTENDIPES GLAUCUS* MG. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) AS TEST – OBJEKT TO STUDY TOXIC EFFECTS OF LEAD IONS

¹ V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, 410012 Saratov, Russian Federation

² N. G. Chernyshevsky National Research Saratov State University, 410012, Saratov, Russian Federation

Results of the analysis of cytogenetic effects of lead ions on polytene chromosomes of *Glyptotendipes glaucus* Mg are reported. The functional state of polytene chromosomes was determined via computation: chromosome compactness index (CR); coefficient of genetic activity of the nucleolar organizer (NOR) and coefficient of genetic activity of the Balbiani ring (BR). With increase of the lead nitrate solution concentration, the compactness index increases, that is, the chromosomes compactness decreases: medians of CR values (when measuring shoulder E) in the control are 6.05, for the maximum concentration studied they are 7.3. As a result of the of lead ions action, the activity of the nucleolar organizer genes decreases: medians of the NOR values decrease from 2.3 in the control to 2.0 for the highest concentrations used in the experiment. The activity of the Balbiani ring genes increases with the growing concentration of the lead nitrate solution: medians of the BR values in the control are 1.45, for the maximum studied concentration they are 1.95. The *G. glaucus* genome responds ambiguously to the change in the lead ions concentration in the medium: the coefficient of the nucleolar organizer's genetic activity decreases, while the genetic activity of the Balbiani ring, on the contrary, increases.

Keywords: heavy metals, polytene chromosomes, chironomidae, genetic activity.

Материал поступил в редакцию 30.06.2016 г.



УДК 615.099

АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА С СУКЦИНАТОМ НАТРИЯ

Э.Ф. Репина¹, А.Р. Гимадиев²,
В.А. Мышкин¹, А.Б. Бакиров¹,
Г.В. Тимашева¹, Н.Ю. Хуснутдинова¹,
Д.А. Смолянкин¹

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Роспотребнадзора, 450106, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская Федерация
²ФГБУН «Уфимский Институт химии РАН», 450054, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская Федерация

На моделях острой гемической и острой гистотоксической гипоксий исследована активность нового комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия. Установлено, что изучаемое соединение по активности сопоставимо или превосходит референтные препараты – реамберин, сукцинат натрия и оксиметилурацил и обладает низкой токсичностью при внутрижелудочном и внутрибрюшинном способах введения мышам. По результатам проведенных исследований получен Патент РФ.

Ключевые слова: гипоксия, комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия, антигипоксическая активность, токсичность.

Введение. Проживание людей в зонах риска природных и техногенных катастроф, в экологических неблагоприятных регионах требует разработки адекватных и безопасных средств фармакологической поддержки организма, поиска новых подходов к фармакопрофилактике поражений органов [1,2].

Одним из возможных путей защиты организма при гипоксии является применение производных 6-метилурацила в комбинации с янтарной кислотой, или комплексных соединений производных урацила и янтарной кислоты [3].

В отделе токсикологии ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» совместно с Институтом химии РАН с 2006 года – в рамках реализации отраслевых научно-исследовательских программ Роспотребнадзора, проводятся исследования по поиску и изучению

антигипоксической активности новых комплексных соединений производных пиримидина и полифункциональных карбоновых кислот. Получены новые биологически активные вещества, обладающие антигипоксической, антиоксидантной, гепатотропной и гепатопротекторной и другими вилами активности.

С целью получения более активного соединения был синтезирован комплекс 5-гидрокси-6-метилурацил с сукцинатом натрия.

Наиболее близкими аналогами изучаемого комплекса являются сукцинат натрия и 5-гидрокси-6-метилурацил. Установлено, что иммуномодулятор 5-гидрокси-6-метилурацил (оксиметилурацил) обладает также антигипоксической активностью, что было показано на моделях острой гистотоксической гипоксии (ОГТГ) и острой гипоксии с гиперкапнией (ОГСК), но

Репина Эльвира Фаридовна (Repina Elvira Faridovna), кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, 450106, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Гимадиева Альфия Раисовна (Gimadieva Alfiya Raisovna), кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакофорных циклических систем ФГБУН «Уфимский Институт химии РАН», 450054, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Мышкин Владимир Александрович (Myshkin Vladimir Alexandrovich), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Бакиров Ахат Бариевич (Bakirov Ahat Barievich), доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Тимашева Гульнара Вильевна (Timasheva Gulnara Vilevna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Хуснутдинова Надежда Юрьевна (Khusnutdinova Nadegda Urievna), научный сотрудник отдела токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

Смолянкин Денис Анатольевич (Smolyankin Denis Anatolievich), младший научный сотрудник отдела токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Роспотребнадзора, г. Уфа, Республика Башкортостан, e.f.repina@bk.ru

малоактивен на модели острой гемической гипоксии (ОГеГ) [4].

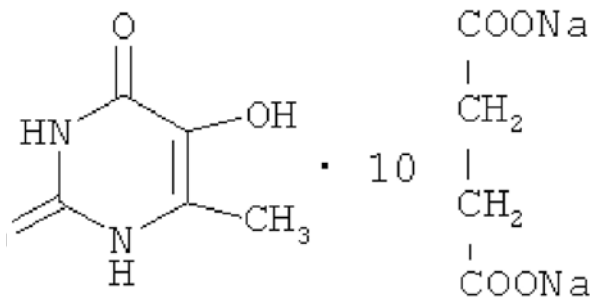


Рис. 1. Формула комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия.

С другой стороны, соли янтарной кислоты (сукциаты) значительно уступают по активности аминотиолам [5].

Материалы и методы исследования. Комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия синтезировано в ФГБУН «Уфимский Институт химии РАН». Соединение получено путем смешивания 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия в соотношении 1:10 моль в дистиллированной воде с последующим перемешиванием реакционной смеси до растворения 5-гидрокси-6-метилурацила, удалением растворителя и выделением продукта. Выход целевого продукта составил 98%.

Токсичность соединения при однократном введении определена на мышах обоего пола при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении в интервале доз от 2500 до 10000 мг/кг.

Антигипоксическая активность соединения исследована на моделях острой гемической гипоксии (ОГеГ) и острой гистотоксической гипоксии (ОГтГ) [6]. Модель ОГеГ создавали путем подкожного введения мышам 4% водного раствора нитрита натрия в дозе 400 мг/кг. Соединение

вводили опытным мышам повторно трехкратно с интервалом 30 минут в брюшную полость в виде 0,2% водно-твинового раствора в дозе 50 мг/кг, последнее введение проводили за 20-30 минут до отравления нитритом натрия. Контрольным животным вводили 0,2% водно-твиновый раствор в аналогичном объеме. Модель ОГтГ создавали путем подкожного введения мышам нитропруссида натрия в дозе 20 мг/кг. Соединение вводили опытным животным аналогично вышеприведенной схеме. Контрольным мышам вводили внутрибрюшинно адекватное количество 0,2% водно-твинового раствора. В качестве референтных препаратов для оценки антигипоксической активности на моделях ОГеГ и ОГтГ использовали 5-гидрокси-6-метилурацил, сукцинат натрия, реамберин по вышеприведенной схеме [6]. Антигипоксическую активность исследуемых препаратов оценивали по продолжительности жизни опытных и контрольных мышей. Оценка достоверности различий между группами проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При внутрижелудочном введении комплексное соединение в интервале доз от 5000 до 10000 мг/кг не вызывало видимых признаков интоксикации и гибели животных в течение 14 суток наблюдения. В соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 соединение при введении в желудок отнесено к малоопасным веществам [7].

При внутрибрюшинном введении мышам изучаемого соединения, доза 2500 ± 230 мг/кг массы тела вызывала гибель 50% животных, по существующей классификации его можно отнести к практически нетоксичным [8]. У референтных препаратов (5-гидрокси-6-метилурацила и сукцината натрия) доза, вызывающая 50% гибель мышей, находится на уровне 1950 и 3900 мг/кг соответственно [8,9].

Результаты изучения антигипоксической активности исследуемых препаратов представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Продолжительность жизни мышей на модели острой гемической гипоксии

Препараты	Доза, мг/кг	Продолжительность жизни животных	
		В минутах	В процентах
Контроль		16,14±1,35	100,0
Изучаемое соединение	50,0	27,62±1,58*	171,1
5-гидрокси-6-метилурацил	50,0	13,40±1,20	83,0
Сукцинат натрия	50,0	17,66±1,68	109,4
Реамберин	50,0	17,25±1,69	106,8

Примечание: * – различие достоверно ($P < 0,05$) по сравнению с контролем

Продолжительность жизни мышей на модели острой гистотоксической гипоксии

Препараты	Доза, мг/кг	Продолжительность жизни животных	
		В минутах	В процентах
Контроль		25,00±2,07	100,0
Исзуемое соединение	50,0	35,16±3,57*	140,6
5-гидрокси-6-метилурацил	50,0	38,10±3,00*	152,4
Сукцинат натрия	50,0	24,40±2,47	97,6
Реамберин	50,0	33,50±1,20*	134,0
Реамберин	150,0	29.42±1,75	117,7

Примечание: * – различие достоверно ($P < 0,05$) по сравнению с контролем

Исзуемое комплексное соединение достоверно увеличивает продолжительность жизни мышей в дозе 50 мг/кг массы тела на моделях ОГЕГ и ОГТГ в 1,7 и в 1,4 раза соответственно.

Референтный препарат 5-гидрокси-6-метилурацил не был активен на модели ОГЕГ, а у сукцината натрия и реамберина антигипоксические свойства были слабо выражены. На модели ОГТГ активность изучаемого соединения и референтных препаратов – 5-гидрокси-6-метилурацила и реамберина (в дозах 50 мг/кг) сопоставима по абсолютным значениям показателей. Сукцинат

натрия на данной модели не проявил антигипоксических свойств.

Заключение. Новое комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия в отличие от референтных препаратов (5-гидрокси-6-метилурацил, сукцинат натрия, реамберин) обладает антигипоксической активностью на моделях острой гемической и острой гистотоксической гипоксий и низкой токсичностью при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введениях. По результатам проведенных исследований получен Патент РФ [10].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зобов В.В., Назаров Н.Г., Выштакалюк А.Б., Галяметдинова И.В., Семенов В.Э., Резник В.С. Эффективность влияния новых производных пиримидина на физическую работоспособность крыс в условиях выполнения теста «плавание до отказа». *Экология человека*. 2015; 01: 28-35.
2. Сосин Д.В., Евсеев А.В., Правдивцев В.А., Парфенов Э.А. Влияние вещества pQ1983 на энергетический обмен и потребление кислорода в условиях острой экзогенной гипоксии. *Экология человека*. 2015; 01: 21-27.
3. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина

- Э.Ф., Гимадиева А.Р. Применение производных 6-метилурацила для повышения устойчивости организма в экстремальных условиях. В кн.: Современная эколого-антропологическая методология изучения и решения проблем здоровья населения: Мат-лы м/н межотрасл. конф., посв. 25-летию чернобыльской катастрофы. Казань; 2011; 192-196.
4. Мышкин В.А. Коррекция перекисного окисления липидов при экспериментальных интоксикациях различными химическими веществами. Уфа-Челябинск; 2010.
5. Лукк М.В., Зарубина И.В.,

- Шабанов П.Д. Роль экзогенного сукцината и сукцинат-радикала в антигипоксических эффектах аминотиолов. В кн.: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции «Современная фармацевтическая наука и практика, традиции, инновации, приоритеты». Самара; 2011; 220-222.
6. Воронина Т.А. Экспериментальная характеристика противогипоксических свойств ноотропных препаратов. М.: Медицина; 1989; 125-132.
7. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие

- требования безопасности. М.; 1976.
8. Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсиметрии промышленных ядов при однократном воздействии. Справочник. М.: Медицина; 1977.
9. Филов В.А., ред. Вредные вещества в окружающей среде. Часть II. Кислородсодержащие органические соединения. СПб.: НПО «Профессионал»; 2004; 35.
10. Мышкин и др. Комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с сукцинатом натрия и способ его получения. Патент РФ, № 2475482; 2013.

REFERENCES:

1. Zobov V.V., Nazarov N.G., Vyshhtakalyuk A.B., Galyametdinova I.V., Semenov V.E., Reznik V.S. The effect of new pyrimidine derivatives on physical exertion of rats under the conditions of the "swimming to the full" test. *Ekologiya cheloveka*. 2015; 01: 28-35 (in Russian).
2. Sosin D.V., Evseev A.V., Pravdivtsev V.A., Parfenov E.A. The effects of the pQ1983 substance on energy metabolism and oxygen consumption under the conditions of acute exogenous hypoxia. *Ekologiya cheloveka*. 2015; 01: 21-27 (in Russian).
3. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina

- E.F., Gimadiev A.R. The use of 6-methyluracil derivatives to increase the body resistance in extreme conditions. In: Modern ecological and anthropological methodology of studying and solving health problems of the population: Mat-ly m/n of all. Conf., posv. The 25th anniversary of the Chernobyl disaster. Kazan'; 2011; 192-196 (in Russian).
4. Myshkin V.A. Correction of lipid peroxidation in experimental chemically-induced intoxications. Ufa-Chelyabinsk; 2010 (in Russian).
5. Lukk M.V., Zarubina I.V., Shabanov P.D. The role of exogenous succinate

- and succinate-radical in the antihypoxic effects of aminothiols. In: The proceedings of the All-Russian scientific and practical conference "Modern pharmaceutical science and practice "traditions, innovations, priorities". Samara; 2011; 220-2 (in Russian).
6. Voronina T.A. Experimental characteristics of the antihypoxic properties of nootropic drugs. In: Pharmacological correction of hypoxic states. Moscow; 1989; 125-1 (in Russian).
7. State Standard 12.1.007-Hazardous substances. Classification and General Safety Requirements. Moscow; 19 (in

- Russian).
8. Izmerov N.F., Sanotskiy I.V., Sidorov K.K. The toxicometric parameters of industrial poisons in a single exposure. Reference book. Moscow: Meditsina; 1977 (in Russian).
9. Filov V.A., red. Hazardous substances in the environment. Part II. Oxygen-containing organic compounds. SPb.: NPO «Professional»; 2004; 35 (in Russian).
10. Myshkin et al. Complex compound 5-hydroxy-6-methyluracil with sodium succinate and methods of its production. Patent RF, № 2475482; 2013 (in Russian).

*E.F. Repina¹, A.R. Gimadiev², V.A. Myshkin¹, A.B. Bakirov¹, G.V. Timasheva¹, N.Y. Khusnutdinova¹,
D.A. Smolyankin¹*

ANTI-HYPOXIC ACTIVITY OF THE NEW COMPLEX COMPOUND OF OXYMETHYLURACIL WITH SODIUM SUCCINATE

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

²Ufa Institute of Chemistry, Russian Academy of Sciences, 450054, Ufa, Russian Federation

On the models of acute hemic and acute histotoxic hypoxia, the activity of a new complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with sodium succinate was studied. It was found out that the compound under investigation in respects to its activity is comparable or superior to reference preparations-reamberin, sodium succinate and oxy-methyluracil, and has low toxicity at intragastric and intraperitoneal administration to mice. Based on the results of the studies, the patent of the Russian Federation was awarded.

Keywords: *hypoxia, complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with sodium succinate, anti-hypoxic activity, toxicity.*

Переработанный материал поступил в редакцию 15.09.2016 г.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 57.017:597:571.27

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У ЛЕЩА АВРАМИС ВРАМА ОЗЕРА НЕРО И РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

*Н.И. Силкина,
В.Р. Микряков*

ФГБУН Институт биологии
внутренних вод им.
И.Д. Папанина РАН,
152742, Ярославская
обл., Некоузский р-он.,
п. Борок, Российская
Федерация

Представлены результаты сравнительного анализа некоторых иммуно-биохимических показателей сыворотки крови леща, обитающего в озере Неро и Рыбинском водохранилище. Исследованы антимикробные свойства, доля иммунодефицитных особей, уровень общих липидов и их фракционный состав, содержание малонового диальдегида и антиокислительная активность. Рыбы из экологически неблагополучных районов отличались от особей из относительно чистой акватории низким иммунным статусом, изменением липидного обмена и усилением свободнорадикального окисления.

Ключевые слова: *оз. Неро, Рыбинское водохранилище, лещ, иммунитет, липиды, окислительные процессы.*

Силкина Нина Иосифовна (Silkina Nina Iosifovna), к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологии ФГБУН Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-он., п. Борок, sni@ibiw.yaroslavl.ru

Микряков Вениамин Романович (Mikryakov Veniamin Romanovich), профессор, д.б.н., гл.н.с. лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-он., п. Борок, mvr@ibiw.yaroslavl.ru

Введение. В Ярославской области расположены 2 больших водоема – озеро Неро и Рыбинское водохранилище. Они различаются площадью водного зеркала, гидрохимическим режимом, био-разнообразием, составом ихтиофауны, спектром кормовой базы для рыб, степенью загрязнения вод и др.

Оз. Неро – самое крупное в Ярославской области. Средняя глубина озера составляет 1.6 м, площадь зеркала – 57.8 км², объем водной массы – 90·10⁶ м³. Северная часть подвергается сильному антропогенному загрязнению бытовыми и промышленными стоками г. Ростова, п. Поречье-Рыбного и за счет промышленной добычи сапропеля [1].

Рыбинское водохранилище – одно из крупнейших водоемов озерного типа с площадью зеркала 4550 км², (полный объем - 25,4 км³, полезный объем - 16,7 куб. км). Постоянно подвергается загрязнению сточными водами промышленных предприятий г. Череповца (АО «Северсталь», «Азот» и др.). В состав сточных вод входят разные токсичные для гидробионтов соединения: полиароматические углеводороды, полихлорированные бифенилы, сложные эфиры, кислоты, соли тяжелых металлов, соединения азота, фенолы и др. [2-4].

Рыбы, обитающие в загрязненной зоне, отличаются от таковых из чистых акваторий низкими темпами роста и выживания, высокими величинами зараженности паразитами и естественной смертности [5,6]. Все это свидетельствует о глубоких нарушениях, происходящих в функционировании иммунологических и биохимических механизмов гомеостаза, обеспечивающих оптимальный рост, развитие и индивидуальную целостность организма в онтогенезе, а также адаптацию рыб к неблагоприятным факторам среды [4,7-9].

Известно, что в организме рыб под влиянием токсических факторов происходит повреждение структуры и функции клеточных и гуморальных факторов иммунитета и дестабилизация биохимического гомеостаза за счет активации процессов окислительного стресса [9-13]. Согласно существующим представлениям, окислительный стресс, индуцируемый ксенобиотиками, – одна из основных причин преждевременного старения, истощения организма и гибели рыб [9,10,14]. Сведений о характере влияния многокомпонентного антропогенного загрязнения на состояние иммунной и прооксидантно-антиоксидантной системы у различных пресноводных рыб, обитающих в экосистемах, испытывающих интенсивный антропогенный пресс, в доступной литературе немного. Между тем такие данные необходимы при мониторинговых исследованиях, а также для анализа последствий поврежда-

ющего действия антропогенного загрязнения на механизмы иммунологической и биохимической адаптации рыб.

Цель работы – сравнительная характеристика показателей неспецифического гуморального иммунитета и липидного обмена леща оз. Неро и Рыбинского водохранилища.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования послужили половозрелые самки леща *Abramis brama* в возрасте 7+ – 8+. Рыб отлавливали в сентябре 1999 г. в акватории оз. Неро и на двух участках Рыбинского водохранилища (Волжский плес – условно чистый участок и на станции д. Торово – загрязненная зона недалеко от г. Череповца).

В сыворотке крови определяли бактериостатическую активность (БАСК), долю иммунодефицитных особей (ИМД), уровень общих липидов (ОЛ), интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояние системы антиоксидантной защиты (АЗ).

БАСК выявляли нефелометрическим методом в модификации В.Р. Микрякова [15]. В качестве тест-микробов использовали суточную культуру *Aeromonas hydrophila*. В зависимости от уровня БАСК отбирали иммунодефицитных особей (ИМД), сыворотка крови которых не угнетала развитие тест-микробов. Содержание общих липидов (ОЛ) устанавливали стандартным гравиметрическим способом [16]. Качественный состав общих липидов выявляли общепринятыми методами восходящей тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» [17]. Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию ТБК-реактивных продуктов перекисления липидов (малонового диальдегида - МДА) [18]. Анализ состояния АЗ оценивали по уровню общей антиоксидантной активности по кинетике окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха в присутствии тканевых экстрактов (константа окисления субстрата - КОС) [19]. Данный параметр характеризует содержание антиоксидантных структур в исследуемой ткани. Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (приложение Statistica 6.0) с использованием t-теста, $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показал, что лещи, отловленные в оз. Неро и на станции Торово, где высокий уровень антропогенной нагрузки, по исследуемым показателям достоверно отличалась от рыб из Волжского плеса (табл.).

У рыб, отловленных в оз. Неро и на станции Торово, по сравнению с таковыми Волжского плеса, установлены низкие показатели БАСК, отражающие функциональное состояние гуморальных факторов естественного иммунитета: системы

Иммуно-биохимические показатели

Показатели	Рыбинское водохранилище		оз. Неро
	Волжский плес	ст. Торово	
Число рыб	22	16	25
Бактериостатическая активность сыворотки крови, %	18.27±1.9	7.35±1.5*	11.33±1.3*
иммунодефицитные особи, %	10	57*	25
Общие липиды, мг%	1150±70	1420±55*	1355±30*
Фракции липидов, % суммы:			
Фосфолипиды			
Холестерин	15.28±0.3	19.21±0.3*	18.62±0.4*
Неэстерифицированные жирные кислоты	10.24±0.2	13.33±0.2*	13.12±0.2*
Триацилглицерины	25.94±0.4	22.18±0.4*	23.81±0.4*
Эфиры стеринов	17.24±0.3	17.39±0.4	16.43±0.4
Углеводороды	6.03±0.2	5.26±0.2	4.85±0.1
Малоновый диальдегид, нмоль/л	3.22±0.41	3.98±0.33*	4.34±0.27*
Константа окисления субстрата, л/мл х мин	1.02±0.14	1.67±0.22*	1.65±0.31*

Примечание: * - достоверно относительно ст. Волжский плес при $p \leq 0,05$.

комплемента, лизоцима, *b*-лизина, пропердина и др. [15] и высокая доля ИМД особей. Достоверно низкий уровень БАСК и высокая доля ИМД особей, выявленные в выборке рыб из акваторий с высоким уровнем антропогенной нагрузки, свидетельствуют об угнетении функционального состояния иммунной системы.

Сходный с таковыми иммунологических показателей характер изменчивости нами установлен при изучении липидного обмена. Об этом свидетельствуют данные содержания ОЛ и отдельных фракций липидов в сыворотке крови. Выявленные различия носили разнонаправленный характер. Величины ОЛ, ХЛ, НЭЖК в сыворотке крови леща из оз. Неро и на станции Торово, достоверно превышали, а показатели ФЛ, ТАГ, У были ниже, чем у рыб из Волжского плеса.

Известно, что липиды в организме рыб участвуют не только в энергетическом, пластическом, генеративном обмене, реализации процессов роста, развития и адаптации, но и осуществляют целый ряд важнейших жизненных функций – гидростатической, теплоизолирующей, механической, иммунологической и др. В ряде исследований также показано, что показатели липидного обмена, в частности фракционный состав липидов тканей, являются надежным диагностическим тестом, отражающим последствия воздействия разнообразных неблагоприятных факторов на состоя-

ние здоровья рыб [20-23]. У рыб под воздействием различных стресс-факторов, в том числе токсикологических, нарушаются темпы и направление липидного обмена, изменяется соотношение между процессами липолиза и липогенеза, что в конечном итоге отражается на уровне содержания липидов и их качественном составе [21,23], а также на функциональном состоянии гуморальных факторов иммунитета [8,22,24].

Высокий уровень общих липидов в сыворотке крови свидетельствует о токсикантиндуцируемой интенсификации процессов липолиза. Повышение содержания липидов в тканях рыб ранее установлено у особей, обитающих в водоемах с повышенной антропогенной нагрузкой и в опытных условиях [8,25-27].

Повышенная доля НЭЖК (неэстерифицированных жирных кислот) и холестерина, принимающих участие в возникновении целого ряда патологических состояний, характеризует серьезные нарушения липидного обмена [21,28]. Уменьшением доли фосфолипидов, может быть связан с нарушением синтеза или поступления в организм рыб липотропных веществ (холин, метионин и др.). Известно, что при их дефиците значительно снижается синтез фосфолипидов из нейтрального жира (глицерина, жирных кислот). Недостаток запасных энергетических липидов – триацилглицеринов в сыворотке леща рыб свидетельствует

об общем истощении организма. Пониженный уровень триацилглицеринов может быть связан с более интенсивным использованием на энергетические нужды и для поддержания основного обмена веществ рыб. Фосфолипиды и холестерин – основные компоненты биологической мембраны, и их количественное изменение приводит к изменению свойств биомембран (проницаемости, степени устойчивости, микровязкости и др.). Повышение уровня холестерина отражает степень стрессированности организма. Полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с данными ряда авторов, показавшими, что в системе липидного метаболизма наблюдаются отклонения от нормы при воздействии стрессорных факторов биотической и абиотической природы [21,26-28].

Содержание МДА и скорость КОС в сыворотке крови леща, отловленного из оз. Неро и на станции Торово, свидетельствуют о высоком уровне липидоперекислительных процессов и резком снижении уровня антиоксидантных структур. Неконтролируемому нарастанию продуктов перекисидации липидов при воздействии стресс-факторов, как известно, препятствует многоуровневая система антиоксидантной защиты, состоящая из антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза) и низкомолекулярных антиоксидантных соединений (восстановленного глутатиона, β -токоферола, фенольной формы коэнзима Q_{10} , β -каротина, аскорбиновой кислоты и др.) [29,30]. Антиоксидантной системе принадлежит важная роль в нейтрализации молекулярных механизмов окислительного стрес-

са, инициирующих активацию перекисеобразовательных процессов, и реализации адаптивных компенсаторных реакций в организме, поскольку компоненты этой системы участвуют в регуляции метаболических функций. Интенсификация процессов перекисления липидов и пониженное содержание уровня антиоксидантов характерно для рыб, испытывающих состояние окислительно-восстановительного баланса в системе ПОЛ ↔ АЗ обнаружены в популяциях рыб, обитающих в загрязненных морских и пресноводных акваториях [9,11,24,25,31].

Закключение. Лещ, обитающий в акваториях с разным уровнем антропогенного загрязнения различался по функциональному состоянию гуморальных факторов иммунитета, долям ИМД особей, уровню общих липидов и их фракционному составу и состоянию окислительно-восстановительного баланса. На фоне низких показателей антимикробных свойств сыворотки крови у рыб, обитающих в оз. Неро и на станции Торово, отмечено характерное для токсикантиндуцируемого стресса повышенное содержание продуктов ПОЛ и снижение общей антиокислительной активности тканей. Поллютанты, поступающие в оз. Неро и в районе г. Череповца – причина нарушения иммунобиохимического статуса рыб, проявляющегося активацией окислительных процессов и снижением адаптационного потенциала рыб. Установленные модификации в функционировании иммунофизиологических механизмов гомеостаза рыб из антропогенно-загрязненной акватории следует рассматривать как типичную реакцию рыб на загрязняющие вещества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Состояние экосистемы озера Неро в начале XXI века. М.: Наука; 2008.
2. Проект «Волга» в г. Череповце. Нижний Новгород: Экологический центр «Дронт»; 1996.
3. Флеров Б.А. Экологическая обстановка на Рыбинском водохранилище в результате аварии на очистных сооружениях г. Череповца в 1987 г. В кн.: Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск; 1990: 3–11.
4. Экологические проблемы Верхней Волги. Ярославль: Изд-во ЯГТУ; 2001.
5. Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука; 2009.
6. Флеров Б.А., Микряков В.Р., Куперман Б.И. Инвазионные и инфекционные процессы у рыб при токсическом воздействии. В кн.: Гельминты в пресноводных биоценозах. М.: Наука; 1982: 58–67.
7. Володин В.М. Состояние воспроизводительной системы и плодовитость рыб в Северо-Шекснинском плесе Рыбинского водохранилища. В кн.: Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск; 1990: 101–122.
8. Микряков В.Р., Андреева А.М., Лапирова Т.Б., Силкина Н.И. Реакция иммунной системы рыб Шекснинского плеса после аварии на промышленных предприятиях г. Череповца. В кн.: Влияние стоков Череповецкого промышленного узла на экологическое состояние Рыбинского водохранилища. Рыбинск; 1990: 144–155.
9. Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука; 2001.
10. Грубинко В.В., Леус Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор). Гидробиол. журн. 2001; 37 (1): 64–78.
11. Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Залевская И.Н., Жерко Н.В. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря. Вод. ресурсы. 2005; 32 (2): 238–246.
12. Rudneva I.I., Kuzminova N.S. Effect of chronic pollution on hepatic antioxidant system of Black Sea fish species. Int. J. Sci. Nature. 2011; 2 (2): 279–286.
13. Tkachenko H., Kurrhaluk N., Grudniewska J. Oxidative stress biomarkers in different of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Disinfectant-CIP formulated with peracetic acid and hydrogen peroxide. Arch. Pol. Fish. 2014; 22: 207–212.
14. Скулачев В.П. Новые сведения о биохимическом механизме запрограммированного старения организма и антиоксидантной защите митохондрий. Биохимия. 2009; 74 (12): 1718–1721.
15. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН; 1991.
16. Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957; 2(3): 497–509.
17. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Наука; 1972.
18. Андреева Л.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лаб. дело. 1988; 11: 4143.
19. Семенов В.Л., Ярош А.М. Метод определения антиокислительной активности биологического материала. Укр. биохим. журн. 1985; 57(3): 50–52.
20. Лалин В.И., Шатуновский М.И. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб. Усп. соврем. биол. 1981; 1: 380–394.
21. Сидоров В.С. Экологическая биохимия. Липиды. Л.: Наука; 1983.
22. Силкина Н.И. Липидный состав сыворотки крови иммунодефицитных и иммунореактивных лещей. Биология внутр. вод. 1987; 78: 48–51.
23. Смирнов Л.П., Богдан В.В. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях экотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. М.: Наука; 2007.
24. Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние антропогенного загрязнения на иммунологические и биохимические механизмы поддержания гомеостаза у рыб Черного моря. Биол. моря. 2011; 37 (2): 142–148.
25. Силкина Н.И., Микряков Д.В.,

Микряков В.Р. Влияние антропогенного загрязнения на окислительные процессы в печени рыб Рыбинского водохранилища. Экология. 2012; (5): 361–365.
 26. Dwyer K.S., Parrish C.C., Brown J.A. Lipid composition of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) in relation to dietary lipid intake. Marine Biology.

2003; 143: 659–667.
 27. Wille K., McLeam E., Goddard J.S., Byatt J.C. Dietari lipid level and growth hormone alter growth and body conformation of blue tilapia, *Oreochromis aureus*. Aquaculture. 2002; 209: 219–232.
 28. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Ткачев В.О. Некоторые принципы и ме-

ханизмы редокс-регуляции. Кислород и антиоксиданты. 2009; 1: 3–64.
 29. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА; 2008.
 30. Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. Comp.

Biochem. and Physiol. 1991; 100 (1–2): 173–176.
 31. Moseley R., Hilton J.R. Waddington, R.J., Harding, K.G., Stephens, P. Thomas D.W. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments. Wound Repair Regen. 2004; 12 (4): 419–429.

REFERENCES:

- The state of the ecosystem of lake Nero in the beginning of the XXI century. Moscow: Nauka; 20(in Russian)
- The Volga Project in the City of Cherepovets, Nizhni Novgorod: Ekol. Tsentr Dront; 19(in Russian)
- Flerov B.A. Ecological Situation in the Rybinsk Reservoir after the 1987 Accident at Water Treatment Facilities in the City of Cherepovets. In: Impact of Effluents from the Cherepovets Industrial Center on the Ecological State of Rybinsk Reservoir. Rybinsk; 1990: 3–(in Russian)
- Ecological Problems in the Upper Volga Region, Yaroslavl: YaGTU; 20(in Russian)
- Moiseenko T.I. Aquatic Ecotoxicology: Theoretical and Applied Aspects. Moscow: Nauka; 20(in Russian)
- Flerov B.A., Mikryakov V.R., Kuperman B.I. Invasion and Infection Processes in Fishes Exposed to Toxic Impacts, in Helminths in Freshwater Biocenoses. Moscow: Nauka; 1982: 58–(in Russian)
- Volodin V.M. The State of Reproductive System and Fecundity of Fishes from the Northern Sheksna Pool of the Rybinsk Reservoir. In: Impact of Effluents from the Cherepovets Industrial Center on the Ecological State of Rybinsk Reservoir. Rybinsk; 1990: 101–1
- Mikryakov V.R., Andreeva A.M., Lapirova T.B., Silkina N.I. Immune System Responses in Fishes from the Sheksna Pool after an Industrial Accident in the City of Cherepovets. In: Impact of Effluents from the Cherepovets Industrial Center on the Ecological State of Rybinsk Reservoir. Rybinsk; 1990: 144–1(in Russian)
- Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Zabolotkina E.A. et al. Responses of the Fish Immune System to Water Pollution with Toxic Agents and Acidification. Moscow: Nauka; 20(in Russian)
- Grubinko V.V., Leus Yu.V. Lipid Peroxidation and Antioxidant Defense in Fishes: A Review. *Gidrobiol. Zh.* 2001; 37 (1): 64–(in Russian)
- Rudneva I.I., Shevchenko N.F., Zalevskaya I.N., Zherko, N.V. Biomonitoring of coastal waters of the Black Sea, *Vod. Resursy.* 2005; 32 (2): 238–2(in Russian)
- Rudneva I.I., Kuzminova N.S. Effect of chronic pollution on hepatic antioxidant system of Black Sea fish species. *Int. J. Sci. Nature.* 2011; 2 (2): 279–286.
- Tkachenko H., Kurhaluk N., Grudniewska J. Oxidative stress biomarkers in different of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Disinfectant-CIP formulated with peracetic acid and hydrogen peroxide. *Arch. Pol. Fish.* 2014; 22: 207–212.
- Skulachev V.P. New Data on Biochemical Mechanism of Programmed Senescence of Organisms and Antioxidant Defense of Mitochondria. *Biochemistry (Moscow).* 2009; 74 (12): 1718–17(in Russian)
- Mikryakov V.R. Regularities of Formation of Acquired Immunity in Fishes. Rybinsk: IBIW RAN; 19(in Russian)
- Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*; 1957: 2(3): 497–509.
- Cates M. Techniques of Lipidology. Amsterdam: North_Holland Publishing Co.; 1972.
- Andreeva L.I., Kozhemyakin N.A., Kishkun A.A. Modification of methods for determining lipid peroxides in the thiobarbituric acid test. *Laboratory Practice.* 1988; (11): 41 - (in Russian)
- Semenov V.L., Yarosh A.M. Method for determination of antioxidant activity of biological material. *Ukr. biokhim. zhurn.* 1985; 57 (3): 50 - (in Russian)
- Lapin V.I., Shatunovskii M.I. Fish Lipids: Specific Features of Composition, Physiological and Ecological Significance. *Usp. Sovrem. Biol.* 1981; 1: 380–3(in Russian)
- Sidorov V.S. Ecological Biochemistry. Lipids. Leningrad: Nauka; 19(in Russian)
- Silkina N.I. Lipid Composition of Blood Serum in Immunodeficient and Immunoreactive Bream Individuals. *Biol. Vnutr. Vod.* 1987; 78: 48–(in Russian)
- Smirnov L.P., Bogdan V.V. Lipids in Physiological–Biochemical Adaptations of Ectothermal Organisms to Abiotic and Biotic Environmental Factors, Moscow: Nauka; 20(in Russian)
- Mikryakov V.R., Silkina N.I., Mikryakov D.V. Effect of Anthropogenic Pollution on the Immunological and Biochemical Mechanisms of Maintaining Homeostasis in Fish of the Black Sea. *Russian Journal of Marine Biology.* 2011; 37 (2): 151–157.
- Silkina N.I., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R. Effect of Anthropogenic Pollution on Oxidative Processes in the Liver of Fish from the Rybinsk Reservoir. *Russian Journal of Ecology.* 2012; 43 (6): 386–389.
- Dwyer K.S., Parrish C.C., Brown J.A. Lipid composition of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*) in relation to dietary lipid intake. *Marine Biology.* 2003; 143: 659–667.
- Wille K., McLeam E., Goddard J.S., Byatt J.C. Dietari lipid level and growth hormone alter growth and body conformation of blue tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture.* 2002; 209: 219–232.
- Zenkov N.K., Mеньшикова Е.Б., Ткачев В.О. Some of the principles and mechanisms of redox regulation. Oxygen and antioxidants 2009; 1: 3–(in Russian)
- Mеньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Oxidative Stress: Pathological Conditions and Diseases. Novosibirsk: ARTA; 20(in Russian)
- Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comp. Biochem. and Physiol.* 1991; 100 (1–2): 173–176.
- Moseley R., Hilton J.R. Waddington, R.J., Harding, K.G., Stephens, P. Thomas D.W. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen.* 2004; 12 (4): 419–429.

N.I. Silkina, V.R. Mikryakov

THE INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC POLLUTION ON SOME INDICATORS OF CONGENITAL IMMUNITY AND OXIDIZING PROCESSES IN BREAM *ABRAMIS BRAMA* INHABITING LAKE NERO AND THE RYBINSK RESERVOIR

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, 152742 Settlement Borok, Yaroslavl region, Russian Federation

The results of a comparative analysis of some blood serum immune-biochemical indices of bream that inhabits lake Nero and the Rybinsk Reservoir are reported. The following indices were investigated: anti-microbial properties: proportion of immune-deficient animals, common lipids level and their fractional composition, content of malondialdehyde and antioxidant activity. Unlike fishes from relatively clean waters, fishes from ecologically unfavorable areas show low immune status, alterations in lipid metabolism and increased free radical oxidation.

Keywords: Lake Nero, the Rybinsk reservoir, bream, immunity, lipids, oxidation processes.

Материал поступил в редакцию 25.10.2016 г.



НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 57.063 : 615.099

МИКРООРГАНИЗМ PSEUDOMONAS AUREOFACIENS ВКМ-2391Д

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрыбина¹, Л.И. Мялина¹,
Е.В. Буданова², Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
Г.Г. Чуб¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация
²ФГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет» им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, г. Москва, Российская Федерация

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д выделен из почвы вокруг ризосферы овса, не является генетически модифицированным штаммом. На основании проведенных исследований с учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны предложена ПДК_{р.з.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^3 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

Рекомендуемая для утверждения величина гигиенического норматива для *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д находится в соответствии с ранее утвержденными нормативами (ПДК_{р.з.} 5000 кл/м³ и ПДК_{а.в.} 500 кл/м³) для различных штаммов *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens (denitrificans)* В-99 и др.

Ключевые слова: микроорганизм, токсичность, опасность

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д выделен из почвы вокруг ризосферы овса, не является генетически модифицированным штаммом. *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д проявляет высокую антагонистическую активность в отношении широкого ряда фитопатогенных грибов, обладает устойчивостью к ряду антибиотиков.

Штамм является активным компонентом микробиологического фунгицида Псевдобактерин-3. Препарат предназначен для предпосевной обработки семян, для обработки сельскохозяйственных культур в период вегетации для защиты растений и посадочного материала от

бактериальных и грибковых заболеваний в сельскохозяйственном производстве и личных подсобных хозяйствах.

Культура представлена клетками палочковидными размером (0,6–0,8 x 1,7–2,2) мкм, подвижными, снабженными перитрихиями, грамтрицательными, спор не образуют.

Штамм хорошо растет на следующих средах: ЛВ (бакто-триптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, хлористый натрий – 10 г/л, рН 7,2); Кинг Б, триптозо-соевом агаре; минеральной синтетической среде М9 или минеральной синтетической среде М9 с нафталином (1-2 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии.

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natal'ja Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Скрыбина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва

Мялина Любовь Ивановна (Mjalina Ljubov' Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vjacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Ljubov' Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, gigea@rsmu.ru

Морфологию колоний на питательных средах определяют после 4-5 сут роста при 28°C. На LB-агаре – колонии круглые с ровными краями, гладкие, слабовыпуклые, непрозрачные, оранжевые, неслизистой консистенции, диаметр 4-5мм, пигмент желто-оранжевый, диффундирующий в среду. На триптозо-соевом агаре колонии крупнее, интенсивнее окрашены, более интенсивная диффузия в среду пигмента. На Кинг Б – колонии желто-зеленые, флюоресцирующие, пигмент интенсивный, зеленый, флюоресцирующий, со временем приобретает желто-оранжевую окраску. На М9 с нафталином – колонии округлые, слабовыпуклые, непрозрачные, матово-белые.

Физиолого-биохимические признаки: облигатный аэроб, температурный оптимум роста 24-30°C, растет при 4°C, растет в пределах рН среды от 5,2 до 8,0. Разжижает желатин. В качестве источника углерода использует глюкозу, сахарозу, декстрозу, глицерин, бензойную кислоту, янтарную кислоту, салициловую кислоту, нафталин, фенантрен, 2-метил-нафталин.

Штамм *Pseudomonas aureofaciens* депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов под номером ВКМ-2391Д.

В процессе экспериментальных исследований с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест были изучены влияния микроорганизма на интегральные показатели состояния организма экспериментальных животных и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы.

Обследование экспериментальных животных показало, что воздействие микроорганизма в двух концентрациях (5×10^3 и 5×10^4 кл/м³) замедляло темп прироста массы тела в первые 2 недели. В дальнейшем прирост массы тела подопытных животных был сравним с контрольным уровнем.

В результате проведенных исследований по изучению иммунотоксических свойств микроорганизма установлено, что коэффициенты массы тимуса и селезенки экспериментальных животных не отличались по сравнению с таковыми у животных контрольной группы. В лейкограмме периферической крови подопытных животных не обнаружено достоверных изменений всех показателей. Отмечается 2-х кратное увеличение числа эозинофилов у подопытных животных при воздействии штамма в большей концентрации по сравнению с контрольными животными, что можно рассматривать как косвенный неспецифический признак sensibilization организма.

При оценке sensibilization активности штамма в эксперименте не выявлено формирова-

ния клеточной реакции замедленного типа (ГЗТ) на мышцах. Зарегистрировано формирование состояния гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) у крыс, которое оценивалась в реакции непрямо́й дегрануляции тучных клеток перитонеальной жидкости по показателям: процент дегранулированных тучных клеток, показатель дегрануляции и вариабельность процента дегранулированных клеток по группам животных.

Изучаемый микроорганизм не проявляет антигенной активности при используемом способе исследования на изучаемых уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических антимикробных антител (агглютининов) в сыроворотке подопытных животных обеих групп.

В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемый по титрам гуморальных антител (гемолизинов и гемагглютининов), при воздействии большей концентрации штамма был достоверно ниже по сравнению с таковым в контрольной группе животных, что свидетельствует об иммуномодулирующем (иммуносупрессорном) действии штамма на иммунокомпетентные клетки. Это согласуется со снижением Т-лимфоцитов и увеличением В-лимфоцитов, хотя и не достоверно значимым, и снижением соотношения Т/В, особенно выраженное при воздействии штамма в большей концентрации.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне субхронического воздействия *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д в большей концентрации наблюдались признаки компенсированного дисбактериоза 1-2 степени, которые нивелировались в восстановительном периоде через 2 недели. Коэффициент массы слепой кишки после окончания введения штамма не различался у крыс контрольной и подопытных групп.

Штамм при субхроническом воздействии в обеих концентрациях не обладает способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

На основании полученных данных установлено, что лимитирующим критерием вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных является sensibilization, иммуномодулирующий и дисбиотический эффекты.

С учетом коэффициента запаса 10 для воздуха рабочей зоны предложена ПДК_{п.з.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д на уровне 5×10^3 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

С учетом коэффициента запаса 100 для атмосферного воздуха населенных мест рекомендована ПДК_{а.в.} *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

на уровне 5×10^2 кл/м³, пометка А, 3 класс опасности.

Таким образом, рекомендуемая для утверждения в МЗ РФ величина гигиенического норматива для *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

находится в соответствии с ранее утвержденными нормативами (ПДК_{р.з.} 5000 кл/м³ и ПДК_{а.в.} 500 кл/м³) для различных штаммов *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens (denitrificans)* В-99 и др. (табл.).

Таблица

ПДК микроорганизмов рода *Pseudomonas*, утвержденных Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации

Название штамма	ПДКр.з., кл/м ³	ПДКа.в., кл/м ³	класс опасности	Ссылка на источник
<i>P.aureofaciens</i> В-4117	5000, А	500, А	3	ГН 2.2.6-709-98
<i>P.fluorescens</i> В-6844	5000,А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P. fluorescens (denitrificans)</i> В-99	2000	200	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P.fluorescens</i> К-36	5000,А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P.caryophyllii</i> КМ92-102/1	5000, А	500, А	3	ГН2.2.6.2178-07 ГН2.1.6.2177-07
<i>P. aureofaciens</i> ВКМ-2391Д	5000, А	500, А	3	рекомендовано

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Методические рекомендации РГМУ, М., 1992. – 22с.
2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроор-

ганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91.- М., 1991. – 22с.

3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига и др. – 9-ое издание в 2-х томах. – М., «Мир», 1997. – Т.2.

REFERENCES:

1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Method. Recommendations, Medical University. – Moscow, 1992. – 22p.(in Russian)
2. Guidelines on experimental justification of the limit permitted concentration of

producing microorganisms and their containing strains products in industrial and environmental objects. №5789/1-91.- M., 1991. – 22p. (in Russian)

3. The determinant of bacteria Bergey. Ed. J. Hoult, N. Krig et al. – M., "Mir". – 1997. – V.2 (in Russian)

N.I. Sheina¹, J.G. Skryabina¹, L.I. Myalina¹, E.V. Budanova², L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹, G.G. Chub¹.

MICROORGANISM *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997 Moscow, RF Ministry of Healthcare, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, RF Ministry of Health, 119991 Moscow, Russian Federation

Strain *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д recovered from the soil around oat rhizosphere is not a genetically modified strain. Based on investigations performed, the following hygiene norms are recommended for the strain *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ-2391Д: MAC_{occupational air} Mark A on the level of 5×10^3 , hazard class 3 taking into account safety coefficient of 10 for occupational air; MAC_{atmospheric air} Mark A on the level of 5×10^2 cells/m³, Mark A, hazard class 3 taking into account safety coefficient of 100 for residential areas. These values of hygiene standards recommended for approval are in compliance with previously approved standards (MAC_{occupational air} 5000 cells/m³, MAC_{atmospheric air} 500 cells/m³ for various strains *P.aureofaciens* В-4117, *P.fluorescens* В-6844, *P. fluorescens(denitrificans)* В-99 and others.

Keywords: microorganism, toxicity, hazard.

Материал поступил в редакцию 29.02.2016 г.

СЪЕЗДЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

ИНФОРМАЦИЯ О ПРОВЕДЕНИИ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

23 марта 2017 года состоялась VIII научно-практическая конференция «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств», организованная секцией лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов и Институтом фармации и трансляционной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Традиционно, цель проведения ежегодной конференции – рассмотрение актуальных вопросов, связанных с оценкой безопасности лекарственных препаратов, ознакомление участников конференции с регуляторными изменениями и новыми тенденциями науки и практики в данной области. В работе конференции приняли участие сотрудники ВУЗов, научно-исследовательских институтов и других научных учреждений, сотрудники фармацевтических компаний, отвечающие за направление безопасности, представители ведущих отечественных и зарубежных фармацевтических фирм-производителей России из Москвы, Московской области, Санкт-Петербурга, Воронежа, Екатеринбурга, Иркутска и США.

С приветственным словом выступили заместитель директора Института фармации и трансляционной медицины д.ф.н., профессор Н.В. Пятигорская и член Бюро Российского общества токсикологов, заместитель председателя секции лекарственной токсикологии, заслуженный деятель науки РФ, д.б.н., профессор Ю.А. Ревазова. Программу открыл доклад начальника отдела Департамента науки и технологий Министерства образования и науки РФ, к.т.н. Семина А.А. «Меры государственной поддержки разработки инновационных лекарственных средств». Прозвучали доклады сотрудников Центра экспертизы безопасности лекарственных средств (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ), посвященные новым тенденциям в области экспертизы лекарственных средств: «Практические аспекты контроля безопасности лекарственных препаратов» (докладчик: Затолочина К. Э.- начальник научно-аналити-

ческого отдела, к.м.н.) и «Подходы ЕАЭС (Евразийского экономического союза) к проведению доклинических исследований безопасности лекарственных средств» (докладчик Енгальчева Г.Н. – зам. начальника управления экспертизы, к.б.н., содокладчик – Сюбаев Р.Д. – член секции лекарственной токсикологии, д.м.н.). В заключение рассмотрения блока регуляторных вопросов был заслушан доклад членов Совета по этике МЗ РФ Ревазовой Ю.А. и Чудовой Н.В. «Некоторые проблемы медицинской этики в доклинических и клинических исследованиях». С интересом были заслушаны и обсуждены доклады, посвященные развитию современных направлений оценки безопасности лекарственных средств в нашей стране: фармаконадзору и оценки рисков (Скрипкин Ю.А. «Роль работника здравоохранения в обеспечении надлежащей практики фармаконадзора: вопросы качества», Мануилов Д. «Внедрение систем фармаконадзора: теория и практика», Трахтенберг Ю. «Планирование сбора данных и оценки безопасности с целью минимизации рисков при применении лекарственных препаратов»).

Отдельным блоком на конференции были заслушаны доклады, посвященные актуальным проблемам лекарственной токсикологии. Прозвучал доклад Yury V. Popov, M.D., Ph.D., Director, Liver Fibrosis Research, Assistant Professor of Medicine, Division of Gastroenterology and Hepatology Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School «Модели цирроза печени на животных: сложности, решения возможности». Был заслушан совместный обзорный доклад сотрудников ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России (г. Санкт-Петербург): руководителя отдела доклинических исследований, заведующего лабораторией безопасности лекарственных средств к.б.н. Сивака К.В. и в.н.с. лаборатории безопасности лекарственных средств, члена секции лекарственной токсикологии Саватеевой-Любимовой Т. Н., д.м.н., профессора: «Лекарственно индуцированное поражение почек: обзор современных данных».

О результатах совместных исследований Сеченовского Университета и Института иммунологии был сделан доклад Смирнова В.В., Раменской Г.В. и Хайтова М.Р. «Доклинические исследования инновационного отечественного лекарственного препарата против бронхиальной астмы». Совместный доклад Усова К.И. и Гуськовой Т.А. – председателя секции лекарственной токсикологии, заслуженного деятеля науки РФ, член-корр. РАН, д.м.н., профессора: «Определение фармакологической толерантности к изониазиду в условиях токсикологического эксперимента» был посвящен новому аспекту доклинических исследований зарегистрированного и широко применяемого противотуберкулезного препарата (докладчик: Усов К. И. – заведующий лабораторией токсикологических исследований и испытаний НИИ биофизики ФГБОУ ВО «АнГТУ», доцент кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, к.б.н.). На конференции прозвучал доклад сотрудников Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (г. Пущино, Московская область) Дьяченко И.А. и Мурашева А.Н. «Токсикологические исследования лигандов, специфически связывающихся с рецепторами TRPV1, ASIC3, P2X3». Совместный доклад сотрудников ФГБНУ ВИЛАР был посвящен особенностям токсикологического изучения лекарственных растительных препаратов: «Влияние сухих экстрактов зюзняки и лапчатки, обладающих антигипертензивными свойствами, на генеративную функцию крыс», в котором принимала участие Крепкова Л.В.- член секции лекарственной токсикологии, заведующая отделом токсикологии ВИЛАР, к.б.н. (докладчик – Савинова Т. Б., в.н.с. отдела токсикологии, к.б.н.).

В Программу конференции, наряду с устными, вошли и стендовые доклады. Большая часть стендовых докладов была посвящена различным аспектам оценки безопасности лекарственных растительных препаратов, в том числе стендовый доклад Терёшкиной О.И. – ученого секретаря секции лекарственного токсикологии к.ф.н., в.н.с. лаборатории разработки и доклинических исследований Института фармации и трансляционной медицины «Безопасность фитотерапии в отношении мочеполовой системы в зависимости от состава лекарственного растительного препарата», а также доклады: «Исследование безопасности и дерматотропной активности экстракта караганы гривастой» (Какорин П.А., Козин С.В., Раменская Г.В., Павлова Л.А. – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова. МЗ РФ), «О заражен-

ности растительного сырья плесневыми грибами класса Deuteromycetes» (Мальцева А.А., Коренская И. М. – ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, г. Воронеж), «Изучение спиртового извлечения из лекарственного растительного сырья корневищ с корнями левзеи сафлоровидной» (Стреляева А.В., Карташова Н.В., Кузнецов Р.М – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ), «Оценка безопасности применения масляных экстрактов фармацевтического назначения по содержанию транс-изомеров жирных кислот» (Тринева О.В., Сливкин А. И. – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет, г. Воронеж), Участники конференции могли ознакомиться и со стендовым докладом, посвященным изучению токсичности наноразмерных форм лекарственных препаратов: «Изучение токсичности наноразмерных форм рифабутин-а при однократном парентеральном введении грызунам» (Авдеева О.И., Макарова М.Н., Селезнева А.И., Балабаньян В.Ю., Гельперина С.Э. ЗАО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», ООО «Технология лекарств», ФБУ «ГИЛС и НП», Россия), а также и с докладом, посвященным вопросу гармонизация подходов к доклиническим исследованиям «Гармонизация подходов к доклиническим исследованиям в России и за рубежом. Актуально ли?» (Козин С.В., Цукурова В.А., Кухаренко А.Е., Запышная А.А., Гладышева К.В – ФГАОУ ВО, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, ООО «Эбботт Лэбораториз», г.Москва). Два стендовых доклада были посвящены использованию современных методов анализа лекарственных средств с целью повышения безопасности их медицинского применения Трофимов А.Р., Сесинова Ю.В. «Обеспечение постоянства состава и безопасности лекарственных средств из группы цефалоспоринов методом БИК-Фурье спектроскопии» (ФГАОУ ВО, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ), Фишер Е.Н., Аксёнов А.А., Родина Т.А., Мельников Е.С., Комаров Т.Н., Чумакова З.В., Раменская Г.В. «Определение инновационного антитромботического препарата Дабигатрана в сыворотке крови пациентов с целью повышения безопасности фармакотерапии» (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, ГБУЗ ГКБ им. И.В. Давыдовского Департамента здравоохранения г. Москвы).

Все доклады вызвали живой интерес, обсуждение, многочисленные вопросы. На конференции за основу был принят проект Резолюции. Учитывая значимость проблемы оценки безопасности лекарственных средств, по результатам научно-практической конференции её участники отметили необходимость

дальнейших исследований в направлении доклинической и клинической оценки безопасности лекарственных средств, в том числе в области гармонизации требований и рекомендаций и важность проведения ежегодных научно-практических мероприятий, посвященных актуальной проблеме оценки безопасности лекарственных средств.

Участники конференции предложили:

- рекомендовать к публикации в ведущих рецензируемых журналах, в том числе, в журнале «Токсикологический вестник», материалы по теме докладов конференции, рекомендовать к публикации материалы конференции (тезисы докладов) в журнале «Сеченовский вестник».
- провести следующую ежегодную IX научно-практическую конференцию, посвященную

актуальным проблемам оценки безопасности лекарственных средств с участием представителей научной общественности, регуляторных органов Минздрава России, фармацевтических фирм-производителей

Председатель секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор
Т.А. Гуськова

Ученый секретарь секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, кандидат фармацевтических наук
О.И. Терёшкина



ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

К 90-ЛЕТИЮ КУШНЕВОЙ ВАЛЕРИИ СЕРГЕЕВНЫ

23 марта 2017 года исполнилось 90 лет Кушневой Валерии Сергеевне, кандидату медицинских наук, ведущему научному сотруднику лаборатории промышленной токсикологии ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.Г. Бурназяна ФМБА России.

В.С. Кушнева является крупным специалистом в области промышленной токсикологии и гигиенического регламентирования содержания химических веществ в объектах производственной и окружающей среды, изучению которых она посвятила более 60 лет своей трудовой деятельности.

По окончании 1-го Московского медицинского института в 1949 г. Кушнева В. С. по распределению была направлена на работу в систему 3-го ГУ Минздрава СССР.

Проходила учебу в аспирантуре в биофизическом отделе НИИ «Медицина труда и профзаболеваний» РАМН.



В 1953 г. защитила кандидатскую диссертацию на тему: «Комбинированное действие кварцевой пыли и радона».

В 1955 г. переведена в Институт биофизики МЗ СССР, где работала м.н.с. и ст.н.с. в лаборатории «Токсикология радиоактивных веществ». В 1969 г. переведена во вновь образованную лабораторию «Промышленная токсикология компонентов ракетных топлив», занимающуюся проблемами медико-биологического и санитарно-гигиенического обеспечения работающих в ракетно-космической отрасли и заведующей которой она была многие годы.

Результаты ее исследований нашли свое отражение в более чем в 180 публикациях: монографиях, сборниках научных трудов,

статьях, методических указаниях и положены в основу ряда практически важных документов – государственных и отраслевых санитарных стандартов, санитарных правил, методических рекомендаций, инструкций по технике безопасности условий труда при работах с компонентами ракетных топлив, по диагностике острых и хрониче-

ческих форм отравлений, а также использованы в разработках средств индивидуальной защиты органов дыхания и кожных покровов, работающих в контакте с компонентами ракетных топлив.

Более 60 гигиенических нормативов вредных химических веществ, разработанных в токсикологической лаборатории под руководством Кушневой В. С., утверждены и внедрены в практику здравоохранения.

При её непосредственном участии были:

- обоснованы аварийные пределы воздействия (АПВ) несимметричного диметилгидразина (НДМГ) для воздуха рабочей зоны и атмосферы населенных мест;
- разработаны и внедрены модификации методик измерения массовых концентраций компонентов жидкого ракетного топлива (1,1- диметилгидразин) в биосредах (кровь, молоко, мышечная ткань, моча);
- разработаны и внедрены модификации методик измерения массовых концентраций компонентов твердого ракетного топлива (перхлорат аммония) в биосредах (кровь, моча).

Она является автором и соавтором Сборника методических указаний по методам контроля компонентов смесового твердого топлива на основе перхлората аммония в объектах производственной, окружающей среды и биосредах, справочника «Вредные химические вещества в ракетно-космической отрасли», Сборника методических указаний по определению 1,1-диметилгидразина и продуктов его деструкции в объектах производственной, окружающей среды и биосредах, Монографии «Гигиенические аспекты и токсикология перхлоратов», а также вышедших 2016 году учебных пособий «Токсикология и гигиенические аспекты жидких ракетных топлив» и «Токсикология и гигиенические аспекты твердых ракетных топлив».

Будучи заведующей лабораторией, В.С. Кушневой показала себя способным организатором

и деловым научным руководителем. Под ее руководством аспиранты и соискатели выполнили и защитили 10 кандидатских диссертации.

В.С. Кушневой была заместителем, а затем председателем Секции токсикологии – экспертного органа Межведомственного координационного научного Совета (МКНС) при Федеральном управлении «Медбиоэкстрем» (ныне ФМБА России), а также входила в состав Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Госкомсанэпиднадзоре России.

За свою деятельность В.С. Кушневой не раз была отмечена благодарностями МЗ СССР, ФУ «Медбиоэкстрем», Моссовета, внесена в Книгу Почета Института биофизики, награждена медалью «Ветеран труда», «Ветеран атомной промышленности», «За доблестный труд», юбилейными медалями Ю.А. Гагарина, В.И. Терешковой, А.И. Бурназяна, ведомственным серебряным крестом ФМБА России.

В настоящее время, несмотря на солидный возраст, В.С. Кушневой продолжает активно участвовать в научно-организационной и экспертной работе отдела.

***Сердечно поздравляем
Валерию Сергеевну с юбилеем,
желаем ей крепкого здоровья,
благополучия,
многих лет успешной научной
деятельности***

***Руководство ФГБУ ГНЦ ФМБЦ
им А.И. Бурназяна ФМБА России,
коллектив отдела №6,
Всероссийская общественная
организация токсикологов,
Редколлегия журнала
«Токсикологический вестник».***



НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Стрелова О.Ю., Гребенюк А.Н.
Практикум по токсикологической химии. – СПб.: ВМедА, 2016. – 192 с.



Важное место в практической деятельности врачей и провизоров занимают токсикологические исследования, направленные на выявление этиологической причины отравления, установление факта наличия химических веществ в объектах окружающей среды и тканях организма, оценку качества продуктов питания, воды, лекарственных средств, животного и растительного сырья, технических средств и т.п. В связи с этим студенты, обучающиеся в медицинских и фармацевтических вузах, в ходе дипломной подготовки должны овладеть теоретическими основами и практическими навыками химико-токсикологического анализа. Именно этой цели служит учебное пособие для студентов и курсантов медицинских и фармацевтических вузов «Практикум по токсикологической химии», вышедшее в свет в конце прошлого года.

Практикум предназначен, прежде всего, для студентов и курсантов, обучающихся по специальности «Фармация», но может также использоваться в процессе подготовки студентов медико-профилактического, лечебного и педиатрического направления, а также медицинских биохимиков. Авторами Практикума являются известные в нашей стране ученые и педагоги – заведующая кафедрой фармацевтической химии (с курсом токсикологической химии) Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии кандидат химических наук доцент Ольга Юрьевна Стрелова и профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова доктор медицинских наук профессор Александр Николаевич Гребенюк. Это творческое содружество химика и токсиколога позволило им подготовить качественное учебное пособие, в котором на высоком учебно-методическом уровне изложены материалы практических занятий по всем предусмотренным программой темам учебной дисциплины «Токсикологическая химия».

Представленный в Практикуме материал сгруппирован по шести разделам, включающим от одного до пяти практических занятий. Описание каждого из занятий включает целевую установку, вопросы для подготовки к занятию,

перечень основной и дополнительной литературы по теме занятия, план проведения занятия, практические работы, ситуационные задачи, а также задание на самостоятельную работу. К каждому из практических занятий подобран методический материал, позволяющий студенту самостоятельно выполнять запланированные работы, представленные реактивы и методики исследования объектов физическими, химическими и физико-химическими методами. В тексте приведены уравнения соответствующих химических реакций, указан их аналитический эффект в случае обнаружения искомого соединения. В конце каждого из разделов представлена контрольная работа, выполнение которой позволит студентам закрепить полученные в ходе занятий теоретические знания и практические навыки. Завершает Практикум список рекомендуемой студентам литературы, включающих 15 современных учебников и учебных пособий по токсикологической химии и смежным учебным дисциплинам, а также восемь приложений со справочными данными, необходимыми для освоения теоретического материала и выполнения изложенных практических работ.

Практикум подготовлен в соответствии с психолого-педагогическими требованиями к подобного рода учебным изданиям. В нем используются современные классификации и номенклатуры, а названия упоминаемых препаратов полностью соответствуют Государственному реестру лекарственных средств. Практикум написан хорошим литературным языком и легко читается, что сильно облегчает понимание приведенной в нем информации. Хорошему восприятию изложенного материала также способствуют весьма информативные иллюстрации в виде 8 таблиц и 15 рисунков. Нет никаких сомнений в том, что использование этого Практикума позволит качественно обучить студентов фармацевтических и медицинских вузов методикам выполнения химико-токсикологических исследований и правильной интерпретации их результатов.

*Директор ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ»
 Роспотребнадзора, заведующий кафедрой гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, доктор медицинских наук профессор
 Х.Х. Хамидулина*

ФБУЗ «РОССИЙСКИЙ РЕГИСТР ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ
ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ»
РОСПОТРЕБНАДЗОРА

ПРЕДЛАГАЕТ НОВУЮ ВЕРСИЮ

АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ РАСПРЕДЕЛЕННОЙ ИНФОРМАЦИОННО-ПОИСКОВОЙ СИСТЕМЫ (АРИПС) «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА», предоставляющей широкий спектр возможностей при разработке паспортов безопасности, MSDS, проектов выбросов, сбросов, классификации отходов производства и потребления, проведении мониторинга, оценки риска, экспертных работ.

АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ – электронная постоянно пополняемая база данных химических веществ, в том числе прошедших государственную регистрацию в системе Роспотребнадзора. По техническим характеристикам **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ** представляет собой продукт, созданный с использованием последних достижений в области программирования. Использование современных методов разработки программного обеспечения позволило существенно расширить возможности предоставления информации. **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ** содержит исчерпывающие сведения из ведущих отечественных и зарубежных баз данных. Вся информация представлена в структурированной форме, подобной информационной карте, составляемой на вещество при его государственной регистрации.

АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ включает в себя:

- физико-химические характеристики, данные о хранении, транспортировке, утилизации, пожаровзрывоопасность
- параметры токсикометрии (показатели острой токсичности при различных путях поступления, кумулятивности, оценку специфических и отдаленных эффектов)
- показатели экологической безопасности
- гигиенические и экологические нормативы: ОБУВ и ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест, ОБУВ и ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны, ОДУ и ПДК химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования и питьевой воды, ПДК и ОДК в почве, ДУ в продуктах питания, ПДК и ОБУВ вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение
- классы (категории) опасности по влиянию на здоровье человека, окружающую природную среду, а также обусловленные физико-химическими свойствами в соответствии с СГС

- коды и фразы риска, маркировку, номера ООН, КЭМ и номера аварийных карточек при железнодорожных, морских и других видах перевозки
- нормативные и библиографические данные.

Предлагаемый программный продукт предоставляет пользователю следующие возможности: просмотр полной информации о веществе (более 300 характеристик)

- ускоренный поиск вещества по фрагменту названия IUPAC, торговому названию, синониму, номерам CAS, RTECS и EINECS, брутто формуле, дате и сроку регистрации
- вывод в файл, на печать, просмотр информации по конкретному веществу, списку веществ, сформированных в результате поиска по заданным параметрам
- актуализации и пополнения базы данных новыми веществами **АРИПС «ОПАСНЫЕ ВЕЩЕСТВА» НОВАЯ ВЕРСИЯ**

Минимальные требования к компьютеру: процессор Celeron 1,8, оперативная память – 1GB, свободное место на жестком диске 100 MB;

Требования к программному обеспечению: Windows XP Professional SP2, Windows Office 2003.

Более детальную информацию Вы можете найти на сайте www.RPOHV.ru

Если Вас заинтересовала эта информация, Вы можете связаться с нами и оставить свою заявку:
Адрес: 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19А
Многоканальный телефон: (499) 940-97-87
Факс: (499) 940-97-75
E-mail: secretary@rpohv.ru
Веб-сайт: www.rpohv.ru, www.rpohbv.ru