

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Toxicological Review



Научно-практический журнал

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

№ 5 (164), 2020

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

**В.Г. Панов, И.А. Минигалиева, Т.В. Бушуева,
Л.И. Привалова, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, М.П. Сутункова,
Б.А. Кацнельсон**

О СМЫСЛЕ ПОНЯТИЯ «ГОРМЕЗИС» И ЕГО МЕСТЕ
В ОБЩЕЙ ТЕОРИИ ЗАВИСИМОСТИ ОТВЕТА ОРГАНИЗМА
НА ПОТЕНЦИАЛЬНО ВРЕДНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ОТ ЕГО СИЛЫ.. 2

Д.А. Лебедева, Ю.А. Щеглов
ПРАВОВЫЕ И БИОЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В НАУЧНЫХ ЦЕЛЯХ..... 10

**А.Ю. Каретникова, Е.С. Терехина, Н.В. Шляпников,
А.А. Войтович**

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ
АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ
В ПЕРИОД ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ..... 16

**Х.Х. Хамидулина, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина,
А.Р. Егiazарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева,**

Е.А. Ринчиндоржиева, С.А. Швыкина, Е.С. Петрова
О НЕОБХОДИМОСТИ РАЗРАБОТКИ ГИГИЕНИЧЕСКИХ
НОРМАТИВОВ (ПДК) В ВОДЕ И ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ
ЗОНЫ ПЕРФТОРОКТАНОВОЙ КИСЛОТЫ В РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ..... 21

**Е.В. Мельник, М.В. Белова, А.Н. Лодягин, А.В. Сабаяев,
Б.Б. Яцынюк, И.А. Афонкин, И.А. Тюрин, Г.В. Раменская**

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ
ЧЕМЕРИЦЕЙ ЗА 2014-2018 ГОДЫ В ГОРОДАХ МОСКВА,
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, ОМСК, ЧИТА И ХАНТЫ-МАНСЙСКОМ
АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – УГРЕ 32

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

**Н.Ю. Роговская, А.Ю. Горбунов, Я.А. Дубровский,
Н.С. Хлебников, В.Н. Бабаков**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИЦИНА В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТИРОВАНИЯ 43

**К.А. Краснов, А.С. Гладчук, М.Л. Александрова,
О.А. Кельсиева, М.А. Зайцева, М.В. Мельникова,
В.Л. Рейнюк, Е.П. Подольская**

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛИПИДНЫХ ПИГМЕНТОВ
БЕЛОМОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ SACCHARINA LATISSIMA
МЕТОДАМИ ТСХ И МАЛДИ-МС..... 50

□ Новые сведения о токсичности и опасности химических
и биологических веществ

**М.В. Бидевкина, М.И. Голубева, И.А. Бобринева,
А.В. Лиманцев, Т.Н. Потапова, И.Н. Разумная,
А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская**

ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ЗОЛМИТРИПТАНА (ДАННЫЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)..... 57

□ Химическая безопасность

ИНФОРМАЦИЯ О РЕАЛИЗАЦИИ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ
ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ» ОТ 03.03.2017 № ТР ЕАЭС
041/2017 В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 61

□ Новые публикации по токсикологии
и смежным дисциплинам 64

**V.G. Panov, I.A. Minigaliev, T.V. Bushueva, L.I. Privalova,
S.V. Klinova, M.P. Sutunkova V.B. Gurvich, B.A. Katsnelson**

ON THE MEANING OF THE TERM «HORMESIS» AND
ITS PLACE IN THE GENERAL THEORY OF THE DEPENDENCE
OF THE BODY'S RESPONSE TO POTENTIALLY HARMFUL EFFECTS
ON ITS STRENGTH..... 2

D.A. Lebedeva, Yu. A. Shcheglov
BIOETHICAL AND LEGAL ASPECTS OF THE USE OF ANIMALS
FOR SCIENTIFIC PURPOSES 10

**A.Yu. Karetnikova, E.S. Terekhina, N.V. Shlyapnikov,
A.A. Voitovich**

ASSESSMENT OF THE TOXIC INFLUENCE OF ATMOSPHERIC AIR
POLLUTANTS IN THE SARATOV REGION DURING THE FOREST
FIRES..... 16

**Kh.Kh. Khamidulina, E.V. Tarasova, A.S. Proskurina,
A.R. Egiazaryan, I.V. Zamkova, E.V. Dorofeeva,**

E.A. Rinchindorzhiyeva, S.A. Shvykina, E.S. Petrova
ON THE NEED FOR THE DEVELOPMENT OF HYGIENIC
STANDARDS (MACS) IN THE WATER AND AIR OF THE WORKING
AREA FOR PERFLUOROOCCTANOIC ACID IN THE RUSSIAN
FEDERATION 21

**E.V. Melnik, M.V. Belova, A.N. Lodyagin, A.V. Sabaev,
B.B. Yatsinyuk, I.A. Afonkin, I.A. Tyurin, G.V. Ramenskaya**

STATISTICAL ANALYSIS OF VERATRUM ACUTE POISONINGS
DURING 2014-2018 IN MOSCOW, SAINT PETERSBURG,
OMSK, CHITA, AND KHANTY-MANSIYSK AUTONOMOUS
OKRUG – UGRA 32

V.V. Shilov, V.A. Lukin, L.P. Pivovarova, M.I. Gromov
FEATURES OF THERAPY FOR ACUTE POISONING WITH JELLYFISH
POISON (CLINICAL OBSERVATION)..... 38

**N.Yu. Rogovskaya, A.Yu. Gorbunov, Ya.A. Dubrovskii,
N.S. Khlebnikova, V.N. Babakov**

DETERMINATION OF RICIN IN ENVIRONMENTAL SAMPLES USING
BIOASSAY..... 43

**K.A. Krasnov, A.S. Gladchuk, M.L. Alexandrova,
O.A. Keltsieva, M.A. Zaytseva, M.V. Melnikova, V.L. Reinyuk,
E.P. Podolskaya**

STUDY OF THE LIPID PIGMENT COMPOSITION
IN THE WHITE SEA ALGAE SACCHARINA LATISSIMA USING TLC
AND MALDI-MS 50

□ News on toxicity and hazard of chemical and biological
substances

**M.V. Bidevkina, M.I. Golubeva, I.A. Bobrineva,
A.V. Limantsev, T.N. Potapova, I.N. Razumnaya,
A.Yu. Savchenko, G.V. Ramenskaya**

TOXICITY AND HAZARD OF ZOLMITRIPTAN
(EXPERIMENTAL STUDY)..... 57

□ Chemical Safety

INFORMATION ON THE IMPLEMENTATION OF THE EAEU TR «ON
THE SAFETY OF CHEMICAL PRODUCTS» DATED 03.03.2017
№ TR EAEU 041/2017 IN THE RUSSIAN FEDERATION..... 61

□ New publications on Toxicology and related
disciplines 64

УДК 615.099

О СМЫСЛЕ ПОНЯТИЯ «ГОРМЕЗИС» И ЕГО МЕСТЕ В ОБЩЕЙ ТЕОРИИ ЗАВИСИМОСТИ ОТВЕТА ОРГАНИЗМА НА ПОТЕНЦИАЛЬНО ВРЕДНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ОТ ЕГО СИЛЫ

В.Г. Панов, И.А. Минигалиева,
Т.В. Бушуева,
Л.И. Привалова, С.В. Клинова,
В.Б. Гурвич, М.П. Сутункова,
Б.А. Кацнельсон

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

Сферические наночастицы (НЧ) сульфидов кадмия и свинца (диаметр 37 ± 5 нм и 24 ± 4 нм соответственно) оказались цитотоксичными для кардиомиоцитов линии HL-1, о чем свидетельствует снижение АТФ-зависимой люминесценции. Было обнаружено, что наночастицы CdS оказывают гораздо большее цитотоксическое воздействие, чем наночастицы PbS. Учитывая одинаковый диапазон доз, CdS-НЧ уменьшал количество кальциевых пиков. Аналогичный эффект наблюдался и для малых доз PbS-НЧ. Помимо гипертрофии клеток под воздействием определенных доз CdS-НЧ и PbS-НЧ были выявлены дозы, вызывающие уменьшение размеров кардиомиоцитов. Для этих трех результатов мы получили как монотонные функции «доза-реакция» (хорошо аппроксимируемые гиперболической функцией), так и различные варианты немонотонных, для которых мы нашли адекватные математические выражения путем модификации некоторых моделей гормезиса, доступных в литературе. Анализ данных с использованием линейной модели поверхности отклика с перекрестным членом дал еще одно подтверждение ранее установленному постулату о том, что разнообразие типов комбинированного действия, характерных для одной и той же пары токсических веществ, является одним из важных утверждений в общей теории комбинированной токсичности.

Ключевые слова: доза-ответ, наночастицы, эксперимент «in vitro», математическая модель.

Цит: В.Г. Панов, И.А. Минигалиева, Т.В. Бушуева, Л.И. Привалова, С.В. Клинова, В.Б. Гурвич, М.П. Сутункова, Б.А. Кацнельсон. О смысле понятия «гормезис» и его месте в общей теории зависимости ответа организма на потенциально вредное воздействие от его силы. Токсикологический вестник. 2020; 5:2-9

Введение. Известный уже на протяжении почти пяти веков афоризм Парацельса (Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, 1493-1541) «Sola dosis facit venenum» т.е. «только доза делает яд» (или в более популярной трактовке «только доза делает лекарство ядом и яд лекарством») сформулировал одну из теоретических основ научной токсикологии. То, что сила эффектов действия яда зависит от дозы, является тривиаль-

ным фактом, несомненно известным на эмпирическом уровне задолго до этого как отравителям, так и врачам. Однако Парацельс утверждал (вероятно, впервые), что от дозы принципиально и при том парадоксально зависит также характеристика направленности эффектов действия: от полезной для организма до губительной для него.

В современной научной токсикологии сложная и неоднозначная зависимость ответа организма

Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich), к.ф.-м.н., зав. лабораторией математического моделирования в экологии и медицине Института промышленной экологии, ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, panov@esko.uran.ru;
Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., старший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, ilzira-minigalieva@yandex.ru;
Бушуева Татьяна Викторовна (Bushueva Tatyana Victorovna), кандидат медицинских наук, заведующий НПО Лабораторно-диагностических технологий ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора России, г. Екатеринбург, bushueva@ymrc.ru;
Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), д.м.н., профессор, заведующая лабораторией научных основ биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, privaloval@yahoо.com;
Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna), научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, klinovasv@ymrc.ru;
Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), д.м.н., научный руководитель ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, gurvich@ymrc.ru;
Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), к.м.н. директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, sutunkova@ymrc.ru;
Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, bkaznelson@etel.ru

от силы воздействия (дозы), многократно подтверждавшаяся различными экспериментальными данными, уже давно является одной из базовых концепций [например, 1-3]. Что же касается обсуждаемого нами парадокса Парацельса, то в конце 19-го века он был сформулирован как так называемое правило Арндта-Шульца (Arndt-Schulz rule), гласящее, что «для каждого вещества малые дозы стимулируют, умеренные дозы подавляют, большие дозы убивают», и претендовавшее на значимость общебиологического закона. Как известно, этот высокий статус, задним числом дававший рациональное оправдание практической гомеопатии, решительно отрицался многими критиками последней. Однако в научном обиходе указанное правило (если и не обязательное, то действующее достаточно часто) не исчезло бесследно, а влилось в понятие «гормезис», впервые предложенное уже довольно давно [4], но в настоящее время вновь оказавшееся в центре внимания, прежде всего, благодаря публикациям американского токсиколога Эдварда Калабрезе [5] и издаваемому им начиная с 2003 года журналу «Dose -Response».

Под гормезисом обычно понимается наличие двухфазной зависимости реагирования животного или растительного организма или изолированной клетки на какое-либо внешнее воздействие (стрессор) от силы последнего, причем на низких уровнях силы это реагирование носит биологически благоприятный характер, а с её возрастанием – неблагоприятный. Иногда под гормезисом понимается именно первая (стимулирующая) фаза этой зависимости. Таким образом, термин «гормезис» (использовавший греческое слово, одно из значений которого близко к понятию «стимуляция») традиционно толкуется в соответствии всё с тем же правилом Арндта-Шульца, но распространяя его за пределы токсикологических эффектов, но не постулируя его как всеобщий закон.

Действительно, в большом числе случаев зависимость «доза – ответ» носит монотонный характер, то есть неблагоприятная направленность ответа обнаруживается начиная с минимальных доз, ниже которых какой бы то ни было вредный или благоприятный эффект может вообще отсутствовать или, во всяком случае, не

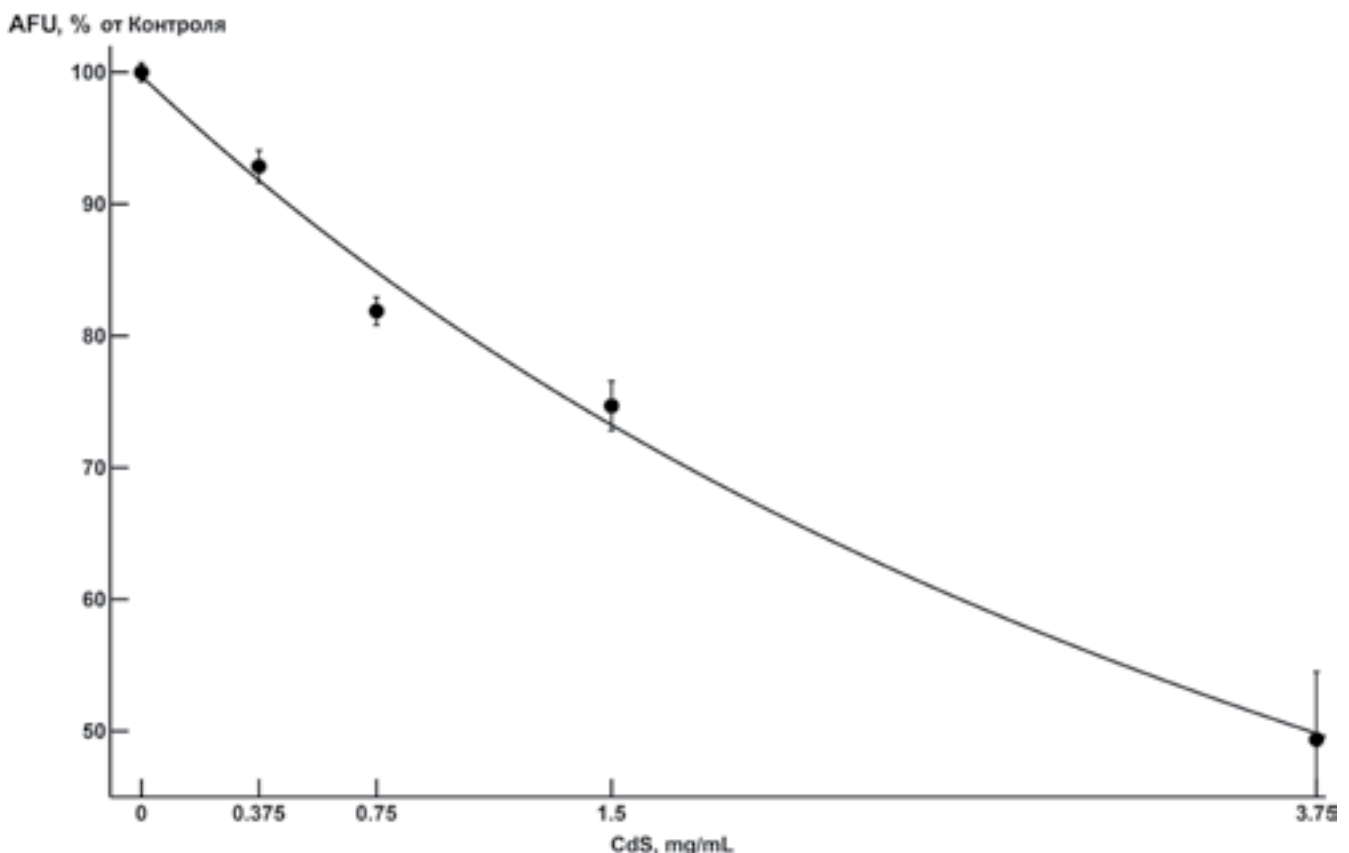


Рис.1. Зависимость снижения АТФ-зависимой люминесценции культуры кардиомиоцитов линии HL-1 (в %% к контрольному показателю, средний результат ± стандартная ошибка) от концентрации наночастиц CdS в среде инкубации. Аппроксимирующая эту зависимость кривая соответствует уравнению $y = \frac{188.503 - 7.668x}{1.929 + 0.358x}$. Коэффициент корреляции между модельными и экспериментальными точками $R = 0.98$.

быть уловимым. Количественная зависимость неблагоприятного эффекта от дальнейшего возрастания дозы может в первом приближении расцениваться как линейная лишь в узком диапазоне, а в более широком аппроксимируется различными математическими функциями (например, логарифмической, лог-линейной, гиперболической), но сохраняет монотонный характер в вышеуказанном смысле. Примеры типичной монотонной зависимости доза – ответ, которые приведены на рисунках 1 и 2, основаны на нашем [6] анализе действия наночастиц сульфида кадмия (CdS-НЧ) на культуру стабильной линии кардиомиоцитов HL-1 как по неспецифическому показателю цитотоксичности (подавление АТФ-зависимой люминесценции), так и по угнетению характерных именно для этих клеток кальциевых пиков. [6].

Однако, как видно из рисунка 3, при действии тех же CdS-НЧ на те же клетки, но при оценке их ответа по другому показателю, тоже специфичному для кардиомиоцитов HL-1, а именно по изменению их размера зависимость от дозы имеет явно немонотонный характер. Увеличение клет-

ки с усилением воздействия, зарегистрированное в узком диапазоне низких доз, сменяется существенным уменьшением её при более высоких концентрациях наночастиц с дальнейшим выходом на плато.

Вместе с тем, в том же нашем исследовании было показано, что монотонный или немонотонный тип дозо-ответной зависимости не предопределяется однозначно характером оцениваемого эффекта, поскольку этот тип может для одного и того же эффекта быть принципиально разным для разных токсикантов. Так, например, изменение АТФ-зависимой люминесценции при увеличении концентрации наночастиц сульфида свинца (PbS-НЧ) оказалось явно немонотонным (рис. 4). То же самое относится и к влиянию этих наночастиц на остальные рассмотренные выше характеристики культуры HL-1 [6].

Нельзя не отметить однако, что вид немонотонной зависимости в этом случае явно не соответствует традиционному пониманию гормезиса в духе правила Арндта-Шульца, поскольку имеет место не стимулирующее, а напротив, угнетающее действие наименьшей из испытанных

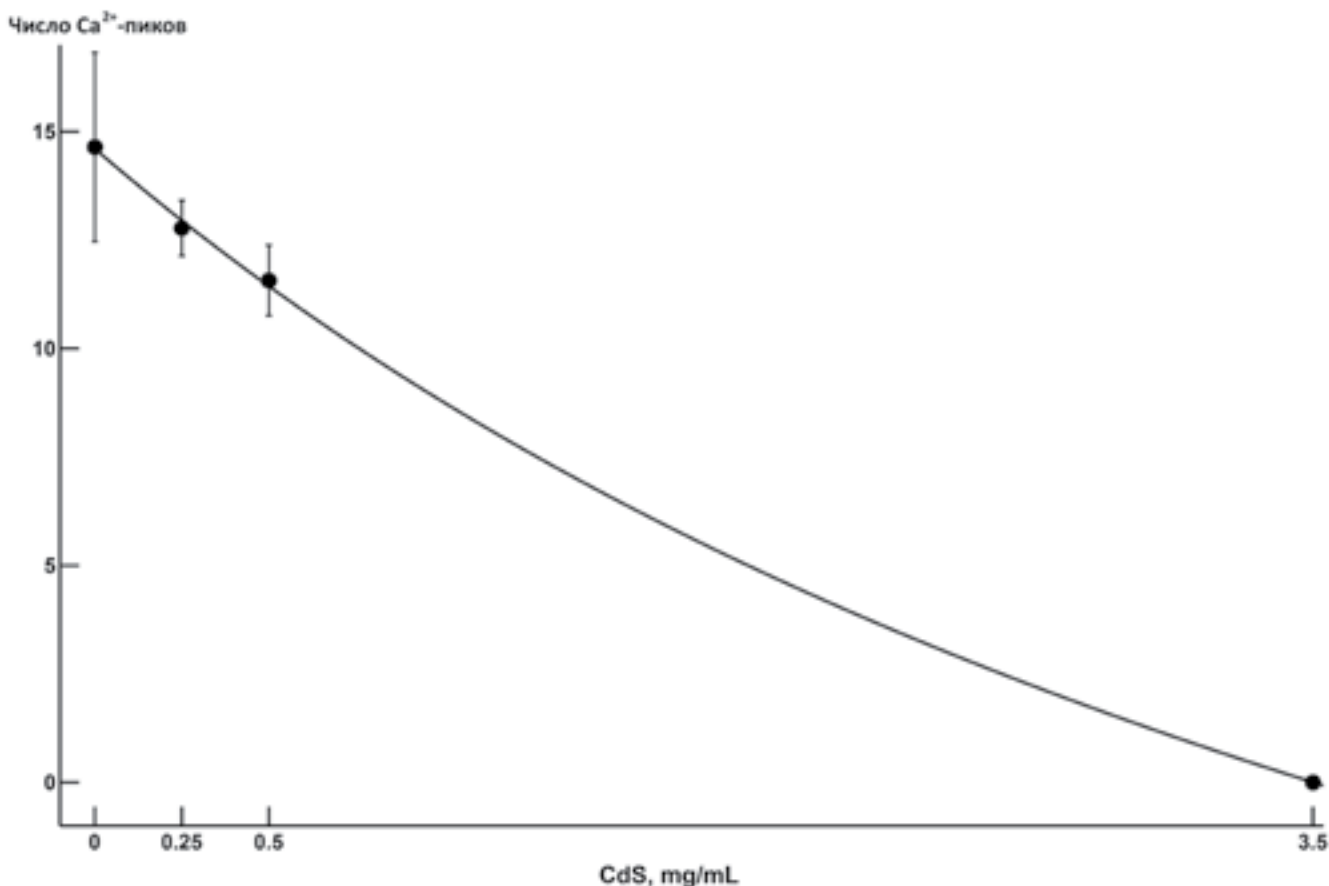


Рис. 2. Зависимость снижения среднего числа (\pm стандартная ошибка) кальциевых пиков за 30 секунд в культуре кардиомиоцитов линии HL-1 от концентрации наночастиц CdS в среде инкубации. Аппроксимирующая эту зависимость кривая соответствует уравнению $y = \frac{70.563 - 20.155x}{0.915x + 4.830}$. Коэффициент корреляции между модельными и экспериментальными точками $R = 0.71$.

концентраций, переходящее в стимуляцию в следующем дозовом диапазоне и вновь в угнетение при дальнейшем повышении концентрации наночастиц.

Зависимость от дозы PbS-НЧ для другого специфического ответа тех же клеток (изменения их размера), как видно из рисунка 5, вначале похожа на традиционное понимание гормезиса, однако стимулирующий эффект виден не только при минимальных концентрациях, но и после промежуточного диапазона, в котором имело место угнетение.

Такая зеркальность реально наблюдаемых зависимостей по отношению к правилу Ардта-Шульца (а также тех случаев, в которых однозначно оценить сдвиг того или иного функционального показателя как благоприятный или неблагоприятный для организма нелегко) встречается не так уж редко. Эта проблема может быть решена либо исключением значительной части немонотонных зависимостей доза-ответ из концепции гормезиса, либо расширением самой этой концепции. Второй вариант решения представляется нам значительно более целесоо-

бразным, и именно ему соответствует модифицированная дефиниция понятия «гормезис», предложенная Kendig E.L. [7], а именно: “Hormesis is a dose-response relationship for a single endpoint that is characterized by reversal of response between low and high doses of chemicals, biological molecules, physical stressors, or any other initiators of a response” («Гормезис – это такая зависимость доза-ответ для определенного показателя, которая характеризуется противоположной направленностью ответа при воздействии низких и высоких доз химических веществ, биологических молекул, физических стрессоров или любых других инициаторов ответа»).

Однако и этой генерализованной дефиницией не рассматривается возможность повторного «реверса» ответа при переходе на третий уровень воздействия (дозы). О том, что такая возможность действительно существует, свидетельствуют не только наши собственные данные, представленные выше. Так, описаны трёхфазные ответы при воздействии ионизирующим облучением на мальков рыб данио-рерио [8-9]. Вместе с тем, нельзя не отметить, что в известной нам

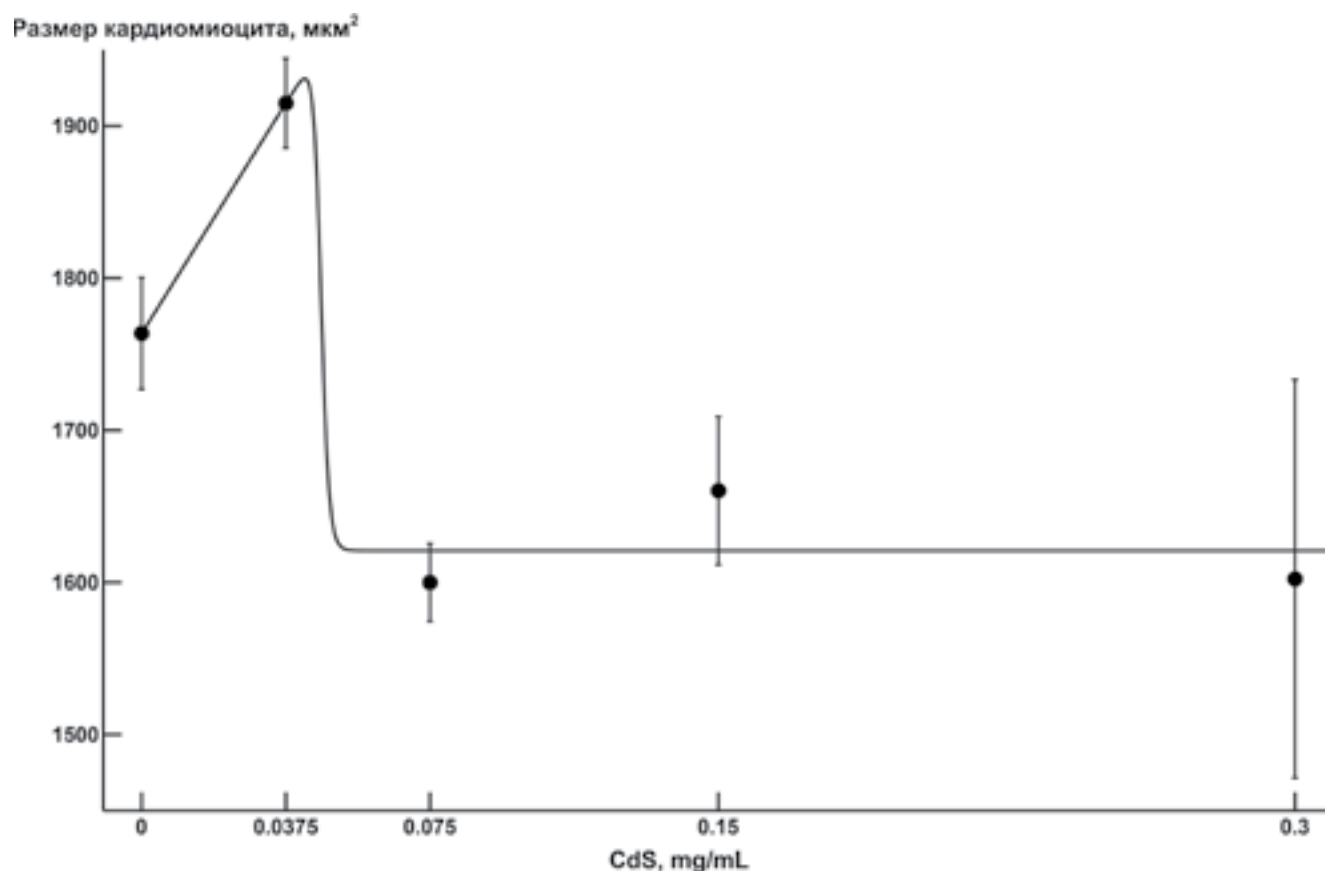


Рис.3. Зависимость изменения средней площади (\pm стандартная ошибка) кардиомиоцитов линии HL-1 (мкм^2) от концентрации наночастиц CdS в среде инкубации. Аппроксимирующая эту зависимость кривая соответствует уравнению

$$y = \frac{4035.87x + 142.778}{3.8642 \times 10^{61} x^{46.273} + 1} + 1620.89. \text{ Коэффициент корреляции между модельными и экспериментальными точками } R = 0.77.$$

литературе возможность трёхфазной зависимости ответа от дозы упоминается крайне редко.

Судя по всему, речь идёт о вполне реальном, даже если и не часто выявляемом биологическом феномене, механизмы которого не изучены и не обязательно являются одними и теми же во всех подобных случаях. В связи с этим подчеркнём, что даже в относительно простой биологической тест-системе направленность результирующего ответа на действие конкретного стрессора определяется разнообразными прямыми и обратными связями. Например, снижение интенсивности окислительного фосфорилирования, оцениваемой по люминесцентному ответу клеточной культуры, может быть отражением как цитотоксического подавления метаболической активности единичной клетки, так и уменьшения общего числа таких клеток в результате гибели и разрушения их. Однако, с другой стороны, продукты клеточного разрушения могут оказывать активирующее влияние на активность клеток, ещё сохранивших жизнеспособность. Нельзя исключить и того, что данный стрессор на низких

уровнях его силы оказывает прямое активирующее влияние. Соотношение между всеми этими механизмами может быть разным на разных уровнях доз, сдвигая равновесие то в одну, то в другую сторону.

Следует иметь в виду, что первичные и опосредованные механизмы гормезиса не до конца понятны (и скорее всего разнообразны) даже и при его понимании в рамках традиционной дефиниции. Поэтому недостаточная изученность причин повторного изменения направленности эффекта не означает, с нашей точки зрения, что в этом случае речь идёт о совершенно особом виде немонотонной дозо-ответной зависимости. Мы полагаем, что оно должно быть включено в обобщённую концепцию гормезиса, а это требует дополнительного изменения дефиниции последнего таким образом, чтобы избежать вообще упоминания о числе фаз. Так, взяв за основу приведенную выше формулировку Kendig et al. (2010), можно предложить обсуждаемую дефиницию в следующей редакции: «Гормезис – это такая зависимость доза-ответ для определенного

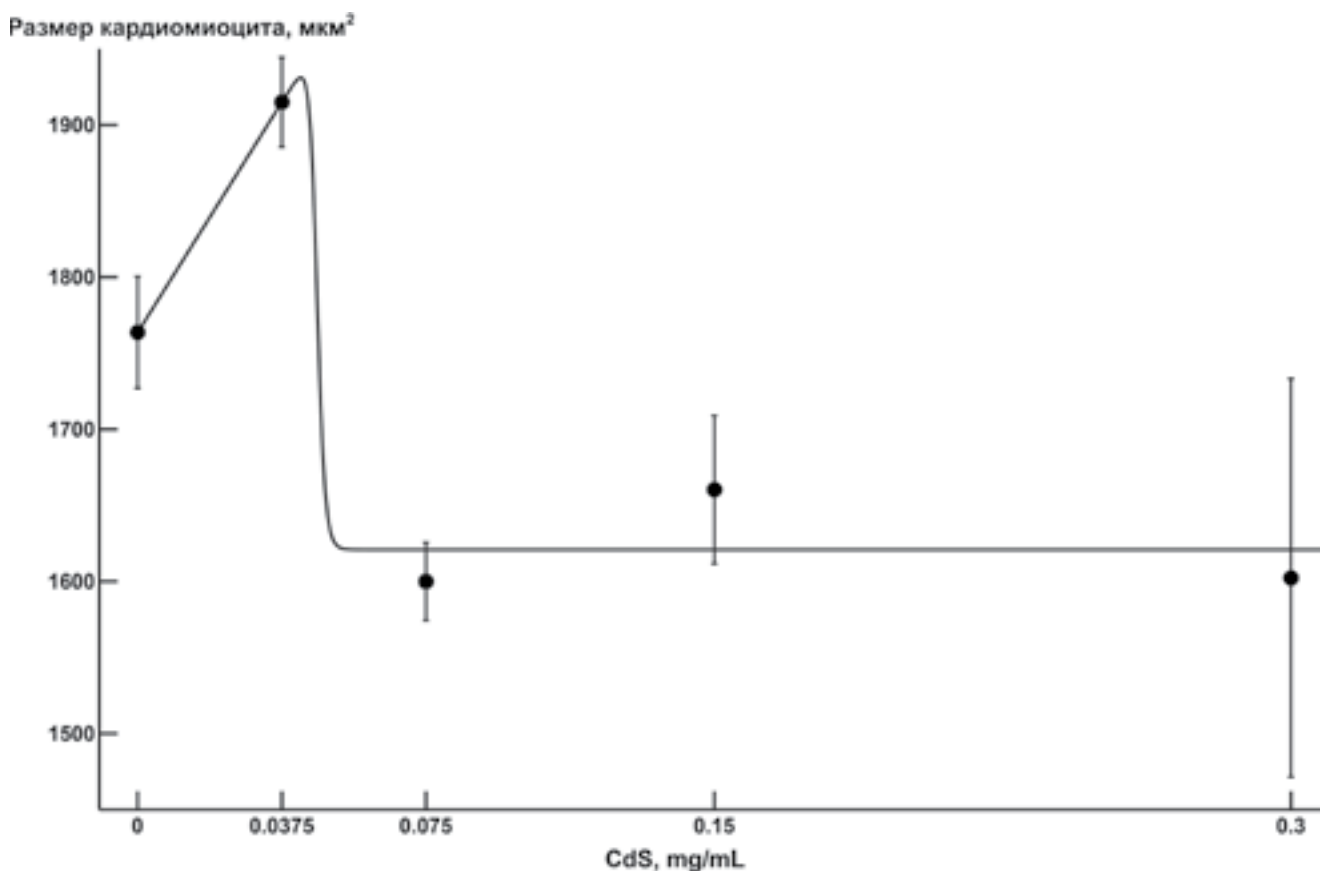


Рис. 4. Изменение АТФ-зависимой люминесценции культуры кардиомиоцитов линии HL-1 (в % к контрольному показателю, средний результат ± стандартная ошибка) при увеличении концентрации наночастиц PbS в среде инкубации. Аппроксимирующая эту зависимость кривая соответствует уравнению
$$y = \frac{92.210(2.072x^{1.967} + x^{1.223} + 0.981)}{(x^{1.011} + 0.733)(x^{1.223} + 1.23)}$$
.

Коэффициент корреляции между модельными и экспериментальными точками R = 0.89.

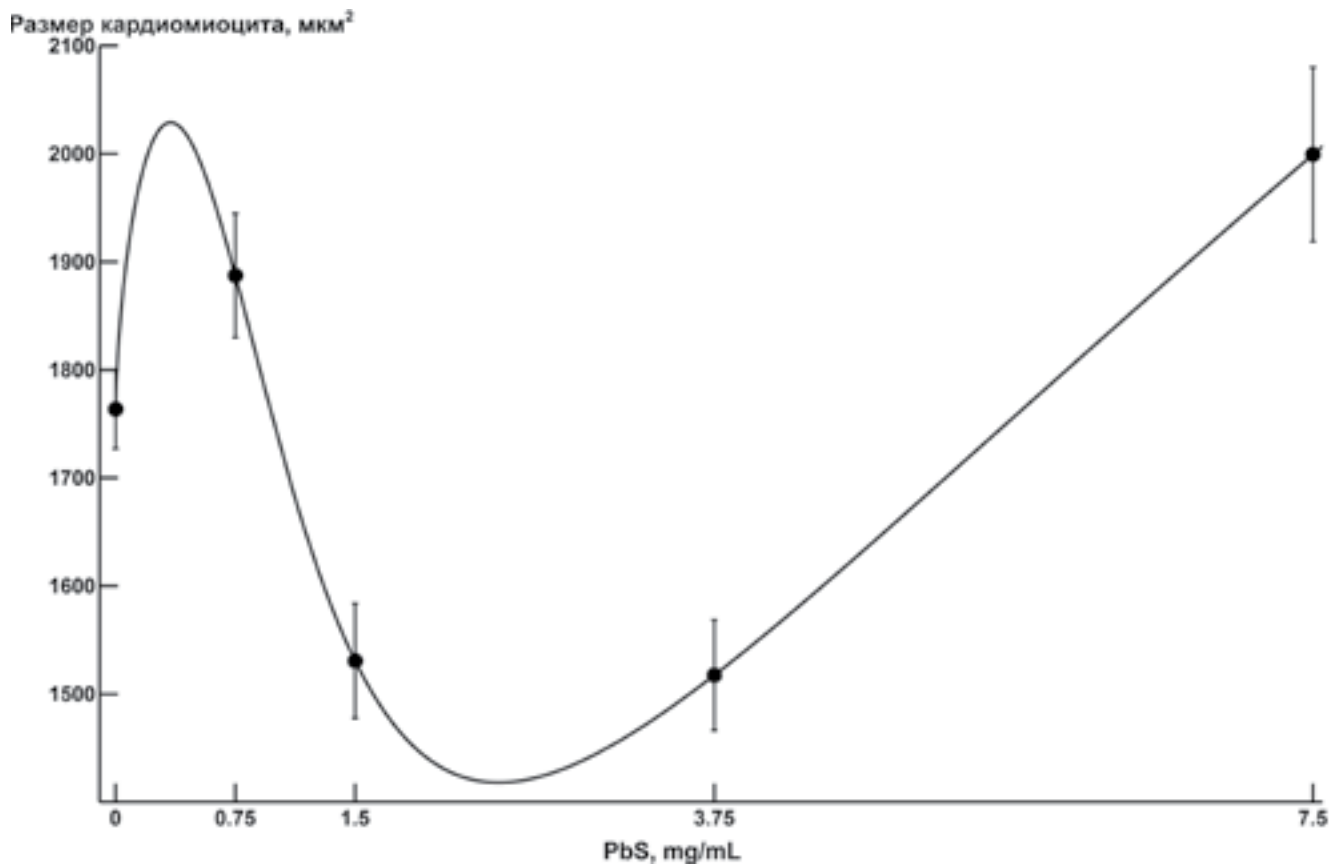


Рис. 5. Зависимость изменения средней площади (\pm стандартная ошибка) кардиомиоцитов линии HL-1 (μm^2) от концентрации наночастиц PbS в среде инкубации. Аппроксимирующая эту зависимость кривая соответствует уравнению $y = (0.679x^{0.658} + 1) \left(\frac{1188.76 - 411.346x^{0.742}}{0.663x^{2.250} + 1} + 572.556 \right)$.

Коэффициент корреляции между модельными и экспериментальными точками $R = 0.92$.

показателя, которая характеризуется противоположной направленностью ответа в смежных диапазонах уровня воздействия химических веществ, биологических молекул, физических стрессоров или любых других инициаторов ответа»

Косвенным свидетельством неоднозначности понятия «гормезис» даже в его традиционном понимании, является находимое в литера-

туре большое число математических моделей, дающих его аналитическое выражение по данным разных экспериментов [10-17]. Вместе с тем, ни одна из предлагавшихся моделей не может описать проявления гормезиса в предложенном нами обобщённом понимании. Для последнего нами предлагаются следующие функции,

$$y = \left(b_0 + \frac{b_1 + b_2 x^{b_3}}{1 + (b_4 x)^{b_5}} \right) (1 + b_6 x^{b_7}) = b_0 + b_0 b_6 x^{b_7} + \frac{b_1 + b_2 x^{b_3} + b_1 b_6 x^{b_7} + b_2 b_6 x^{b_3 + b_7}}{1 + (b_4 x)^{b_5}}$$

и

$$y = \frac{b_0 + \frac{b_1 + b_2 x^{b_3}}{1 + (b_4 x)^{b_5}}}{1 + b_6 x^{b_7}} = \frac{b_0 + b_1 + b_0 (b_4 x)^{b_5} + b_2 x^{b_3}}{(1 + b_6 x^{b_7}) (1 + (b_4 x)^{b_5})}$$

конкретное применение которых иллюстрировано примерами, приведенными выше в подрисуночных текстах.

В заключение этой статьи, которую мы хотели бы предложить читателю как предмет научной дискуссии, основные её положения представлены в графической форме:



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голубев А.А., Люблина Е.И., Толоконцев Н.А., Филов В.А. «Количественная токсикология», Л-д: «Медицина», 1973, 288 С.
2. Курляндский Б.А. и Филов В. А. (ред.) «Общая токсикология», М.: «Медицина», 2002, 608 С.
3. Calabrese E.J. The Emergence of the Dose-Response Concept in Biology and Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 2034. DOI: 10.3390/ijms1712203.
4. Southam CM, Ehrlich J. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology.* 1943; 33: 517-524.
5. Calabrese E.J. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO Rep.* 2004 Oct; 5(Suppl 1): S37-S40.
6. Panov V.G, Minigalieva I.A., Bushueva T.V., Fröhlich E., Meindl C., Absenger-Novak

- M., Shur V.Ya., Shishkina E.V., Gurvich V. B., Privalova L.I., Katsnelson B.A. Some peculiarities in the dose-dependence of separate and combined in vitro cardiotoxicity effects induced by CdS and PbS nanoparticles with special attention to hormesis manifestations. *Dose - Response*, 2020 (in press).
7. Kendig E.L., Le H.H., Belcher S.M. Defining Hormesis: Evaluation of a Complex Concentration Response Phenomenon. *Int. J. Toxicol.* 2010; 29(3): 235-246. DOI: 10.1177/1091581810363012
8. Choi VW, Yum EH, Konishi T, Oikawa M et al. Triphasic low-dose response in zebrafish embryos irradiated by microbeam protons. *J Radiat Res.* 2012;53(3):475-81.
9. Kong EY, Cheng SH, Yu KN. Biphasic and triphasic dose responses in zebrafish embryos to low-dose 150 kV X-rays with different levels of hardness. *J Radiat*

- Research. 2016; 57(4): 363-369. DOI: 10.1093/jrr/rw026.
10. Tang S, Liang J, Xiang C et al. A general model of hormesis in biological systems and its application to pest management. *J. R. Soc. Interface* 16: 20190468. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2019.0468>.
11. Belz RB, Piepho HP. Statistical modeling of the hormetic dose zone and the toxic potency completes the quantitative description of hormetic dose responses. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014; 34(5): 1169-1177.
12. Radak Z, Ishihara K, Tekus E et al. Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology.* 2017;(12): 285-290. DOI: 10.1016/j.redox.2017.02.015.
13. Nweke CO, Ogbonna CJ. Statistical models for biphasic dose-response relationships (hormesis) in toxicological

- studies. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 2017; 12(1): 39-55. DOI: 10.5132/eec.2017.01.06.
14. Huang YJ, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy – an update. *Dose-Response.* 2011; 9:602-618.
15. Brain P, Cousens R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. *Weed Research.* 1989; 29: 93-96.
16. Cedergreen N, Ritz C, Streibig JC. Improved empirical models describing hormesis. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005; 24(12): 3166-3172. DOI: 10.1897/05-014.
17. Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D. Dose-Response Analysis Using R. *PLoS ONE.* 2015; 10(12): e0146021. DOI:10.1371/journal.pone.0146021.

REFERENCES:

1. Golubev A. A., Lublin E. I., Tolokontsev N. A., Filov V. A. "Quantitative toxicology", L-d: "Medicine", 1973, 288 P. (in Russian)
2. Kurlandsky B. A. and Filov V. A. (ed.) "General toxicology", Moscow: "Medicine", 2002, 608 P. (in Russian)
3. Calabrese E.J. The Emergence of the

- Dose-Response Concept in Biology and Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 2034. DOI: 10.3390/ijms1712203.
4. Southam CM, Ehrlich J. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology.* 1943; 33: 517-524.

5. Calabrese E.J. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO Rep.* 2004 Oct; 5(Suppl 1): S37-S40.
6. Panov V.G, Minigalieva I.A., Bushueva T.V., Fröhlich E., Meindl C., Absenger-Novak M., Shur V.Ya.,

- Shishkina E.V., Gurvich V. B., Privalova L.I., Katsnelson B.A. Some peculiarities in the dose-dependence of separate and combined in vitro cardiotoxicity effects induced by CdS and PbS nanoparticles with special attention to hormesis manifestations. *Dose -*

Response, 2020 (in press).

7. Kendig E.L., Le H.H., Belcher S.M. Defining Hormesis: Evaluation of a Complex Concentration Response Phenomenon. *Int. J. Toxicol.* 2010; 29(3): 235-246. DOI: 10.1177/1091581810363012.

8. Choi VW, Yum EH, Konishi T, Oikawa M et al. Triphasic low-dose response in zebrafish embryos irradiated by microbeam protons. *J Radiat Res.* 2012;53(3):475-81.

9. Kong EY, Cheng SH, Yu KN. Biphasic and triphasic dose responses in zebrafish embryos to low-dose 150 kV X-rays with different levels of hardness. *J Radiat*

Research. 2016; 57(4): 363-369. DOI: 10.1093/jrr/rw026.

10. Tang S, Liang J, Xiang C et al. A general model of hormesis in biological systems and its application to pest management. *J. R. Soc. Interface* 16: 20190468. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2019.0468>.

11. Belz RB, Piepho HP. Statistical modeling of the hormetic dose zone and the toxic potency completes the quantitative description of hormetic dose responses. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014; 34(5): 1169-1177.

12. Radak Z, Ishihara K, Tekus E et al.

Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology.* 2017;(12): 285-290. DOI: 10.1016/j.redox.2017.02.015.

13. Nweke CO, Ogbonna CJ. Statistical models for biphasic dose-response relationships (hormesis) in toxicological studies. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 2017; 12(1): 39-55. DOI: 10.5132/eec.2017.01.06.

14. Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy - an update. *Dose-Response.* 2011; 9:602-618.

15. Brain P, Cousens R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. *Weed Research.* 1989; 29: 93-96.

16. Cedergreen N, Ritz C, Streibig JC. Improved empirical models describing hormesis. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005; 24(12): 3166-3172. DOI: 10.1897/05-014.

17. Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D. Dose-Response Analysis Using R. *PLoS ONE.* 2015; 10(12): e0146021. DOI:10.1371/journal.pone.0146021.

V.G. Panov, I.A. Minigalieva, T.V. Bushueva, L.I. Privalova, S.V. Klinova, V.B. Gurvich, M.P. Sutunkova, B.A. Katsnelson

ON THE MEANING OF THE TERM «HORMESIS» AND ITS PLACE IN THE GENERAL THEORY OF THE DEPENDENCE OF THE BODY'S RESPONSE TO POTENTIALLY HARMFUL EFFECTS ON ITS STRENGTH

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

Spherical nanoparticles (NP) of cadmium and lead sulfides (dia. 37 ± 5 nm and 24 ± 4 nm, respectively) turned to be cytotoxic for HL-1 cardiomyocytes as illustrated by ATP-dependent luminescence reduction. It was revealed, that CdS-NP affect in a greater degree than PbS-NP. In view of the same dose range, CdS-NP decreased the amount of calcium spikes. Small PbS-NP doses showed the same effect. Besides cell hypertrophy due to certain CdS-NP and PbS-NP impact, doses leading to cardiomyocyte decrease were revealed. In order to correspond with the following three results, both monotonic «dose-response» functions (properly approximated by the hyperbolic function) as well as different variants of non-monotonic ones were deduced by us, for which adequate mathematical expressions through modifying certain hormesis models are to be had in literature. Evidence-based analysis involving response surface linear model as well as a cross term, acknowledged a new support to the formerly inflexible rule stating that the diversity kinds of combined action, typical for the same damaging agents' pair is of the fundamental propositions in the general theory of combined toxicity.

Keywords: dose-response, nanoparticles, experiment in vitro, mathematical model.

Quote: V.G. Panov, I.A. Minigalieva, T.V. Bushueva, L.I. Privalova, S.V. Klinova, V.B. Gurvich, M.P. Sutunkova, B.A. Katsnelson. On the meaning of the term «hormesis» and its place in the general theory of the dependence of the body's response to potentially harmful effects on its strength. *Toxicological Review.* 2020; 5:2-9

Материал поступил в редакцию 26.03.2020 г.



ПРАВОВЫЕ И БИОЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В НАУЧНЫХ ЦЕЛЯХ

Д.А. Лебедева, Ю.А. Щеглов

Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», 101000, г. Москва, Российская Федерация

Работа посвящена исследованию современных биоэтических представлений о возможности использования экспериментальных животных в научных целях, а также изучению особенностей правового регулирования в данной сфере. Изначально авторы представляют краткий экскурс в историю отношения к использованию экспериментальных животных, затем раскрывают современное содержание концепции этичного отношения к экспериментальным животным. Авторы анализируют Директиву ЕС о защите животных, использующихся в экспериментальных целях, а также акты ЕАЭС и подзаконные акты участников Евразийского экономического союза на предмет соответствия стандартам биоэтики и приходят к выводу о необходимости создания в рамках ЕАЭС наднационального акта, регулирующего отношения в сфере использования экспериментальных животных в научных целях.

Ключевые слова: биоэтика, экспериментальные животные, усовершенствование, сокращение, замещение, ЕАЭС.

Цит: Д.А. Лебедева, Ю.А. Щеглов. Правовые и биоэтические аспекты использования экспериментальных животных в научных целях. Токсикологический вестник. 2020; 5:10-15

Вопросы, связанные с определением границ возможного использования экспериментальных животных в научных целях, являются одними из ключевых в биоэтике. Использование животных в научных экспериментах известно еще как минимум со времен Античности. При этом в XVIII-XIX веках, с развитием в первую очередь медицинской науки, использование животных в экспериментах приобрело массовый характер [13]. В силу того, что анестетики не были широко распространены, вивисекция (проведение прижизненных хирургических операций над животным) проводилась в условиях отсутствия какого-либо обезболивающего воздействия на организм животного. Данный факт вызывал протест со стороны многих представителей общественности, к числу которых можно отнести Александра Поупа, опубликовавшего в 1713 году эссе «Против варварского отношения к животным» (англ. *Against Barbarity to Animals*). В XIX веке британский физиолог и один из родоначальников неврологии Маршалл Холл предложил при проведении научных экспериментов с использованием животных руководствоваться следующими принципами:

1) отсутствие альтернативы использованию животных;

2) наличие ясно сформулированной цели исследования;

3) воздержание от проведения двойной работы;

4) необходимость минимизации страданий животного;

5) полная и детализированная публикация результатов исследования.

Первый в мире законодательный акт, регулирующий использование экспериментальных животных, был принят британским парламентом в 1876 году (англ. *Cruelty to Animals Act*) [10]. Параграф 3.3 Акта предусматривал необходимость применения анестетиков при проведении экспериментов с использованием животных, параграф 3.4. предписывал убивать животных после проведения эксперимента в случае нанесения экспериментом серьезных увечий животному, а параграф 3.5. запрещал проведение эксперимента в качестве иллюстрации к лекции на медицинских факультетах, в госпиталях или колледжах. Кроме того, Акт устанавливал необходимость лицензирования деятельности по проведению экспериментов с использованием животных.

Современный облик концепция этичного отношения к использованию экспериментальных животных в научных целях приобрела уже в XX веке. В 1959 году британские исследователи Уи-

Лебедева Диана Альбертовна (*Lebedeva Diana Albertovna*), Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», г. Москва, lebedevady@yandex.ru;

Щеглов Юрий Александрович (*Shcheglov Yuriy Aleksandrovich*), Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», г. Москва, shchelovyuriy@gmail.com

льям Рассел и Рекс Берч опубликовали работу «Принципы гуманного проведения экспериментов» (англ. The Principles of Humane Experimental Technique), в которой они разработали концепцию «Трех «Р»» (англ. «3Rs»), где каждой из букв соответствовал принцип гуманного отношения к использованию животных в научных экспериментах [15]:

1) принцип совершенствования практики использования животных с целью минимизации болевых ощущений, стресса и других негативных эффектов (англ. refinement);

2) принцип замещения животных в экспериментах неживыми альтернативами во всех случаях, когда такая замена возможна (англ. replacement);

3) принцип сокращения количества используемых в экспериментах животных до возможного минимума (англ. reduction).

Как отмечает Эндрю Найт, необходимость соответствия принципу «трех «Р»» (несмотря на различия в интерпретации содержания каждого из принципов) сегодня рассматривается в качестве фундаментального правила в практике использования экспериментальных животных в научных целях [15].

Развитие биоэтики и осознание необходимости гуманного отношения к животным послужили основой для принятия ряда международных актов, направленных на защиту прав животных. Так, в соответствии с ч. 1 ст. 8 Всемирной декларации прав животных, «эксперименты на животных, вызывающие их физическое или психологическое страдание, нарушают права животных» [4]. Более детально биоэтические аспекты использования экспериментальных животных в научных целях были урегулированы в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [5].

Если же говорить о принципах замещения, сокращения и усовершенствования, то они также получили прямое нормативное закрепление в ряде национальных и международных актов. В частности, они напрямую упоминаются в п. 11 преамбулы к Директиве ЕС о защите животных, использующихся в экспериментальных целях, принятой в 2010 году, и подробно раскрываются в ст. 4 Директивы [11]. В п. 2 преамбулы содержится ссылка на статью 13 Договора о функционировании Европейского союза, закрепляющую значение благополучия животных для политики ЕС. Действие Директивы распространяется на позвоночных животных (за исключением человекообразных), а также на цефалоподов (головоногих). Ст. 5 Директивы содержит закрытый перечень целей, ради которых могут проводиться процедуры с использованием экспериментальных животных. Так, экспериментальные

животные могут использоваться в фундаментальных исследованиях, в трансляционных (англ. translational) исследованиях (если такие исследования соответствуют целям диагностики, предотвращения и лечения заболеваний, изучения физиологических состояний человека, животных или растений, а также целям улучшения благосостояния животных и условий их содержания), в целях защиты окружающей среды и улучшения благосостояния животных и человека, в исследованиях, направленных на сохранение биологических видов, в целях получения высшего образования или совершенствования профессиональных навыков, а также в целях судебной экспертизы [11].

Ст. 6 Директивы предписывает государствам ЕС гарантировать, что эвтаназия экспериментальных животных будет проведена с минимальным причинением животному боли и страданий. Кроме того, Директива допускает проведение эвтаназии исключительно компетентным в данных вопросах лицом. Также Директива достаточно подробно регламентирует вопросы использования отдельных категорий животных в экспериментах. Так, в частности, документ содержит запрет на использование животных – представителей видов, находящихся под угрозой исчезновения, за исключением случаев, когда цель исследования не может быть достигнута без использования животных – представителей соответствующих видов, а также в случаях, когда целями исследования являются предотвращение и лечение заболеваний. Аналогичные правила действуют относительно возможности использования нечеловекообразных приматов, при этом в силу наличия определенных сходств в функционировании организма человека и нечеловекообразных приматов к списку исключений добавлена возможность использования нечеловекообразных приматов в исследованиях во избежание возникновения у человека состояний, нарушающих процесс нормального функционирования его организма. Если же говорить о человекообразных обезьянах, то их использование в процедурах по общему правилу запрещено. При этом оно может быть временно разрешено, если у государства Европейского союза существует необходимость принятия мер для сохранения видов или борьбы со вспышкой угрожающей жизни эпидемии, а также в некоторых других случаях, при этом соответствующая необходимость должна быть научно обоснованной, а невозможность проведения соответствующих исследований без участия человекообразных обезьян – доказанной [11].

Подобные ограничения распространяются и на животных, выловленных в дикой природе, а также на беспризорных и одичавших животных.

В целом же можно заключить, что Директива допускает полноценное использование в экспериментах только специально выведенных в научных целях животных, устанавливая при этом целый ряд требований к условиям их содержания.

В соответствии с положениями Директивы, при проведении исследований с использованием экспериментальных животных следует исходить из необходимости использования минимального числа животных (очередная отсылка к принципу сокращения), использовать животных с минимальной способностью испытывать боль, а также стараться минимизировать боль, страдания и эффекты, оказывающие негативное воздействие на здоровье животного. Кроме того, Директива устанавливает необходимость избегать смерти животного как финального этапа эксперимента и предписывает заменять ее более гуманными способами. Если же смерть животного неизбежна, то интенсивность предшествующих ей страданий должна быть сокращена до возможного минимума, а сама смерть должна быть безболезненной. Также Директива устанавливает необходимость применения анестезии при проведении процедур, которые могут вызвать сильную боль, при этом при принятии решения о применении анестезии необходимо выяснить, не является ли применение анестезии более травмирующим, чем сама процедура, а также определиться с совместимостью применения анестезии с целями процедуры.

Ст. 15 Директивы содержит классификацию проводимых с экспериментальными животными процедур по четырем степеням тяжести: «без выхода из наркоза», «легкие», «умеренные» и «тяжелые». При этом повторное использование одного и того же животного допустимо только в том случае, если проводимые ранее процедуры классифицировались как «легкие» или «умеренные». Кроме того, повторное использование животного допустимо при условии, что животное полностью восстановилось после более ранних процедур, а проведение повторных процедур согласовано с ветеринарным врачом.

Помимо этого, Директива устанавливает целый ряд требований к квалификации и поведению персонала, выполняющего обязанности по подготовке и проведению процедур с участием экспериментальных животных, а также осуществляющего функции по уходу за ними. Так, в частности, лица, в чьи обязанности входит планирование процедур с использованием экспериментальных животных, должны пройти обучение по соответствующей научной дисциплине и обладать знаниями об особенностях функционирования животных, с которыми они работают. Также, в соответствии с положениями Директивы, каждый заводчик, поставщик или пользователь экспериментальных животных, используемых в

научных целях, обязан иметь в штате сотрудников, которые отвечают за содержание животных в соответствующем учреждении и осуществляют уход за ними, обеспечивают сотрудников, непосредственно работающих с экспериментальными животными, информацией об особенностях функционирования данных животных, а также отвечают за обучение и повышение квалификации данных сотрудников. Кроме того, каждый заводчик, поставщик или пользователь экспериментальных животных, используемых в научных целях, обязан иметь в своем штате ветеринарного врача, а также группу, занимающуюся благополучием экспериментальных животных.

Положениями Директивы регулируются и вопросы учета экспериментальных животных, правила маркировки и идентификации собак, кошек и нечеловекообразных приматов, а также требования к содержанию экспериментальных животных и уходу за ними. В частности, государства Европейского союза обязаны гарантировать, что все экспериментальные животные содержатся в надлежащих условиях, им предоставляется необходимая пища и уход, соответствующий их видовым особенностям и состоянию здоровья, при этом все ограничения, не позволяющие животным полноценно удовлетворять свои физиологические потребности, должны быть минимизированы, условия содержания животных должны ежедневно проверяться и улучшаться при наличии каких-либо несоответствий установленным стандартам.

Кроме того, важно отметить, что требования, установленные Директивой, являются минимальным стандартом должного поведения и государства ЕС обладают широкой степенью дискреции в возможности установления более строгих норм относительно использования экспериментальных животных в научных целях.

Подводя итог анализу Директивы, стоит отметить достаточно высокую степень подробности регуляций и высокий уровень экспертизы при ее подготовке. На наш взгляд, авторы Директивы, исходя из того, что на сегодняшний день полный запрет на использование экспериментальных животных невозможен, при этом привели наднациональные регуляции в соответствие с современными биоэтическими стандартами, попытавшись в максимально возможной степени соблюсти баланс научных интересов и необходимости гуманного отношения к животным.

Если же говорить о Евразийском экономическом союзе, основные цели создания которого аналогичны целям создания ЕС (региональная экономическая интеграция, свободное движение людей, товаров и услуг), то важно отметить, что на уровне Союза отсутствует документ, по юридической силе аналогичный рассмотренной ранее

Директиве ЕС для стран-участниц Европейского союза, который с достаточной степенью подробно регулировал бы вопросы использования экспериментальных животных в научных целях. В отличие от Договора о создании ЕС, в Договоре о Евразийском экономическом союзе [2] отсутствует норма, закрепляющая значение благополучия животных для политики ЕАЭС. При этом в Договоре содержатся нормы, подтверждающие значимость благополучия животных для сторон Договора. Так, в частности, в соответствии с положениями п. 1 ст. 52 Договора, в рамках Союза могут приниматься технические регламенты, целью которых в числе прочего будет являться защита жизни и здоровья животных. Кроме того, значение жизни и здоровья животных упоминается в положениях, регулирующих общие принципы применения санитарных, ветеринарно-санитарных и карантинных фитосанитарных мер [2]. Однако Договор не содержит отдельных регулиций относительно вопросов использования экспериментальных животных в научных целях. Подтверждение приверженности стран – членов Евразийского экономического союза современным биоэтическим стандартам содержится в Меморандуме о взаимопонимании между Евразийской экономической комиссией и Всемирной организацией здравоохранения животных [9], в котором Евразийская экономическая комиссия выразила готовность к «взаимодействию в рамках осуществления Всемирной организацией здравоохранения животных деятельности по разработке и обновлению международных стандартов, касающихся здоровья и благополучия животных». При этом данный документ носит декларативный характер и не создает прав и обязанностей для сторон. Кроме того, общие формулировки без дальнейшей конкретизации в специальных актах неспособны сформировать единообразный подход к их реализации.

Однако в 2019 году коллегия Евразийской экономической комиссии приняла решение «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов», в котором была закреплена необходимость сокращения использования экспериментальных животных в научных целях в соответствии с принципами «Трех Р» [8]. Данный факт позволяет говорить о том, что страны-участницы Евразийского экономического союза заинтересованы в совместном совершенствовании нормативного регулирования в области использования экспериментальных животных в научных целях и разделяют приверженность современным биоэтическим стандартам.

Также стоит отметить, что на уровне государств-участников Евразийского экономиче-

ского союза существуют акты, регулирующие вопросы использования экспериментальных животных в научных целях.

Так, например, п. «е.5» ч. 1 ст. 114 Конституции Российской Федерации (включенный в текст Конституции в соответствии с изменениями, одобренными в ходе общероссийского голосования 01.07.2020) в качестве одного из полномочий Правительства Российской Федерации устанавливает осуществление мер, «направленных на создание благоприятных условий жизнедеятельности населения, снижение негативного воздействия хозяйственной и иной деятельности на окружающую среду, сохранение уникального природного и биологического многообразия страны, формирование в обществе ответственного отношения к животным» [1]. За жестокое обращение с животными законодательством Российской Федерации предусмотрена уголовная ответственность [7].

В 2018 году в Российской Федерации был принят Федеральный закон об ответственном обращении с животными [6]. При этом нормы данного закона не распространяются на отношения в области содержания и использования лабораторных животных [3]. Требования к содержанию и разведению объектов животного мира содержатся в ст. 26 Федерального закона «О животном мире», однако они распространяются только на диких животных [6]. В основном же деятельность, связанная с использованием экспериментальных животных, регулируется рядом подзаконных актов. В частности, Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2015 г. N 1733-ст введен межгосударственный стандарт ГОСТ 33216-2014, устанавливающий правила ухода и содержания за лабораторными грызунами и кроликами. В соответствии с положениями стандарта, при обращении с животными необходимо стремиться к тому, чтобы причинять животным наименьшие страдания и не нарушать условия их содержания [16]. Кроме того, отдельные документы регулируют вопросы использования нечеловекообразных приматов, рыб, амфибий, рептилий, а также вопросы эвтаназии экспериментальных животных [17-19]. При этом, как отмечает ряд исследователей, объем и содержание описанных выше подзаконных актов не отвечают задачам регулирования всех аспектов использования экспериментальных животных в научных целях [12].

Говоря о требованиях, установленных к порядку проведения лабораторных процедур, следует упомянуть ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», принятый с целью привести отечественное регулирование в соответствие с аналогичным по названию документом, принятым Организацией экономического сотрудничества и развития [20]. ГОСТ

достаточно подробно регламентирует вопросы, связанные с подготовкой плана исследования, устанавливает требования к отчетности и хранению данных о ходе проведения исследования, к условиям содержания животных и обращения с ними.

Важно отметить, что описанные выше стандарты были приняты Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (орган СНГ), и за их принятие проголосовали Азербайджан, Беларусь, Казахстан, Киргизия, Молдова и Россия (а в случае с ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» - также Армения). Данные стандарты были приняты до вступления в силу Договора о создании Евразийского экономического союза, при этом на сегодняшний день большая часть из них является действующей в большинстве стран – членов ЕАЭС, а некоторые – во всех странах. Таким образом, можно говорить об определенной степени единства правового пространства в вопросах регулирования использования экспериментальных животных. При этом, на наш взгляд, для более эффективной интеграции в рамках Евразийского экономического союза необходимо принятие единого соглашения, регулирующего вопросы использования экспериментальных животных в научных целях.

Кроме того, стоит отметить, что в подзаконных актах, регулирующих вопросы, связанные с использованием экспериментальных животных на уровне стран-участников Евразийского экономического союза, ясно не определен круг животных, которые могут или не могут быть использованы в научных целях. По нашему мнению, подход, в соответствии с которым по общему правилу допустимо полноценное использование в экспериментах только специально выведенных для соот-

ветствующих целей животных, представляется в большей степени соответствующим современным биоэтическим стандартам, поскольку животные, лишенные естественной среды обитания, будут неизбежно испытывать дистресс, что противоречит принципу усовершенствования, который, наряду с принципами сокращения и замещения, также должен быть нормативно закреплён, поскольку данные принципы предполагают установление достаточно обширного перечня гарантий защиты животных от возможных негативных эффектов проводимых с их использованием исследований.

Таким образом, анализ наднациональных и внутренних актов государств-участников ЕАЭС, регулирующих различные аспекты использования экспериментальных животных в научных целях, позволяет сделать вывод о том, что страны, входящие в состав Евразийского экономического союза стремятся усовершенствовать практику проведения исследований с участием лабораторных животных. Однако в странах ЕАЭС регулирование в данной области носит фрагментированный характер, тогда как полноценное приведение законодательств стран – членов Евразийского экономического союза в соответствие с современными биоэтическими стандартами возможно только в случае принятия единого наднационального акта (включающего в себя и требования к содержанию животных, и принципы надлежащей лабораторной практики, а также выраженные в формализованных установлениях биоэтические нормы), который бы в максимально подробной степени регулировал вопросы использования экспериментальных животных в научных целях с учетом принципов замещения, сокращения и усовершенствования, оставляя при этом за государствами-участниками ЕАЭС определенную степень дискреции в возможности ужесточения требований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. «Конституция Российской Федерации» (принята всенародным голосованием 12.12.1993 с изменениями, одобренными в ходе общероссийского голосования 01.07.2020).
2. Договор о Евразийском экономическом союзе (Подписан в г. Астане 29.05.2014) (ред. от 15.03.2018).
3. Федеральный закон от 27.12.2018 N 498-ФЗ (ред. от 27.12.2019) «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации».
4. Universal declaration of animal rights (15 October 1978). Solemnly proclaimed in Paris on 15 October 1978 at the UNESCO headquarters.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. (ETS No.123).
6. Федеральный закон от 24.04.1995 N 52-ФЗ (ред. от 24.04.2020) «О животном мире».
7. Уголовный кодекс Российской Федерации от 13.06.1996 N 63-ФЗ (ред. от 08.06.2020).
8. Решение коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 года N 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».
9. Меморандум о взаимопонимании между Евразийской экономической комиссией и Всемирной организацией здравоохранения животных от 10.01.2014.
10. An Act to amend the Law relating to Cruelty to Animals of 15 August 1876.
11. European Union. (2010) Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.
12. Мохов А.А., Мурашев А.Н., Красильщикова М.С., Хохлова О.Н., Семушина С.Г., Рассказова Е.А., Ржевский Д.И., Попов В.С., Яворский А.Н. О необходимости совершенствования законодательства в сфере использования лабораторных животных. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2016; (4): 62-68.
13. The ethics of research involving animals. London: Nuffield Council on Bioethics; 2005.
14. Rupke N.A. Vivisection in Historical Perspective. London and New York: Croon-Helm; 1987.
15. Reviewed Works: The Three Rs and the Humanity Criterion: An Abridged Version of The Principles of Humane Experimental Technique by W. M. S. Russell and R. L. Burch and Michael Balls Review by: Andrew Knight. Journal of Animal Ethics. 2012; 2(1): 107-109.
16. ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». М.: Стандартинформ, 2019.
17. ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». М.: Стандартинформ, 2019.
18. ГОСТ 33218-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными приматами». М.: Стандартинформ, 2019.
19. ГОСТ 33219-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за рыбами, амфибиями и рептилиями». М.: Стандартинформ, 2019.
20. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». М.: Стандартинформ, 2019.

REFERENCES:

1. "The Constitution of the Russian Federation" (adopted by popular vote on 12. December 1993 with amendments approved during the all-Russian vote on 01 July 2020) (in Russian).
2. Treaty on the Eurasian Economic Union of 29 May 2014 (last amended on 15 March 2018) (in Russian).
3. Federal Law No. 498-FZ of 27 December 2018 (as amended on 27 December 2019) On Responsible Treatment to Animals and Amending Certain Legislative Acts of the Russian Federation (in Russian).
4. Universal declaration of animal rights of 15 October 1978. Solemnly proclaimed in Paris on 15 October 1978 at the UNESCO headquarters.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. (ETS No. 123).
6. Federal Law of 24 April 1995 N 52-FZ (as amended on 24 April 2020) On the Animal world (in Russian).
7. The Criminal Code of the Russian Federation of 13 June 1996 N 63-FZ (as amended on 08 June 2020) (in Russian).
8. Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission of 26 November 2019 N 202 On approval of the Guidelines for preclinical safety studies for the purpose of conducting clinical trials and registration of medicines (in Russian).
9. Memorandum of Understanding between the Eurasian Economic Commission and the World Organization for Animal Health of 10 January 2014.
10. An Act to amend the Law relating to Cruelty to Animals of 15 August 1876.
11. European Union. (2010) Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.
12. Mohov A.A., Murashev A.N., Krasil'shchikova M.S., Hohlova O.N., Semushina S.G., Rasskazova E.A., Rzhetskij D.I., Popov V.S., Yavorskij A.N. On the Need to Improve the Legislation On Laboratory Animals. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medical Products: 2016; (4): 62-68 (in Russian).
13. The ethics of research involving animals. London: Nuffield Council on Bioethics; 2005.
14. Rupke N.A. Vivisection in Historical Perspective. London and New York: Croon-Helm; 1987.
15. Reviewed Works: The Three Rs and the Humanity Criterion: An Abridged Version of The Principles of Humane Experimental Technique by W. M. S. Russell and R. L. Burch and Michael Balls Review by: Andrew Knight. Journal of Animal Ethics. 2012; 2(1): 107-109.
16. State Standard 33216-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. Moscow.: Standardinform Publ., 2019 (in Russian).
17. State Standard 33215-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipment of premises and procedures. Moscow.: Standardinform Publ., 2019 (in Russian).
18. State Standard 33218-2014. Guide for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of non-human primates. Moscow.: Standardinform Publ., 2019 (in Russian).
19. State Standard 33219-2014. Guide for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of fish, amphibians and reptiles. Moscow.: Standardinform Publ., 2019 (in Russian).
20. State Standard 33044-2014. Principles of Good Laboratory Practice. Moscow.: Standardinform Publ., 2019 (in Russian).

D.A. Lebedeva, Yu. A. Shcheglov

BIOETHICAL AND LEGAL ASPECTS OF THE USE OF ANIMALS FOR SCIENTIFIC PURPOSES

National Research University Higher School of Economics, 101000, Moscow, Russian Federation

This work scrutinizes modern bioethical concepts of the use of animals for scientific purposes, as well as legal aspects of its use. Initially, the authors present a brief excursion into the history of bioethics and then focus on the modern concept of ethical attitude to the animals used for scientific purposes. The authors analyze the EU Directive on the protection of animals used for scientific purposes, as well as the EAEU acts and by-laws of the EAEU member states, and conclude that it is necessary to adopt a supranational act within the EAEU that will regulate the use of animals for scientific purposes in accordance with the principles of reduction, replacement and refinement.

Keywords: *animals used for scientific purposes, reduction, replacement, refinement, EAEU, bioethics.*

Quote: D.A. Lebedeva, Yu. A. Shcheglov. Bioethical and legal aspects of the use of animals for scientific purposes. Toxicological Review. 2020; 5:10-15

Материал поступил в редакцию 20.07.2020 г.



ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ

А.Ю. Каретникова,
Е.С. Терехина, Н.В. Шляпников,
А.А. Войтович

ФГБОУ ВО Саратовский
государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского
Минздрава РФ, 410012, г. Саратов,
Российская Федерация

Данная статья посвящена гигиенической оценке потенциального риска общетоксических эффектов для здоровья населения Саратовской области вследствие действия загрязняющих веществ (оксид углерода, моно- и диоксид азота, аммиак, пыль, формальдегид) в период лесных пожаров. Актуальность данной работы обусловлена значительной ролью лесных пожаров в загрязнении атмосферы и особой уязвимости Саратовской области к лесным возгораниям. Результаты исследования позволяют судить о значительной роли лесных пожаров в загрязнении воздуха Саратовской области. В регионе наблюдается значительное превышение гигиенически допустимого уровня максимально-разовых и среднесуточных концентраций загрязняющих веществ (моно- и диоксид азота, аммиак, пыль, формальдегид), что создает неблагоприятную экологическую обстановку, способствует развитию и прогрессированию множества заболеваний человека.

Ключевые слова: лесные пожары, атмосферное загрязнение, воздух, здоровье населения, поражение органов дыхания, токсическое воздействие веществ.

Цит: А.Ю. Каретникова, Е.С. Терехина, Н.В. Шляпников, А.А. Войтович. Оценка токсического воздействия загрязнителей атмосферного воздуха Саратовской области в период лесных пожаров. Токсикологический вестник. 2020; 5:16-20

Введение. Благоприятный состав воздушной среды является одним из ключевых составляющих здоровья и благополучия населения во всех странах мира. Загрязнение атмосферного воздуха, являясь фактором риска развития онкологических заболеваний, патологий дыхательной и сердечно-сосудистой систем, представляет собой одну из ключевых проблем современной экологии. При этом наиболее значительное ухудшение качества воздушной среды наблюдается при чрезвычайных ситуациях, одними из которых являются лесные пожары [1, 2].

Лесные пожары – это мощный источник загрязнения атмосферного воздуха, на долю которых, по литературным данным, приходится 20% от числа всех поллютантов [3]. Особую опасность для экологической обстановки представляют вещества, выделяющиеся при горении лесных массивов, 93-99% из них представлены различными газообразными веществами (оксиды углерода, метан, аммиак, оксиды азота, органические угле-

водороды). Многие газообразные вещества обладают раздражающим действием и относятся ко II (формальдегид), III (оксиды азота) и IV (оксиды углерода, аммиак) классам опасности. Превышение предельно допустимых концентраций (ПДК) данных соединений, обладающий высокой степенью токсичности, может привести к ухудшению здоровья населения и развитию общетоксических эффектов, вызвать повреждения слизистых оболочек глаз и дыхательных путей [4].

Основной причиной подавляющего большинства лесных возгораний является антропогенная деятельность человека, однако значительную роль в возникновении пожаров играют неблагоприятные лесорастительные условия, обусловленные малым среднегодовым количеством осадков и резко континентальным климатом, способствующие возникновению, распространению и увеличению площади возгораний [5, 6].

Современные исследователи уделяют значительное внимание влиянию лесных пожаров на

Каретникова Алена Юрьевна (Karetnikova Alena Yuryevna), студент СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, alyona.karetnikova@mail.ru;
Терехина Елена Сергеевна (Terekhina Elena Sergeevna), студент СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, terehinalena2000@gmail.com;
Шляпников Никита Викторович (Shlyapnikov Nikita Viktorovich), студент СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, shlyap.nikita@gmail.com;
Войтович Анна Александровна (Voitovich Anna Aleksandrovna), старший преподаватель кафедры общей гигиены и экологии СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, voitovich.88@mail.ru

здоровье населения различных регионов Российской Федерации [7,8,9], изучая последствия воздействия химических и радиационно опасных веществ [10]. Зарубежными исследователями проводятся аналогичные исследования [11,12]. Однако, риски изменения здоровья населения Саратовской области от воздействия лесных пожаров изучены недостаточно, что определило актуальность и необходимость данного исследования.

Таким образом, целью исследования явилась гигиеническая оценка потенциального риска общетоксических эффектов для здоровья населения Саратовской области вследствие действия загрязняющих веществ в период лесных пожаров.

Материалы и методы исследования. При проведении исследования были проанализированы данные отчетов Федерального агентства лесного хозяйства РФ и Министерства природных ресурсов и экологии Саратовской области, представленные на официальном сайте Федеральной службы государственной статистики, а также показания Приволжского межрегионального территориального управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды в период с апреля по октябрь 2018 года по Саратовской области.

Оценивали площадь, пройденную пожарами по каждому месяцу, предельно допустимые среднесуточные концентрации (ПДКс.с.) и предельно допустимые максимально-разовые концентрации (ПДКм.р.) ряда поллютантов в соответствии с требованиями ГН 2.1.6.3492-17 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений».

Произведена оценка потенциального риска развития общетоксических эффектов при кратковременном ингаляционном поступлении поллютантов по коэффициенту опасности (HQ_{acute}) и индексу опасности (HI_{acute}) с учетом безопасных референтных величин (ARfC) по методике и значениям, изложенным в методических рекомендациях Р 2.1.10.1920-04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду». Если коэффициент опасности (HQ) более единицы, то вероятность возникновения неблагоприятных последствий у человека возрастает пропорционально увеличению данного коэффициента [13,14]. Расчет данных показателей проводили с учётом максимально-разовых концентраций поллютантов в мае 2018 года, так как именно на этот месяц приходится максимальная площадь лесных пожаров и превышение уровня ПДК за весь рассматриваемый период.

Статистическая обработка данных и расчеты производились с использованием пакета электронных таблиц сервиса Microsoft Office Excel.

Для оценки тесноты и формы связи между случаями возгораний за весенне-осенний период и степенью загрязнения воздуха высчитывался коэффициент корреляции по методу Пирсона (r) с проверкой достоверности по t -критерию Стьюдента. При положительных значениях r выявляли прямую связь, при отрицательных – обратную, при $r = 0$ – отсутствие связи. Сила связи оценивалась по значениям коэффициента, при r от 0 до 0,3 связь считалась слабой, от 0,3 до 0,5 – умеренная, 0,5 – 0,7 средняя и выше 0,7 – сильная. Статистически значимыми считались результаты при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В период с апреля по октябрь 2018 года были отмечены следующие показатели горимости в Саратовском регионе: общая площадь, пораженная огнем, имела наибольшее значение в мае (670,6 га) и наименьшее в октябре (2,2 га) (табл. 1).

При анализе значений максимально-разовых концентраций выявлено превышение ПДКм.р. по ряду поллютантов за весь рассматриваемый период: монооксид азота, диоксид азота, аммиак, пыль, формальдегид. Выявлено наличие статистически достоверной связи ($p < 0,05$) между площадью пожаров и максимально-разовыми концентрациями веществ: диоксид азота ($r = 0,58$, средняя связь), аммиак ($r = 0,60$, средняя связь), пыль ($r = 0,57$, средняя связь).

Оценка среднесуточных концентраций загрязняющих веществ в период лесных пожаров позволила выявить превышение ПДКс.с. по ряду соединений: диоксид азота, аммиак, формальдегид (апрель – октябрь 2018 г.), пыль (май - сентябрь 2018 г.). Отмечено наличие статистически значимой связи ($p < 0,05$) между площадью, пройденной пожарами, и среднесуточными концентрациями диоксида азота ($r = 0,47$, слабая связь) и нитрида водорода ($r = 0,55$, средняя связь).

Следует отметить, что отсутствие достоверной корреляции между площадью пожаров и уровнем содержания ряда исследуемых веществ в атмосфере объясняется тем, что их уровень в значительно большей степени зависит от антропогенной деятельности, такой как автотранспорт, работа предприятий, заводов, электростанций. Тем не менее, нельзя исключать влияния лесных возгораний на их концентрацию [13,14,15].

При оценке потенциального риска общетоксических эффектов при кратковременной ингаляционной экспозиции было выявлено превышение безопасного уровня HQ по следующим показателям: оксид азота, аммиак, пыль, формальдегид (табл. 2). Суммарный индекс опасности (HI) за май 2018 года составил 26,07, что в 26 раз больше безопасного значения. При этом полученные в эпидемиологическом исследовании данные позволили определить риск ухудшения здоровья от

Таблица 1

Значения коэффициентов корреляции площади возгораний, ПДКс.с. и ПДКм.р. загрязнителей в Саратовской области (апрель-октябрь 2018 г.)

Месяц Показатели	апрель	май	июнь	июль	Август	сентябрь	октябрь	ПДК (мг/м ³)	Коэффициент корреляции с площадью пожаров
Площадь пожаров (га)	62,3	670,6	489,23	71,78	6,36	151,704	2,2		
с _{с.с.} (оксид углерода) (мг/м ³)	0,80	0,70	0,60	0,70	0,60	0,50	0,50	3,00	0,16 (p=0,07)
с _{м.р.} (оксид углерода) (мг/м ³)	1,10	0,90	1,30	1,60	1,00	1,20	0,70	5,00	-0,01 (p=0,07)
с _{с.с.} (монооксид азота) (мг/м ³)	0,40	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,30	0,06	-0,39 (p=0,05)
с _{м.р.} (монооксидазота) (мг/м ³)	0,30	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,40	0,36 (p=0,06)
с _{с.с.} (диоксид азота) (мг/м ³)	2,00	2,10	1,90	1,80	2,00	1,60	1,60	0,04	0,47 (p=0,05)
с _{м.р.} (диоксид азота) (мг/м ³)	1,90	2,20	2,30	2,30	2,00	2,10	1,70	0,20	0,58 (p=0,03)
с _{с.с.} (аммиак) (мг/м ³)	0,80	1,40	1,30	1,50	1,10	1,00	0,50	0,04	0,55 (p=0,04)
с _{м.р.} (аммиак) (мг/м ³)	0,60	1,60	1,00	1,50	0,90	0,90	0,40	0,20	0,6 (p=0,03)
с _{с.с.} (пыль) (мг/м ³)	0,30	0,70	0,90	0,60	1,00	0,70	0,50	0,15	0,29 (p=0,06)
с _{м.р.} (пыль) (мг/м ³)	0,40	0,60	0,80	0,60	0,60	0,60	0,40	0,50	0,57 (p=0,04)
с _{с.с.} (формальдегид) (мг/м ³)	1,50	1,70	1,90	2,10	2,00	1,90	1,70	0,01	-0,12 (p=0,07)
с _{м.р.} (формальдегид) (мг/м ³)	0,66	0,60	1,40	1,30	0,80	0,80	0,60	0,05	0,13 (p=0,07)

воздействия загрязняющих веществ. При анализе данных выявлено, что наибольший риск общетоксического воздействия на органы дыхания имели такие вещества, как формальдегид, диоксид азота и аммиак. В частности, значительное увеличение концентрации диоксида углерода будет связано с увеличением частоты случаев появления симптомов со стороны дыхательной системы у детей; увеличением частоты и продолжительности заболеваний верхних дыхательных путей [13,14]. Преобладающую роль в риске развития патологий сердечно сосудистой системы и системы крови при ингаляционной экспозиции играл диоксид азота, наименьшую роль – оксид углерода и оксид азота.

Наиболее значимое влияние на формирование риска расстройств органа зрения играло такое соединение, как формальдегид. При этом воздействие аммиака в значительно меньшей степени влияет на суммарный риск по зрительному аппарату.

Важно отметить, что HQ_{acute} для оксида углерода и монооксида углерода меньше единицы, что свидетельствует о незначительной вероятности развития вредных эффектов при хроническом поступлении вещества и такое воздействие характеризуется как допустимое.

Обозначенные превышения по коэффициенту и индексу опасности позволяют свидетельствовать о высоком риске общетоксического

Таблица 2

Оценка потенциального риска неспецифических и системных эффектов при комбинированном поступлении поллютантов для населения Саратовской области (май, 2018 г.)

Показатель	Максимальная разовая концентрация (мг/м ³)	ПДК _{м.р.} (мг/м ³)	ARfC	HQ _{acute}	Критический орган (система)
CO	0,90	3,00	23	0,04	сердечно-сосудистая система (кровь)
NO	0,20	0,06	0,72	0,28	органы дыхания, кровь (образование MetHb)
NO ₂	2,20	0,04	0,47	4,68	органы дыхания, кровь (образование MetHb)
Nh ₃	1,60	0,04	0,35	4,57	органы дыхания, глаза
Формальдегид	0,60	0,01	0,048	12,50	органы дыхания, глаза
Пыль	0,60	0,15	0,15	4,00	органы дыхания
HI органов дыхания				26,03	
HI сердечно-сосудистой системы и системы крови				5	
HI глаза				17,07	
TNI				26,07	

воздействия при кратковременной ингаляционной экспозиции поллютантов лесных пожаров.

Заключение. Выявленная статистически достоверная связь позволяет судить о значительной роли лесных пожаров в загрязнении воздуха Саратовской области. В регионе наблюдается превышение гигиенически допустимого уровня поллютантов, большая часть которых относится к II, III и VI классу опасности, а также превышение безопасного уровня индекса опасности HI. Все это создает неблагоприятную экологическую обстановку, способствует развитию общетоксических эффектов, прогрессирующую многих заболеваний человека, в частности

дыхательной и сердечно-сосудистой систем, а также обострению заболеваний у лиц, находящихся в группе риска (лица с хронической патологией, дети, пожилые люди).

Для решения сложившейся гигиенической обстановки в Саратовской области рекомендовано проведение комплекса мер, направленных как на предотвращение пожаров и максимальное снижение ущерба от последствий возгораний, так и на уменьшение пагубного воздействия поллютантов. В особенности нужно уделить внимание работе с населением, поскольку подавляющее большинство случаев пожаров случаются по причине пренебрежения людьми техники противопожарной безопасности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рукавишников В.С., Ефимова Н.В., Елфимова Т.А. Изучение риска здоровья при кратковременной ингаляционной экспозиции в условиях лесных пожаров. Гигиена и санитария. 2013; 1: 50-52.
2. Самсонов Ю.Н., Беленко О.А., Иванов В.А. Дымовая аэрозольная эмиссия при лесных пожарах в центральной Сибири. Интерэкспо Гео-Сибирь. 2010; 4 (2): 114-118.
3. Чепрасов С.А. Вредные вещества, поступающие в атмосферу при пожарах. Современные технологии обеспечения гражданской обороны и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. 2016; 1 (7): 360-363.
4. Точилкина Н.В. Оценка влияния индекса загрязнения атмосферы на медико-демографические показатели жителей города Саратова. Самарский научный вестник. 2016; 4 (17): С. 65-70.
5. Жилибовская А.Н., Козаченко М.А. Последствия лесных пожаров в дубовых древостоях Вязовского лесничества Саратовской области в части огневых повреждений деревьев. Вавилонские чтения - 2016. 2016; 279-281.
6. Козаченко М.А., Кицаева Н.С. Анализ лесовосстановления на гарях в различных почвенных условиях на территории саратовской области. Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2014; 2:10-15.
7. Рябкова В.А., Брылева И.Н. Состояние здоровья населения Хабаровского края в условиях воздействия лесных пожаров. Дальневосточный медицинский журнал. 2002; 3: 41-44.
8. Мухоморова Е.А. Оценка экологического риска территории Иркутской области. Успехи современного естествознания. 2012; 2: 26-30.
9. Сидоров А.А., Санжиева С.Е. Влияние лесных пожаров республики Бурятия на окружающую среду и здоровье человека. Вестник КрасГАУ. 2018; 1 (136): 188-193.
10. Дворник А.А., Дворник А.М., Король Р.А., Гапоненко С.О. Радиоактивное загрязнение воздуха в результате лесных пожаров и его опасность для здоровья человека. Радиация и риск (Бюллетень

Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2016; 2: 100-108.

11. Finlay S., Moffat A., Gazzard R., Baker D., Murray V. Health impact of wildfires. PLoS Current. 2012; 2: 4.

12. Black C., Tesfaigzi Y., Bassein E., Miller L. Wildfire smoke exposure and human

health: significant gaps in research for a growing public health issue. HHS public access. 2017; 5: 186-195.

13. Хотько Н.И., Дмитриев А.П. Санитарное состояние атмосферного воздуха и здоровье населения. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские

науки. 2012; 2 (22): 125-135.

14. Хотько Н.И. К методологии критериальной оценки экологического благополучия и медико-биологического состояния здоровья населения. Химическая безопасность РФ в современных условиях: Материалы научно-практической конференции. 27-28 мая 2010 г.

Санкт-Петербург. СПб; 2010; 145-148.

15. Ларионов М.В., Ларионов Н.В. Влияние степени загрязнения окружающей среды на здоровье населения в Саратовской области. Вестник Оренбургского государственного университета. 2009; 4: 122-125.

REFERENCES:

1. Rukavishnikov V.S., Efimova N.V., Efimova T.A. Studying the health risk during short-term inhalation exposure in the conditions of forest fires. Hygiene and sanitation. 2013; 1: 50-52 (in Russian).

2. Samsonov Yu.N., Belenko O.A., Ivanov V.A. Smoke aerosol emissions from forest fires in central Siberia. Interekspo Geo-Sibir'. 2010; 4 (2): 114-118 (in Russian)

3. Cheprasov S.A. Harmful substances entering the atmosphere during fires. Modern technologies for civil defense and emergency response. 2016; 1 (7): 360-363 (in Russian).

4. Tochilkina N.V. Assessment of the impact of the air pollution index on the medical and demographic indicators of residents of the city of Saratov. Samara Scientific Bulletin. 2016; 4 (17): S. 65-70 (in Russian).

5. Zhilibovskaya A.N., Kozachenko M.A. The consequences of forest fires in oak stands of the Vyazovsky forestry in the Saratov region in terms of fire damage to trees. Vavilov s readings. 2016. 2016; 279-281 (in Russian).

6. Kozachenko M.A., Kitsaeva N.S. Analysis of reforestation in burned areas in various soil conditions in the Saratov region. Bulletin of the Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov. 2014; 2:10-15 (in Russian).

7. Ryabkova V.A., Bryleva I.N. Health state of population in the Khabarovsk region under the influence of forest fires. Far Eastern Medical Journal. 2002; 3: 41-44 (in Russian).

8. Musikhina E.A. Ecological risk assessment in Irkutsk region territory. Advances in Modern Natural Science. 2012; 2: 26-30 (in Russian).

9. Sidorov A.A., Sanzhieva S.E. Influence of forest fires in the republic of Buryatia on the environment and human health. Vestnik KrasGAU. 2018; 1 (136): 188-193 (in Russian).

10. Dvornic A.A., Dvornic A.M., Korol R.A., Gaponenco S.O. Radioactive contamination of air as a result of forest fires and its threat to a human health. Radiation and risk (Bulletin of the National Radiation and Epidemiological Register). 2016; 2: 100-108 (in Russian).

11. Finlay S., Moffat A., Gazzard R., Baker D., Murray V. Health impact of wildfires. PLoS Current. 2012; 2: 4.

12. Black C., Tesfaigzi Y., Bassein E., Miller L. Wildfire smoke exposure and human health: significant gaps in research for a growing public health issue. HHS public access. 2017; 5: 186-195.

13. Khot'ko N.I., Dmitriev A.P. Sanitary condition of atmospheric air and public health. News of higher educational institutions. Volga region. Medical Sciences. 2012; 2 (22): 125-135 (in Russian).

14. Khot'ko N.I. To the methodology of criteria-based assessment of environmental well-being and the biomedical state of public health. Chemical safety in the Russian Federation in modern conditions: Materials of the scientific and practical conference. 27-28 May 2010. Sankt Peterburg. SPb; 2010; 145-148 (in Russian).

15. Lariionov M.V., Lariionov N.V. The impact of environmental pollution on public health in the Saratov region. Bulletin of the Orenburg State University. 2009; 4: 122-125 (in Russian).

A.Yu. Karetnikova, E.S. Terekhina, N.V. Shlyapnikov, A.A. Voitovich

ASSESSMENT OF THE TOXIC INFLUENCE OF ATMOSPHERIC AIR POLLUTANTS IN THE SARATOV REGION DURING THE FOREST FIRES

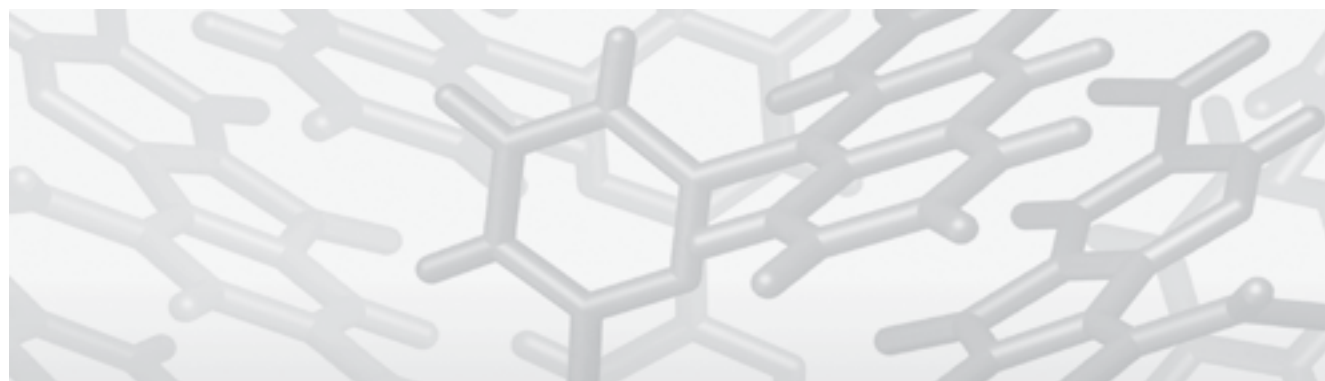
V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, 410012, Saratov, Russian Federation

The article is devoted to the hygienic assessment of the potential risk of general toxic effects for the health of the population in the Saratov region as a result of action of pollutants (carbon monoxide, nitrogen mono- and dioxides, ammonia, dust, formaldehyde) during forest fires. The relevance of this work is due to the significant role of forest fires in air pollution and the special vulnerability of the Saratov region to forest fires. The results of the study allow to judge the significant role of forest fires in air pollution in the Saratov region: there are significant excesses of the hygienic permissible levels of maximum single and average daily concentrations of pollutants (nitrogen mono- and dioxides, ammonia, dust, formaldehyde), which create an unfavorable environmental situation, contribute to the development and progression of many human diseases.

Keywords: forest fires, atmospheric pollution, air, public health, respiratory damage, toxic effects of substances.

Quote: A.Yu. Karetnikova, E.S. Terekhina, N.V. Shlyapnikov, A.A. Voitovich. Assessment of the toxic influence of atmospheric air pollutants in the Saratov region during the forest fires. Toxicological Review. 2020; 5:16-20

Переработанный материал поступил в редакцию 27.03.2020 г.



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

*Х.Х. Хамидулина^{1,2}, Е.В. Тарасова¹,
А.С. Проскурина^{1,2}, А.Р. Егизарян¹,
И.В. Замкова¹, Е.В. Дорофеева¹,
Е.А. Ринчиндоржиева¹, С.А. Швыкина¹,
Е.С. Петрова³*

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

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

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава России, 119435, г. Москва, Российская Федерация

В настоящее время перфтороктановая кислота в Российской Федерации не нормирована в воздухе рабочей зоны и объектах среды обитания человека.

Решением Стокгольмской конвенции SC-9/12 ПФОК, ее соли и производные включены в часть I приложения А Стокгольмской конвенции по стойким органическим загрязнителям в 2019 году (с исключениями по возможному применению). Роттердамская конвенция о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле включила ПФОК, ее соли и производные в список потенциальных кандидатов на включение в приложение III Роттердамской конвенции на очередном заседании COP10 в 2021 году.

Применение данного химического вещества на территории РФ влечет за собой загрязнение воды и воздуха. Источниками поступления в окружающую среду являются промышленные выбросы производств фторполимеров, термическая эксплуатация материалов, продукции, содержащей политетрафторэтен; биологическая и атмосферная деградация фтортеломерных спиртов; промышленные выбросы и сточные воды производств фторполимеров, сточные воды очистных сооружений.

Анализ международных баз данных показал, что ПФОК нормирована в воздухе рабочей зоны в таких странах, как Германия, Япония, Швейцария. В странах Евросоюза, США и Канаде активно решается вопрос о нормировании ПФОК в питьевой воде.

Принимая во внимание высокую опасность вещества и серьезную озабоченность гражданского общества РФ, Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия

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

Тарасова Елена Владимировна (Tarasova Elena Vladimirovna), кандидат химических наук, химик-эксперт ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Проскурина Ангелина Сергеевна (Proskurina Angelina Sergeevna), врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, ассистент кафедры гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Москва, proskurina-as@rosreg.info;

Егизарян Анна Рафаеловна (Egizaryan Anna Rafaelovna), кандидат биологических наук; заместитель директора ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Замкова Ирина Валентиновна (Zamkova Irina Valentinovna), врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Дорофеева Екатерина Валентиновна (Dorofeeva Ekaterina Valentinovna), начальник информационно-аналитического отдела ФБУЗ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Ринчиндоржиева Екатерина Анатольевна (Rinchindorzhieva Ekaterina Anatolievna), врач по санитарно-гигиеническим лабораторным исследованиям ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Швыкина Светлана Александровна (Shvykina Svetlana Aleksandrovna), начальник организационно-методического отдела ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, г. Москва, secretary@rosreg.info;

Петрова Екатерина Сергеевна (Petrova Ekaterina Sergeevna), доцент кафедры экологии человека и гигиены окружающей среды Института общественного здоровья им. Ф.Ф.Эрисмана Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, г. Москва, ekaterinapetrova9@mail.ru

человека было дано поручение ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора в кратчайшие сроки разработать ПДК перфтороктановой кислоты в воздухе рабочей зоны и воде.

С учетом анализа риска были обоснованы ПДК в воздухе рабочей зоны 0,005 мг/м³, аэрозоль, 1 класс опасности; ПДК в воде 0,0002 мг/л, лимитирующий показатель вредности – санитарно-токсикологический, 1 класс опасности.

Ключевые слова: перфтороктановая кислота, нормирование, ПДК, опасность.

Цит: Х.Х. Хамидулина, Е.В. Тарасова, А.С. Проскурина, А.Р. Егиазарян, И.В. Замкова, Е.В. Дорофеева, Е.А. Ринчиндоржиева, С.А. Швыкина, Е.С. Петрова. О необходимости разработки гигиенических нормативов (пдк) в воде и воздухе рабочей зоны перфтороктановой кислоты в Российской Федерации. Токсикологический вестник. 2020; 5:21-31

Введение. Перфтороктановая кислота (ПФОК) – синтетическая полностью фторированная карбоновая кислота, представляет собой белый порошок с резким запахом. Хорошо растворяется в воде (3300 – 9500 мг/л при 20°C), полярных органических растворителях. ПФОК относится к нелетучим соединениям, давление паров $2,24 \times 10^{-5}$ атм. при 20°C, константа Генри $2,4 \times 10^{-5}$ атм. \times м³/mol. По расчетам logKow составляет 3,63 – 6,30. Экспериментальные значения logKoc варьируются от 1,2 до 4,5. Используется в производстве пятно/водостойких покрытий для различных видов потребительских товаров, фторполимеров, пен для пожаротушения, гидравлических жидкостей и т.д. ПФОК поступает в окружающую среду с промышленными выбросами и сточными водами производств фторполимеров, сточными водами очистных сооружений, ливневыми стоками, бытовыми и промышленными отходами, в результате применения противопожарных пен.

ПФОК может быть обнаружена в воздухе, поверхностных и грунтовых водах, осадочных отложениях и почве; накапливается в тканях водных и наземных живых организмов. В окружающей среде не подвергается гидролизу, фотолузу, биоразложению, относится к чрезвычайно стойким в окружающей среде веществам. Преимущественные пути поступления ПФОК в организм человека – внутрижелудочный и ингаляционный:

- при употреблении пищевых продуктов и питьевой воды;
- при использовании потребительских товаров: пятно/водоотталкивающих покрытий на одежде, мягкой мебели, коврах и т.д., посуды с антипригарным покрытием, зубной пасты, шампуней, косметики, красок, лаков, герметиков, контейнеров для пищевых продуктов и т.д.;
- при вдыхании воздуха, содержащего пары, аэрозоль или пыль ПФОК.

Решением Стокгольмской конвенции SC-9/12 перфтороктановая кислота, ее соли и производные включены в часть I приложения А «Ликвидация» Стокгольмской конвенции по стойким органическим загрязнителям в 2019 году (с ис-

ключениями по возможному применению). Роттердамская конвенция включила перфтороктановую кислоту, ее соли и производные в список потенциальных кандидатов на включение в приложение III Роттердамской конвенции на 2021 год (приложение III содержит список пестицидов и промышленных химических веществ, которые запрещены или строго ограничены двумя или более сторонами Роттердамской конвенции и подлежат процедуре предварительного обоснованного согласия). Несмотря на столь высокую озабоченность международных организаций и гражданского общества, в Российской Федерации до настоящего времени ПФОК не была нормирована в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе городских и сельских поселений, воде водных объектов, почве и продуктах питания. В связи с этим Роспотребнадзором было поручено ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора с учетом международного опыта разработать гигиенические нормативы ПФОК в воде и воздухе рабочей зоны.

Материалы и методы исследования. Сбор данных по токсичности и опасности ПФОК осуществлялся с использованием следующих источников информации: базы данных Европейского Химического Агентства (ЕCHA) [1], Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР) [2], Национального института технологий и развития Японии [3], Национальной медицинской библиотеки США (PubChem) [4], Международного агентства по изучению рака (МАИР) [5], Регистра токсических эффектов химических веществ Канадского центра гигиены и безопасности труда (RTECS) [6], Федерального регистра потенциально опасных химических и биологических веществ [7], данных министерства окружающей среды Канады [8], Агентства по охране окружающей среды США (EPA US) [9], министерства окружающей среды Дании [10], Немецкого научно-исследовательского сообщества (DFG) [11].

Проведен анализ данных по острой, субхронической и хронической токсичности перфтороктановой кислоты при различных путях поступления в организм; специфическим и отдаленным эффектам.

Результаты и обсуждение.*Токсикологические свойства**Хемобиокинетика*

После в/ж введения в дозе 30 мг/кг равновесие поступления в плазму и выведения с мочой у самок-крыс устанавливалось на 7 день, у самцов – на 28 день. После в/б введения крысам в дозе 50 мг/кг наибольшее содержание обнаруживалось в печени с сохранением максимума в течение 30 суток, в почках и сыворотке крови – максимум на 4-8 сутки с последующим снижением. Метаболизм связан с превращением в более полярные и токсичные соединения. Период полувыведения при дозе 50 мг/кг в/б: из сыворотки крови крыс у самок – 24 ч, у самцов – 105 ч, из почек – через 145 и 130 ч. соответственно [15].

ПФОК распределяется главным образом в печени, почках и сыворотке крови; не метаболизируется, выводится главным образом с мочой. ПФОК легко проникает через плаценту и присутствует в грудном молоке крыс [14].

Имеется мало информации о фармакокинетике ПФОК и ее солей у людей. Предварительные результаты 5-летнего исследования периода полураспада у 26 вышедших на пенсию работников показывают, что средний период полувыведения ПФОК из сыворотки крови составил 3,8 года, а диапазон составил 1,5 – 9,1 (OECD SIDS) [14].

Оценка токсичности и опасности ПФОК при однократном воздействии

Параметры острой токсичности при различных путях поступления в организм приведены в таблице [3,4,6,7,8,10,14,15]

Клиническая картина острого отравления включает в себя симптомы раздражения верхних дыхательных путей (кашель, першение в горле, нарушение частоты и ритма дыхания), головную боль, тошноту, рвоту.

Наиболее поражаемыми органами и системами являются центральная нервная, дыхательная, эндокринная, репродуктивная системы, желудочно-кишечный тракт, печень, почки, кровь, метаболический обмен, селезенка.

Подострая, субхроническая и хроническая токсичность

При изучении перорального воздействия вещества в дозах 0,3; 10 и 30 мг/кг в физ.растворе, 28 дней, крысы – гистологические изменения выявляются лишь при 30 мг/кг, печень является органом-мишенью [15].

Доза 10 мг/кг, в/б, мыши, 7 дней – стимулирует накопление в печени триглицеридов [15].

При испытании доз 0,3; 1; 10 и 30 мг/кг, в/ж, 29 дней, крысы-самцы Sprague-Dawley и мыши-самцы CD-1 – частота и выраженность гепатоцеллюлярной гипертрофии повышалась с увеличением дозы, причем более выраженным эффектом, был у мышей. Гипертрофия сохранялась до конца исследования, несмотря на прекращение воздействия на 23 день для крыс и 24 день для мышей [8].

Исследования повторных доз на крысах и мышах показали, что печень является основным органом-мишенью. Из-за гендерных различий в элиминации взрослые самцы крыс проявляют эффекты при более низких введенных дозах,

Таблица

Параметры острой токсичности перфтороктановой кислоты

Показатели токсикометрии	Вид животных	Значение
DL ₅₀ , в/ж, мг/кг	крысы линии CD	>500 самцы, 250 – 500 самки 680 самцы, 430 самки
DL ₅₀ , в/ж, мг/кг	крысы линии Wistar	< 1000, самцы и самки
DL ₅₀ , в/ж, мг/кг	мыши	457
DL ₅₀ , в/ж, мг/кг	морские свинки	178 – 217
DL ₅₀ , н/к, мг/кг	кролики	2000 – 4278
DL ₅₀ , н/к, мг/кг	крысы	6959 – 7500
CL ₀ , инг., 1 ч, мг/м ³	крысы	>18600
CL ₅₀ , инг., 4 ч, мг/м ³	крысы	980
DL ₅₀ , в/б, мг/кг	крысы	189
DL ₅₀ , в/б, мг/кг	мыши	192

чем взрослые самки крыс. Воздействие ПФОА (перфтороктаноата аммония)¹, близкого аналога ПФОК, с кормом в течение 90 дней приводило к значительному увеличению массы печени и гепатоцеллюлярной гипертрофии у самок крыс при 1000 ppm (76,5 мг/кг) и у самцов в дозах 100 ppm (5 мг/кг). Хроническое воздействие на крыс доз до 300 ppm (самцы 14,2 мг/кг, самки 16,1 мг/кг) ПФОА в течение 2 лет приводило к увеличению массы печени, гепатоцеллюлярной гипертрофии, гематологическим эффектам, изменению массы яиц у самцов, снижению массы тела и гематологическим эффектам у самок [14]. 13-недельное исследование на приматах при воздействии доз 30 мг/кг или выше привело к смерти. Клинические признаки токсичности были отмечены при дозах до 3 мг/кг. В отличие от исследования на грызунах, анализ сыворотки крови и печени не выявил гендерных различий, однако размер выборки был мал. В 6-месячном исследовании на самцах макак увеличение массы печени было отмечено при дозах до 3 мг/кг. LOAEL для исследования составил 3 мг/кг, NOAEL не был установлен [14].

Воздействие на кожу и слизистые оболочки

Исследования раздражающего действия ПФОК на кожу и глаза ограничены, однако, принимая во внимание величину pH = 2,6, при контакте с кожей возможен выраженный раздражающий эффект (покраснение, отек, сильная боль, обратимые повреждения поверхностных слоев); при попадании в глаза возможно выраженное раздражающее действие (покраснение, отек век, обильное слезотечение, блефароспазм, сильная боль, неясность зрения), существует риск серьезного повреждения глаз.

Сенсибилизирующее действие

Исследование кожной сенсибилизации ПФОА с использованием теста Бюлера на морских свинках не выявило сенсибилизирующего действия (отчет OECD SIDS) [14].

В исследовании на мышах было показано иммунотоксическое действие ПФОК. Кормление мышей кормом, содержащим 0,02% вещества, приводило к неблагоприятным воздействиям на тимус и селезенку. Кроме того, такой режим питания приводил к подавлению специфического гуморального иммунного ответа на эритроцитах лошади и подавлению пролиферации лимфоцитов селезенки. Супрессированные мыши восстановили способность иммунного ответа при кормлении не содержащим ПФОК кормом.

Исследования с использованием трансгенных мышей показали, что PPAR α участвует в возникновении неблагоприятных воздействий на иммунную систему [14].

Репродуктивная токсичность и воздействие на развивающееся потомство

Воздействие на функцию воспроизводства установлено в различных экспериментах.

В исследовании на мышах при в/ж поступлении 1, 3, 5, 10, 20 и 40 мг/кг ПФОК с водой со 2 по 18 дни гестации выявлена ранняя полная резорбция помета, что приводило к 100% потере плодов в группе 40 мг/кг. Значительный дефицит прироста массы тела материнских особей был выявлен в группе 20 мг/кг. ПФОК индуцировала увеличение печени при всех дозах, но не изменяла количество имплантаций. В группе 20 мг/кг процент живых плодов был снижен до 74% (по сравнению с 97% в контроле) за день до рождения, а масса плодов была значительно ниже, чем в контроле. Однако ни в одной из групп не было отмечено анатомических аномалий. Частота живорождений была значительно снижена в группах, получавших 10 и 20 мг/кг (70% по сравнению с 93% в контрольной группе). У всех плодов, получавших ПФОК, был выявлен дозозависимый дефицит прироста массы тела. Значительные задержки в открытии глаз (примерно на 2 дня) были отмечены в группах 10 и 20 мг/кг, а пубертатные показатели были значительно снижены в группе 20 мг/кг. Эти данные указывают на материнскую и развивающуюся токсичность ПФОК у мышей, что проявляется ранней резорбцией эмбрионов, снижением постнатальной выживаемости и задержки в постнатальном росте и созревании [14].

По данным министерства окружающей среды Канады, у животных были выявлены задержка развития молочных желез, ожирение у потомства и гистологические изменения тканей матки [8].

В исследованиях на мышах, получавших 5 мг/кг в течение 10 дней, выявлены специфические изменения структуры молочной железы, включающие в себя уменьшение длины и ветвления протоков, замедленный рост эпителия.

Согласно данным OECD SIDS, в исследовании токсичности развития у кроликов при в/ж пути поступления наблюдалось значительное увеличение варибельности скелета при дозе 5 мг/кг ПФОА, NOAEL составил 1,5 мг/кг [14].

В исследовании репродуктивной токсичности на двух поколениях крыс испытанные до-

¹ Большинство исследований по оценке токсических свойств ПФОК выполнено с использованием перфтороктаноата аммония (ПФОА). ПФОК и ПФОА быстро диссоциируют в воде с образованием перфтороктаноат-аниона, который и обуславливает токсическое действие данных соединений. Принимая во внимание незначительную разницу в молекулярных массах ПФОК (414) и ПФОА (431), данные, полученные для ПФОА, могут быть распространены на ПФОК без пересчета.

зы составили 1, 3, 10 или 30 мг/кг ПФОА. Наблюдалось снижение массы тела плодов во время лактации в группе с дозой 30 мг/кг; увеличение смертности в основном в первые несколько дней после отъема, а также задержка во времени полового созревания [10,14].

Исследование на двух поколениях выявило, что воздействие низкого уровня ПФОК с 7 по 17 дни беременности в питьевой воде (5 мкг/л) задерживало развитие молочной железы, как у родительских особей, так и у потомства, которое сохранялось до наступления зрелого возраста. У самок первого поколения отмечена задержка инволюции молочной железы, вызванной отлучением потомства. Средние суточные дозы составили 0,001 мг/кг в период беременности и 0,004 мг/кг во время лактации. Таким образом, LOAEL считался равным 0,001 мг/кг/сут. [8]

В исследовании на двух поколениях крыс выявлена задержка роста (≥ 10 мг/кг для самцов и 30 мг/кг для самок), а также увеличение смертности после отлучения.

По данным других исследований, не было обнаружено влияния ПФОК на репродуктивные или фертильные параметры крыс, но выявлено воздействие на фертильность самцов мышей, получавших дозу 5 мг/кг в течение 28 дней до спаривания. NOAEL 2,5 мг/кг и LOAEL 5 мг/кг – по снижению количества сперматозоидов и морфологических изменениях яичек после 14-дневного воздействия; 2 мг/кг привели к значительному повышению сывороточного эстрадиола и повышению активности печеночной ароматазы в том же исследовании [9].

Генотоксичность

По данным министерства окружающей среды Канады:

In vitro

При тестировании ПФОК (или ее аммонийной/натриевой соли) не представлено доказательств мутагенной активности в тесте Эймса на бактериях и в трех тестах хромосомных aberrаций *in vitro* (2 на клетках хомяка и 1 на клетках человека). ПФОК не была мутагенна в тесте Эймса в присутствии и отсутствии системы метаболической активации; не увеличивала окислительное повреждение ДНК на клетках яичек крыс в дозах 100 и 300 μ M в течение 24 ч. В клетках гепатомы человека HepG2 в дозе до 400 μ M не индуцировала разрывы нитей ДНК или микроядер. Напротив, положительные результаты были получены в одном тесте повреждения хромосом на клетках хомяка и одном микроядерном анализе на клетках человека *in vitro*. Также ПФОК вызывала окислительное повреждение ДНК в культуре клеток гепатомы человека [8].

In vivo

Тестирование ПФОК или ее аммонийных и натриевых солей не выявило значительного увеличения образования микроядер в костном мозге мышей в дозе до 5000 мг/кг. ПФОК вызывала окислительное повреждение ДНК в печени крыс, получавших в/ж 200 ppm в рационе в течение 2 недель или в/б 100 мг/кг однократно [8].

Канцерогенность

Канцерогенный потенциал ПФОК был изучен в двух исследованиях на крысах при в/ж поступлении вещества с кормом. В условиях этих исследований получены доказательства канцерогенности (образование опухолей печени, опухолей клеток Лейдига и ацинарных клеток поджелудочной железы у самцов крыс). Данные по фиброаденомам молочных желез у самок крыс сомнительны, поскольку эти случаи были сопоставимы с некоторыми историческими фоновыми случаями. Существует достаточно доказательств того, что ПФОК является агонистом PPAR α /Рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (группа рецепторов клеточного ядра, функционирующих в качестве фактора транскрипции) и что канцерогенность ПФОК опосредована активацией PPAR α в печени (OECD SIDS) [14].

По данным Канадского отчета, а также согласно данным Международного агентства по изучению рака (МАИР) в долгосрочных исследованиях установлено, что печень является наиболее чувствительным органом-мишенью в хронических исследованиях (LOAEL 1,3 мг/кг у самцов по повышению печеночных показателей в сыворотке крови). Другие эффекты, наблюдаемые у крыс после хронического воздействия ПФОК, включают увеличение частоты гиперплазии и опухолей в различных тканях (молочная железа у самок, клетки Лейдига, поджелудочная железа и печень у самцов) и изменение уровня гормонов в сыворотке крови [5,8].

В исследовании установлен уровень LOAEL 1,3 мг/кг у самцов крыс по токсическому действию на печень. Крысам линии Sprague-Dawley (50 животных в группе) вводили ПФОА в дозе 30 или 300 ppm с кормом в течение 2 лет (2,3 или 14,2 мг/кг для самцов, 1,6 или 16,1 мг/кг для самок). LOAEL 30 ppm был основан на значительном увеличении печеночных показателей в сыворотке крови у самцов (АЛТ, АСТ, ЩФ, альбумина) и дозозависимом увеличении случаев хронического сиалоденита слюнных желез у самцов. Число случаев гепатоцеллюлярной гипертрофии было повышено в обеих группах при самой высокой дозе. Другие эффекты у самцов включают дозозависимое увеличение частоты лейдигоклеточных аденом, статистически зна-

чимое при 300 ppm (14,2 мг/кг). У самок крыс первый анализ данных показал дозозависимое увеличение частоты фиброаденом молочных желез, статистически значимое при дозе > 30 ppm, однако более поздний анализ с использованием современных диагностических критериев показал, что воздействие ПФОК не приводит к пролиферативным изменениям в тканях молочной железы. Наблюдались неопластические изменения в печени (гепатоцеллюлярная гипертрофия, портальная инфильтрация и цистидная дегенерация при высокой дозе) и легких (кровоизлияния при высокой дозе), а также пролиферативные поражения ацинарных клеток поджелудочной железы крыс при высокой дозе. ПФОК не увеличивала частоту неопластических поражений других органов [8,10].

Прием ПФОК увеличивал относительную массу печени в течение всего эксперимента. Наблюдалось значительное увеличение опухолей у экспериментальных животных по сравнению с контрольными группами: аденомы клеток Лейдига, аденомы печени, ацинарные клеточные аденомы и комбинированные аденомы поджелудочной железы, карциномы [3,5,8,10].

Данные по канцерогенности для человека признаны МАИР ограниченными. Взаимосвязь наблюдалась при раке яичка и раке почек. Для экспериментальных животных имеется ограниченное количество доказательств. ПФОК отнесена в группу 2Б (возможно канцерогенные для человека) [5].

Данные эпидемиологических исследований

Большинство исследований среди населения, подвергшегося воздействию перфторированных алкильных кислот (ПФАК), были проведены в Огайо в рамках научного проекта C8 Health Project. В 2005 – 2006 гг. было обследовано около 69000 человек, включая детей и взрослых. Медиана концентрации ПФОК в сыворотке крови в этой популяции составила 28,2 нг/мл по сравнению с 4,2 нг/мл в общей популяции американцев за тот же период. Наблюдалась взаимосвязь между воздействием ПФОК и изменением активности печеночных ферментов, повышением уровня холестерина в сыворотке крови, повышенным риском гиперхолестеринемии, нарушением функции щитовидной железы, снижением антител к различным заболеваниям (дифтерии, столбняку, краснухе, гриппу А/Н3N2), возникновением язвенного колита, а также процессами канцерогенеза [8].

Репротоксичность

Основываясь на имеющихся к настоящему времени эпидемиологических данных, не ожидается, что ПФОК будет оказывать негативное воздействие на функцию воспроизводства у людей. Выявленная связь высоких уровней ПФОК

с задержкой полового созревания у девочек не нашла подтверждения. Научная группа C8 не выявила взаимосвязи между ПФОК и преэклампсией у беременных. Исследования о связи между воздействием ПФОК и качеством спермы у мужчин являются редкими и нуждаются в подтверждении. Однако, учитывая весомость фактических данных невозможно исключить неблагоприятное воздействие ПФОК на репродуктивную функцию.

Ограниченные данные свидетельствуют о корреляции между высокими уровнями ПФОК (>0,02 мкг/мл) в крови у женщин и снижением плодовитости и фертильности, но нет доказательств четкого влияния на мужскую фертильность при концентрации ПФОК в крови 0,0035–0,005 мкг/мл [8,9].

Канцерогенность

Исследование, посвященное изучению взаимосвязи между раком и воздействием ПФОК через питьевую воду среди жителей Среднего Огайо, проживающих вблизи завода по производству тефлона «DuPont», показало, что высокие концентрации ПФОК были связаны с раком яичек и почек в некоторых районах. Вероятность развития рака яичек была повышена только в одной из двух областей с самой высокой концентрацией ПФОК в питьевой воде [8].

В другом профессиональном исследовании, проведенном на рабочих в Миннесоте, был отмечен повышенный риск смертности от рака предстательной железы, однако сохраняется неопределенность из-за низкого числа случаев, что приводит к низкой точности оценок риска. В исследовании в Западной Вирджинии не было обнаружено статистически значимого превышения смертности от рака почек, печени, поджелудочной железы, яичек, щитовидной железы или молочной железы, однако при интерпретации этих результатов необходима осторожность, поскольку они основывались на небольшом числе случаев, и существовал риск предвзятости отбора.

В проспективном когортном исследовании, проведенном в общей популяции Дании, не было обнаружено увеличения заболеваемости раком предстательной железы, мочевого пузыря, поджелудочной железы или печени, хотя концентрация ПФОК в плазме крови была ниже, чем в американских когортах. Кроме того, в небольшом контрольном исследовании гренландских инуитов не было обнаружено свидетельств взаимосвязи ПФОК с раком молочной железы.

Научная группа C8 оценивает связь между воздействием ПФОК и возникновением рака как вероятную [8].

Обоснование гигиенического норматива ПФОК в воде

Обоснование гигиенического норматива ПДК ПФОК в воде проводили на основании данных по оценке канцерогенного и неканцерогенного рисков [8].

Для расчета потенциальных точек отсчета использовался метод эталонной дозы BMDL10, а не NOAEL.² Для учета межвидового различия использовался параметр АКУФ (токсикокинетический фактор неопределенности для учета межвидовых различий человек-животное), а не стандартные подходы к межвидовой экстраполяции (например, коэффициент межвидовой неопределенности 10, аллометрическое масштабирование), поскольку в случае ПФОК существуют большие фармакокинетические различия между животными и человеком, выражающиеся в более длительном периоде полувыведения ПФОК из организма человека, приводящие к тому, что при действии одинаковой дозы ПФОК на человека и животных, в первом случае концентрация ПФОК в тканях органов-мишеней будет выше. На первом этапе проводили оценку канцерогенного риска.

Оценка канцерогенного риска

Эпидемиологические исследования показали связь между воздействием ПФОК и повышенным риском развития рака яичек и почек. Однако причинно-следственная связь и исходная точка не могут быть определены на основе этих исследований из-за отсутствия согласованности между исследованиями (в некоторых исследованиях в Дании и США не было обнаружено никакой взаимосвязи). Ограничения также были отмечены в исследованиях, которые выявили положительный эффект, включая риск остаточного смешения (в модели не рассматривали возможное воздействие других токсикантов, а также случайные факторы), небольшое число случаев, неопределенность в характеристике воздействия (грубые оценки, основанные на проживании в пределах определенной области) и большое число результатов, включенных в модели, что увеличивает вероятность случайных выводов.

В двух хронических экспериментах были выявлены тестикулярные аденомы клеток Лейдига у самцов крыс (Crl:CD BR (CD)), подвергавшихся воздействию ПФОК в течение 2 лет. В первом исследовании аденомы наблюдались при действии дозы 13,6 мг/кг массы тела в день (единственная доза, протестированная в исследовании);

в другом исследовании наблюдалось связанное с дозой увеличение частоты аденом, имеющих значение при высоких дозах (14,2 мг/кг массы тела в сутки). Аденомы клеток Лейдига сопровождались гиперплазией клеток Лейдига и пролиферацией, ацинарными аденомами поджелудочной железы. Увеличение частоты фиброаденомы молочной железы у самок крыс наблюдалось при увеличении дозы ПФОК.

Механизм возникновения опухолей при действии ПФОК до настоящего момента не установлен однозначно, однако в литературе описано значительное количество случаев, свидетельствующих в пользу немутагенного характера возникновения опухолей. Поэтому для определения величины дозы допустимой для здоровья с учетом канцерогенного фактора можно использовать величину допустимого суточного потребления.

В хроническом эксперименте по оценке канцерогенного риска частота аденом клеток Лейдига у крыс, получавших 0, 1,3 и 14,2 мг/кг ПФОК, составила 0, 2 и 7, соответственно. NOAEL и LOAEL составили 1,3 и 14,2 мг/кг в сутки, соответственно. Рассчитанное значение BMDL10 варьировалось от 1,06 до 1,26 мг/кг массы тела в сутки в зависимости от выбранной модели расчета (Log Logistic, Log Probit и Multistage) и практически совпадало с NOAEL (1,3 мг/кг массы тела в сутки), что использовали в качестве точки отсчета.

Для учета больших межвидовых различий в фармакокинетике, точка отсчета для человека (ТОч) рассчитана по формуле:

$ТОч = BMDL10 / 17 = 1,3 / 17 = 0,076$ мг/кг в сутки, где 17 – это доза-специфический коэффициент АКУФ для крыс в интервале 1 мг/кг в сутки, определенный экспериментально.

С учетом коэффициента неопределенности 25 (как произведение межвидового фактора неопределенности 2,5 и внутривидового фактора неопределенности 10) допустимая суточная доза составляет $0,076 / 25 = 0,003$ мг/кг массы тела.

Величина суточного потребления ПФОК с питьевой водой допустимая для здоровья с учетом канцерогенного риска определяется следующим образом:

$(0,003 \text{ мг/кг массы тела в день} \times 70 \text{ кг} \times 0,2) / 2 \text{ л/сут} = 0,021 \text{ мг/л} \approx 0,02 \text{ мг/л}$,

где 0,03 мг/кг массы тела в день – допустимое суточное потребление;

² Эталонная доза (BMD) - это концентрация / доза вещества, которая вызывает заранее определенное изменение скорости реакции на неблагоприятное воздействие. Заранее определенное изменение скорости реакции на неблагоприятное воздействие называется эталонным ответом (BMR, benchmark response). BMDL10 - концентрация / доза вещества, при которой ответ на неблагоприятное воздействие на 10% ниже, чем эталонный ответ. Рассчитанные значения BMDL используют для оценки уровней воздействия вещества на население (включая чувствительные подгруппы), которые при ежедневном внутрижелудочном или дермальном путях поступления, не будут иметь заметного риска вредных эффектов в течение жизни. BMDL более надежен, чем NOAEL, так как меньше зависит от выбора дозы и размера выборки. BMDL < BMD < NOAEL.

70 кг – средняя масса тела взрослого человека; 0,2 – коэффициент распределения для питьевой воды, используемый в качестве «минимального значения», поскольку питьевая вода не является основным источником воздействия, есть свидетельства поступления ПФОК в организм человека из других источников (воздух, пища, почва или потребительские товары);

2 л/сут. – ежедневный объем воды, потребляемый взрослым; кожное и ингаляционное воздействие от купания и душа не считается значительным.

Таким образом, допустимая для здоровья доза суточного потребления ПФОК с учетом канцерогенного риска составляет 0,02 мг/л.

На втором этапе проводили оценку неканцерогенного риска.

Оценка неканцерогенного риска

Эпидемиологические исследования выявили взаимосвязь между воздействием ПФОК и неблагоприятными последствиями для здоровья человека, такими как дисфункция иммунной системы, изменение массы тела при рождении, изменение уровня липидов, однако определить точку отсчета из данных исследований не представляется возможным из-за существенных ограничений (различные методы исследования, предвзятость, неоднозначность результатов).

Для ПФОК самые низкие значения LOAEL для репротоксического и тератогенного эффектов у мышей наблюдались при дозах (мг/кг массы тела в сутки):

0,001 – 0,01 – задержка развития молочной железы;

0,01 – гистологические изменения в тканях матки, изменения массы тела у самок, подвергшихся пренатальному воздействию;

0,6 – задержка открытия глаз.

Эти значения не могут быть использованы в качестве точки отсчета для оценки риска по нескольким причинам. Гистологические изменения в тканях матки были исключены из оценки, поскольку не наблюдалось зависимости доза – эффект: значительное увеличение частоты эффектов отмечено только при дозе 0,01 мг/кг массы тела в сутки, а не на более высоких уровнях 0,1 или 1 мг/кг массы тела в сутки. Немонотонный характер зависимости доза-эффект наблюдался для изменения массы тела взрослых самок мышей, подвергнутых внутриутробному воздействию ПФОК, с увеличением массы тела при дозах 0,01-0,3 мг/кг в сутки, но не на уровне 1 мг/кг; повышение уровней лептина и инсулина в сыворотке крови на уровне 0,01 – 0,1 мг/кг в сутки, но не на уровне 0,3 и 1 мг/кг.

Задержка открытия глаз у мышей, подвергнутых пренатальному воздействию ПФОК в дозах $\geq 0,6$ мг/кг в сутки, не подтвердилось

в других исследованиях. Кроме того, высказывается предположение, что эффекты развития молочной железы могут зависеть от различной чувствительности линий мышей: большинство эффектов, наблюдаемых при низких дозах, регистрировались на мышах линии CD-1, подвергшихся внутриутробному воздействию, в то время как другие линии мышей изучались на более высоких дозах. Сравнительное исследование эффекта развития молочной железы на линиях мышей CD-1 и C57B1/6 при дозах 0,01-1 мг/кг массы тела в сутки показало, что LOAEL ниже для линии мышей CD-1 и составляет 0,01 мг/кг против 0,3 мг/кг во втором случае. В пользу видовой чувствительности описанных эффектов свидетельствует тот факт, что исследования на одном и двух поколениях крыс выявили проявление подобных эффектов при гораздо более высоких дозах; значения NOAEL для изменения массы тела и задержки полового созревания потомства составили 3 мг/кг и 10 мг/кг в сутки, соответственно. Изменение индекса лактации отсутствовало вплоть до 30 мг/кг в сутки.

Эпидемиологические данные по репротоксическому и тератогенному эффектам ПФОК ограничены. Отмечено увеличение вероятности избыточного веса, повышение биомаркеров ожирения у женщин, подвергшихся внутриутробному воздействию ПФОК. Эстрогенные эффекты ограничивались задержкой полового созревания у девочек и незначительной взаимосвязью между концентрацией ПФОК и сокращением продолжительности грудного вскармливания.

Гепатотоксические эффекты наблюдались при более высоких концентрациях, чем репротоксические эффекты, но не превышающих 0,3 мг/кг в сутки ПФОК. Увеличение массы печени отмечено для мышей, подвергшихся воздействию ПФОК в пренатальный период, при дозах $\geq 0,1$ мг/кг в сутки и для взрослых особей при дозах $\geq 0,15$ мг/кг в сутки. Дозозависимое увеличение частоты и тяжести гепатоцеллюлярной гипертрофии наблюдалось при концентрациях $\geq 0,3$ мг/кг в сутки у крыс и мышей в субхроническом эксперименте.

В 13-недельном эксперименте, которое взято за основу для определения допустимой для здоровья дозы суточного потребления ПФОК с питьевой водой с учетом неканцерогенного фактора показано, что:

- гепатоцеллюлярная гипертрофия развивается у самцов крыс, подвергшихся воздействию ПФОК при дозах $\geq 0,64$ мг/кг, что сопоставимо с уровнями LOAEL 0,1-0,3 мг/кг, определенных в других экспериментах;
- значение NOAEL 0,06 мг/кг (в других исследованиях NOAEL $\sim 0,05$ мг/кг);

- в дополнение к *ad libitum* контролю использовался контроль парного вскармливания с целью исключения эффектов, вызванных количеством потребляемой пищи;
- проводился контроль активности рецепторов PPAR- α : активность увеличивалась при дозах $\geq 1,94$ мг/кг, свидетельствуя в пользу того, что гепатоцеллюлярная гипертрофия не является результатом пролиферации пероксисом;
- NOAEL 0,06 мг/кг подтверждается NOAEL для биохимических эффектов печени 0,055 мг/кг, установленных в экспериментах на самцах крыс и выражающихся в повышении уровня щелочной фосфатазы в сочетании с увеличением массы печени;
- NOAEL в 10 раз ниже, чем NOAEL (0,56 мг/кг) и в 30 раз ниже, чем LOAEL (1,72 мг/кг) для эффекта некроза печени, наблюдаемого у крыс, подвергшихся воздействию ПФОК в течение 90 дней.

Неблагоприятный гистологический эффект (портальная инфильтрация мононуклеарных клеток) наблюдался в печени самцов крыс при той же дозе, что и значительное увеличение гепатоцеллюлярной гипертрофии (14,2 мг/кг в сутки ПФОК в течение 2 лет). Дополнительные гистологические эффекты, наблюдаемые у крыс в исследованиях более короткой продолжительности, включали некроз при $\geq 1,72$ мг/кг/сутки, вакуолизацию цитоплазмы при ≥ 5 мг/кг/сутки, а также жировые изменения, ангиктазию, застойные явления и ацидофильное поражение при 20 мг/кг/сутки. Таким образом, увеличение масса печени и гепатоцеллюлярная гипертрофия рассматриваются при оценке доза – эффект как средство предотвращения более серьезных гистологических эффектов, наблюдаемых при более высоких дозах.

В эпидемиологических исследованиях прослеживается взаимосвязь между воздействием ПФОК и повышением уровня печеночных ферментов (включая АСТ, АЛТ и ГГТ); однако эти данные не могут быть использованы для расчета из-за существенных ограничений (отсутствие последовательности и специфичности результатов, слабость эффектов, временные факторы). Сывороточные уровни, при которых наблюдались эффекты у человека, были порядка 1000 нг/мл в профессиональных исследованиях и < 10 нг/мл в экологических исследованиях, что ниже сывороточных концентраций, связанных с NOAEL (7100 нг/л) и LOAEL (41 000 нг/мл) в 13-недельном исследовании.

Изменение уровня липидов в сыворотке крови наблюдалось на тех же уровнях, что и появление печеночных эффектов. Самая низкая доза, при которой регистрировалось изменение липидов

сыворотки крови, составляла 0,3 мг/кг в сутки у крыс, подвергавшихся воздействию в течение 14 дней (снижение общего холестерина) или 29 дней (снижение общего и ЛПВП холестерина). Типичными наблюдаемыми изменениями были снижение уровня общего холестерина, ЛПВП и триглицеридов. Так как в эпидемиологических исследованиях и экспериментах на животных отсутствовала четкая зависимость доза-эффект, количественная оценка влияния липидов сыворотки крови не проводилась. Однако принимая во внимание вышесказанное, считаем, что расчет допустимой дозы суточного потребления, основанный на печеночных эффектах, является достаточным и для учета неблагоприятных липидных изменений.

С целью учета больших межвидовых различий в фармакокинетике, точка отсчета для гепатоцеллюлярной гипертрофии в случае человека рассчитана по формуле:

$$\text{ТОЧ} = \text{NOAEL} / 96 = 0,06 / 96 = 0,000625 \text{ мг/кг в сутки,}$$

где 96 – это доза-специфический коэффициент AKUF для крыс в интервале 0,01 мг/кг в сутки, определенный экспериментально.

С учетом коэффициента неопределенности 25 (как произведение межвидового фактора неопределенности 2,5 и внутривидового фактора неопределенности 10) допустимая суточная доза составляет $0,000625 / 25 = 0,000025$ мг/кг массы тела в сутки.

Величина суточного потребления ПФОК с питьевой водой допустимая для здоровья с учетом неканцерогенного риска определяется следующим образом:

$$(0,000025 \text{ мг/кг массы тела в день} \times 70 \text{ кг} \times 0,2) / 2 \text{ л/сут} = 0,000175 \text{ мг/л} \approx 0,0002 \text{ мг/л,}$$

где 0,000025 мг/кг массы тела в день – допустимое суточное потребление;

70 кг – средняя масса тела взрослого человека;

0,2 – коэффициент распределения для питьевой воды, используемый в качестве «минимального значения», поскольку питьевая вода не является основным источником воздействия, есть свидетельства поступления ПФОК в организм человека из других источников (воздух, пища, почва или потребительские товары);

2 л/сут. – ежедневный объем воды, потребляемый взрослым; кожное и ингаляционное воздействие от купания и душа не считается значительным.

Таким образом, допустимая для здоровья доза суточного потребления ПФОК с учетом неканцерогенного риска составляет 0,0002 мг/л. Данная величина в 100 раз ниже полученной при оценке канцерогенного риска и обеспечивает защиту от канцерогенного фактора при поступлении ПФОК с питьевой водой в орга-

низм человека, поэтому введение дополнительных коэффициентов запаса считаем нецелесообразным.

На основании сравнения результатов оценки канцерогенного (0,02 мг/л по эффекту возникновения аденом клеток Лейдига) и неканцерогенного (0,0002 мг/л по эффекту гепатоцеллюлярной гипертрофии) рисков предлагаем установить предельно допустимую концентрацию ПФОК в питьевой воде на уровне 0,0002 мг/л, лимитирующий показатель вредности – санитарно-токсикологический, класс опасности – 1. Обоснованная нами величина ПДК ПФОК созвучна установленным гигиеническим нормативам Канады (0,0002 мг/л), Германии и Дании (0,0003 мг/л).

Обоснование гигиенического норматива ПФОК в воздухе рабочей зоны

Установление величины ПДК основано на 13-недельном эксперименте на крысах, в результате которого был определен параметр NOAEL для аммонийной соли перфтороктановой кислоты в 1 мг/кг с пищей (= 0,06 мг/кг массы тела) по признакам гипертрофии печени, обнаруживаемой патогистологически. Поскольку периоды полураспада перфтороктановой кислоты у крыс и человека сильно различаются, предельное значение может быть установлено только на основании нагрузки на организм, а не дозы, связанной с массой тела. Доза ПФОК в 1 мг/кг массы тела соответствует концентрации 7 мкг/мл сыворотки крови. Поскольку параметр NOAEL для обезьян не установлен, величина NAEL рассчитана корреляционным методом [11].

Согласно данным токсикокинетических исследований следует, что линейная экстраполяция концентрации ПФОК в сыворотке крови на уровне 7 мг/л соответствует для обезьян концентрации ПФОК 0,57 мг на 1 кг печени, что ожидаемо приведет к относительному увеличе-

нию массы печени на 1%. Эта величина принимается как NAEL для обезьян. Концентрация 41 мг/л (LOAEL для крыс) соответствует увеличению относительной массы печени обезьяны на 8%. Поскольку крысы и обезьяны реагируют при одинаковой концентрации ПФОК в сыворотке крови с аналогичной чувствительностью в отношении увеличения массы печени, можно предположить, что NAEL на уровне 7 мг/л применима и в случае человека (при условии линейной кинетики) [11].

Концентрация в крови 7 мг/л соответствует концентрации в воздухе 0,005 мг/м³. Концентрация в воздухе рассчитана по формуле [11]:

$$C_{\text{воздух}} = (C_{\text{кровь}} \times V_d \times m) / (R / 100 \times AV \times T_{1/2} / \ln 2) \times 1000,$$

где период полураспада ПФОК $T_{1/2} = 3,8$ года = 1387 дней,

объем вдыхаемого воздуха $AV = 10000$ л,

масса тела $m = 70$ кг,

объем распределения $V_d = 0,21$ л/кг,

удержание $R = 100\%$.

Рекомендуемая ПДКс.с. в воздухе рабочей зоны – 0,005 мг/м³, аэрозоль, 1 класс опасности. Аналоги ПДК – МАС Японии, Германии, Швейцарии для ПФОК – 0,005 мг/м³.

Заключение. На основании обобщения массива экспериментальных и эпидемиологических данных воздействия ПФОК на организм человека обоснованы и рекомендованы к утверждению величины ПДК в воде на уровне 0,0002 мг/л, санитарно-токсикологический лимитирующий показатель вредности, 1 класс опасности, ПДК в воздухе рабочей зоны 0,005 мг/м³, аэрозоль, 1 класс опасности. Для осуществления контроля ПФОК в воздухе рабочей зоны и воде разработаны методы аналитического контроля в соответствующих средах, основанные на жидкостной хроматографии с применением масс-спектрометрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

1. ECHA. European Chemicals Agency's Dissemination portal with information on chemical substances registered under REACH.
2. OECD/UNEP Global PFC Group, Synthesis paper on per- and polyfluorinated chemicals (PFCs). Environment, Health and Safety, Environment Directorate, OECD, 2013, 60 p.
3. GHS Classification Results (J-GHS). National Institute of Technology and Evaluation /NITE/. Japan.
4. PubChem. U.S. National Library of Medicine. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
5. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. -France, IARC, 2017. - Vol. 110.
6. CCOHS RTECS. Canadian Centre Occupational Health and Safety, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, 2020.
7. База данных Федерального регистра потенциально опасных химических и биологических веществ / Database of the Federal Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances (in Russian).
8. Perfluorooctanoic acid (PFOA) in drinking water. Health Canada. Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water, 2016, 99 p.
9. Drinking water health advisory for perfluorooctanoic acid (PFOA). U.S. Environmental Protection Agency, 2016, 103 p.
10. Perfluoroalkylated substances: PFOA, PFOS and PFOSA. Environmental project № 1665, 2015. Danish Ministry of the Environment, 2015, 89 p.
11. Perfluorooctanoic acid and its inorganic salts. MAK Value Documentation, 2006. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb33567e4115>.
12. Assessment of PFOA in the drinking water of the German Hochsauerlandkreis Statement by the Drinking Water commission (Trinkwasserkommission) of the German Ministry of Health at the Federal Environment Agency, 2006.
13. Directive of the European parliament and of the council on the quality of water intended for human consumption. Proposal 2017/0332.
14. OECD SIDS. Initial Assessment Report, 2007. - 418 p.
15. Вредные вещества в окружающей среде. Кислородсодержащие органические соединения. Часть II: Справочно-энциклопедическое издание /Под ред. В.А. Филова, Б.А. Ивина, Ю.И. Мусийчука. - СПб.: АНО НПО «Профессионал», 2004, 2007. - С. 68. / Harmful substances in the environment. Oxygen-containing organic compounds. Part II: reference-encyclopedia edition / ed. V.A. Filov, B.A. Ivin, J.I. Musiichuk. - St. Petersburg: ANO NPO "Professional", 2004, 2007. - p. 68 (in Russian).
16. МУ 2.1.5.720-98 Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. / МУ 2.1.5.720-98 Substantiation of hygienic standards for chemicals in the water of water bodies for domestic, drinking and cultural use of water (in Russian).

Kh.Kh. Khamidulina^{1,2}, E.V. Tarasova¹, A.S. Proskurina^{1,2}, A.R. Egiazaryan¹, I.V. Zamkova¹,
E.V. Dorofeeva, E.A. Rinchindorzhieva¹, S.A. Shvykina¹, E.S. Petrova³

ON THE NEED FOR THE DEVELOPMENT OF HYGIENIC STANDARDS (MACs) IN THE WATER AND AIR OF THE WORKING AREA FOR PERFLUOROCTANOIC ACID IN THE RUSSIAN FEDERATION

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

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

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119435, Moscow, Russian Federation

Currently, perfluorooctanoic acid (PFOA) has no hygienic standards in the air of the working area and objects of the human environment in the Russian Federation.

By the decision of the Stockholm Convention SC-9/12, PFOA, its salts and derivatives are included in Part I of Annex A of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants in 2019 (with exceptions for possible use). The Rotterdam Convention on the Prior Informed Consent Procedure for Certain Hazardous Chemicals and Pesticides in International Trade included PFOA, its salts and derivatives in the list of potential candidates for inclusion in Annex III of the Rotterdam Convention at the next meeting COP10 in 2021.

The use of this chemical on the territory of the Russian Federation entails water and air pollution. Industrial emissions and waste water from fluoropolymer production, thermal use of materials and products containing polytetrafluoroethylene, biological and atmospheric degradation of fluorotelomer alcohols, waste water from treatment facilities are the sources of the release of PFOA into the environment.

Analysis of international databases has showed that PFOA is standardized in the air of the working area in Germany, Japan, and Switzerland. In the countries of the European Union, as well as the USA and Canada, the issue of PFOA standardizing in drinking water is being now actively under discuss.

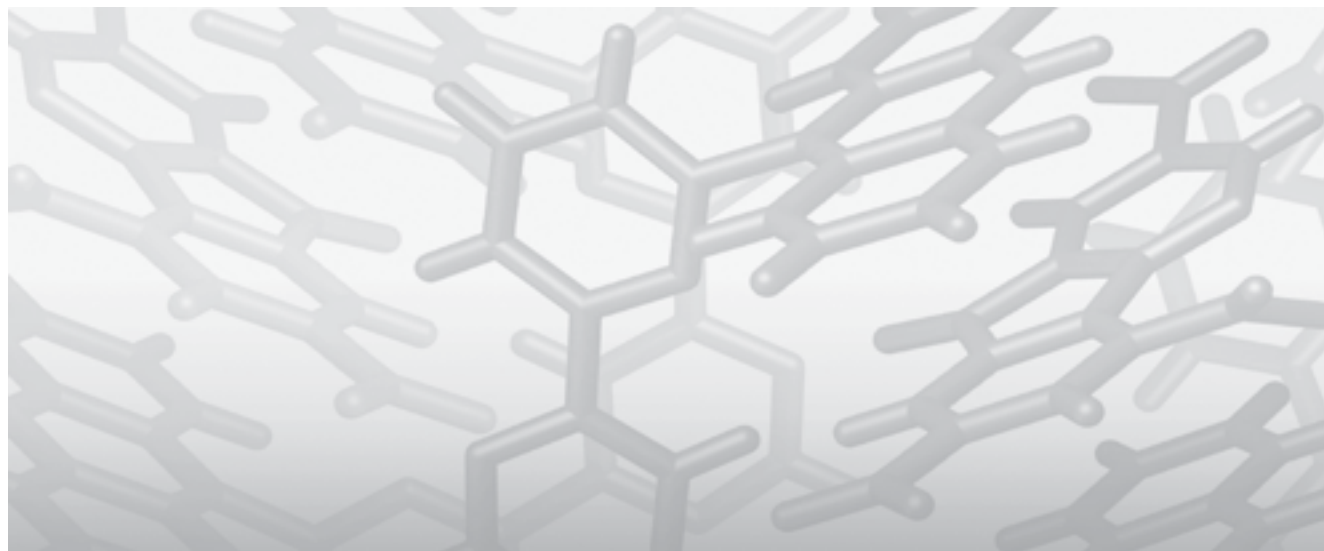
Taking into account the high toxicity and hazard of the substance and the serious concern of the civil society of the Russian Federation, the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being requested the Russian Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances to develop MACs for perfluorooctanoic acid in the air of the working area and water as soon as possible.

The MACs for PFOA have been proposed using risk analysis: 0,005 mg/m³, aerosol, hazard class 1 – in the air of the working area and 0,0002 mg/L, the limiting hazard indicator – sanitary-toxicological, hazard class 1 – in the water.

Keywords: *perfluorooctanoic acid, standardization, maximum allowable concentration, hazard.*

Quote: Kh.Kh. Khamidulina, E.V. Tarasova, A.S. Proskurina, A.R. Egiazaryan, I.V. Zamkova, E.V. Dorofeeva, E.A. Rinchindorzhieva, S.A. Shvykina, E.S. Petrova. On the need for the development of hygienic standards (MAC) in the water and air of the working area for perfluorooctanoic acid in the Russian Federation. *Toxicological Review*. 2020; 5:21-31

Материал поступил в редакцию 02.09.2020 г.



УДК 615.099:543.645.3

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-5-32-37

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ЧЕМЕРИЦЕЙ ЗА 2014-2018 ГОДЫ В ГОРОДАХ МОСКВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, ОМСК, ЧИТА И ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ – ЮГРЕ

Е.В. Мельник¹, М.В. Белова^{1,2}, А.Н. Лодягин³,
А.В. Сабаев⁴, Б.Б. Яцинюк⁵, И.А. Афонькин⁶,
И.А. Тюрин², Г.В. Раменская¹

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

²ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», 129090, г. Москва, Российская Федерация

³ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴БУЗ Омской области «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи №1», 644112, г. Омск, Российская Федерация

⁵БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», 628011, г. Ханты-Мансийск, Российская Федерация

⁶ГУЗ «Городская клиническая больница №1», 672039, г. Чита, Российская Федерация

Острые отравления чемерицей характерны для РФ в связи с применением этого растения для лечения алкоголизма в домашних условиях. Различная выраженность клинических симптомов, иногда приобретающих жизнеугрожающий характер, отсутствие анамнестически достоверной информации об использовании чемерицы и трудности химико-токсикологического подтверждения факта ее употребления осложняют диагностику острого отравления, и не позволяют своевременно оказать медицинскую помощь. Кроме того, отсутствует рубрификация отравления чемерицей в МКБ-10, Блоке (Т51-Т65), что также влияет на оценку реальной частоты данной острой интоксикации. Цель работы - уточнение количества острых отравлений чемерицей в РФ.

Проведен анализ медицинской документации пациентов, госпитализированных с острым отравлением чемерицей в токсикологические отделения ряда субъектов РФ за 2014- 2018 годы. Выявлена динамика таких острых отравлений за указанный период, гендерный и возрастной состав пострадавших, обстоятельства отравлений. Подтверждена актуальность разработки методов химико-токсикологического анализа с целью определения алкалоидов чемерицы, что позволит повысить достоверность диагностики и выявляемость случаев отравления чемерицей.

Ключевые слова: отравление чемерицей, статистический анализ, алкалоиды.

Цит: Е.В. Мельник, М.В. Белова, А.Н. Лодягин, А.В. Сабаев, Б.Б. Яцинюк, И.А. Афонькин, И.А. Тюрин, Г.В. Раменская. Статистический анализ острых отравлений чемерицей за 2014-2018 годы в городах Москва, Санкт-Петербург, Омск, Чита и Ханты-мансийском автономном округе – Югре. Токсикологический вестник. 2020; 5:32-37

Мельник Елизавета Валерьевна (Melnik Elizaveta Valer'evna), аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва, elizaveta-m05@mail.ru;

Белова Мария Владимировна (Belova Mariya Vladimirovna), доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва, maniabel@gmail.com;

Лодягин Алексей Николаевич (Lodyagin Aleksey Nikolaevich), доктор медицинских наук, руководитель отдела клинической токсикологии ГБУ «СПБ НИИ СКОРОЙ ПОМОЩИ им. И.И. Джанелидзе», г. Санкт-Петербург, alodyagin@mail.ru;

Сабаев Александр Владимирович (Sabaev Aleksandr Vladimirovich), доктор медицинских наук, заведующий отделением острых отравлений (у психиатрических больных) БУЗ ОО «ГКБ СМП №1», г. Омск, alesabaev@yandex.ru;

Яцинюк Борис Борисович (Yatsinyuk Boris Borisovich), кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии, скорой помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», г. Ханты-Мансийск, tocsboris@mail.ru;

Афонькин Игорь Анатольевич (Afonkin Igor Anatolevich), заведующий отделением острых отравлений ГУЗ «ГКБ №1», г. Чита, i.afonkin@yandex.ru;

Тюрин Игорь Александрович (Tyrin Igor Aleksandrovich), заведующий химико-токсикологической лабораторией ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», г. Москва, gcms@mail.ru;

Раменская Галина Владиславовна (Ramenskaya Galina Vladislavovna), доктор фармацевтических наук, профессор, директор Института фармации, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва, ramenskaia@mail.ru.

Введение. Ведение учета острых экзогенных отравлений является необходимым условием отражения истинной картины распространенности таких заболеваний. Установление этиологии острого экзогенного отравления требует проведения химико-токсикологических исследований (ХТИ) с использованием инструментальных методов анализа. Однако в настоящее время в отечественной лабораторной практике отсутствует единый подход к диагностике отравлений растительными ядами при помощи высокоспецифичных и высокочувствительных аналитических методов.

Среди растительных ядов представляют интерес алкалоиды чемерицы, оказывающие кардиотоксическое действие [1, 2, 3]. В РФ отравления чемерицей чаще всего происходят вследствие использования препаратов на ее основе для «условно-рефлекторной терапии алкоголизма» в домашних условиях [7]. Употребление внутрь чемеричной воды, отваров и настоек чемерицы или частей растений приводит к развитию острой интоксикации, проявлениями которой являются тошнота, рвота, диарея, гиперсаливация, бледность кожного покрова, головная боль или головокружение; а в тяжелых случаях – синусовая брадикардия, стойкое снижение артериального давления и нарушение сознания [4, 5, 6]. При этом зачастую родственники и пострадавший пытаются скрыть факт употребления чемерицы, что усложняет установление диагноза острого отравления и препятствует своевременному оказанию медицинской помощи [3]. Вариабельность степени выраженности клинических проявлений и отсутствие достоверной информации об употреблении чемерицы требует проведения дифференциальной диагностики этого состояния с инфарктом миокарда, нарушениями ритма и проводимости сердца неясного генеза, отравлением спиртами либо интоксикацией неизвестной этиологии. В ряде случаев пациент госпитализируется именно с таким, ошибочным диагнозом [3, 8].

Ведение учета отравлений чемерицей также осложняется тем, что они согласно МКБ-10 попадают в общую группу Т62.2 «Токсическое действие других ядовитых веществ, содержащихся в съеденных пищевых продуктах; в другом(их) съеденном(ых) растении(ях)», а при приеме официальных галеновых препаратов «настойка чемерицы» и «чемеричная вода» могут быть отнесены в группу Т46.9 Отравления «Другими и неуточненными средствами, влияющими преимущественно на сердечно-сосудистую систему», в связи с чем при проведении учета острых отравлений чемерицей, они должны быть вычленены из общей статистики [9]. Помимо этого, на предоставление достоверных данных может влиять и второе народное название чемерицы, – кукольник. Часто при от-

равлении чемерицей ставится диагноз «отравление кукольником», что усложняет учет общего числа отравлений данным растением сотрудниками территориальных Центров Роспотребнадзора. По мнению ряда авторов, динамика частоты случаев отравления чемерицей освещена в медицинской литературе недостаточно [3, 8]. К настоящему времени в современных отечественных медицинских изданиях нет данных статистического анализа числа отравлений чемерицей на территории РФ. *Целью данной работы* являлось уточнение количества острых отравлений чемерицей в РФ и проведение статистического анализа отравлений на примере нескольких регионов.

Материалы и методы исследования. При изучении статистики острых отравлений чемерицей была проанализирована медицинская документация (форма № 003/у, утверждена приказом МЗ СССР от 04.10.1980 № 1030 (с изм. 31.12.2002)), а также сводная учетная документация токсикологической реанимации и отделения лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского (г. Москва) за период с 2014 по 2018 гг. Помимо этого, использовались материалы, предоставленные Центром лечения отравлений НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе (г. Санкт-Петербург), Омским центром острых отравлений (г. Омск), Городской клинической больницей № 1 (г. Чита), Ханты-Мансийской государственной медицинской академией (Ханты-Мансийский автономный округ-Югра). Для всех вышеперечисленных регионов были проанализированы данные за пятилетний период с 2014 по 2018 гг. за исключением Санкт-Петербурга, где были рассмотрены данные с 2015 по 2018 гг. Все случаи острого отравления чемерицей в г. Омске были подтверждены ХТИ при помощи метода тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Статистический анализ данных был проведен с использованием RStudio версия 1.1.414.

Результаты и обсуждение. Ввиду небольшого числа случаев острого отравления чемерицей полученные данные были рассмотрены отдельно для каждой территории. На рисунке 1 представлена динамика числа острых отравлений чемерицей в период с 2014 по 2018 гг. с разделением по регионам. Отчетливая тенденция к уменьшению числа случаев отравления чемерицей наблюдалась в ХМАО-Югра. Если в 2014 г. число случаев составляло 20, то уже в 2017 и 2018 гг. таких интоксикаций не было зарегистрировано. Тенденция к снижению отравлений чемерицей с 2014 к 2016 году наблюдалась и в Москве, однако, в 2017 и 2018 гг. вновь отмечался рост числа отравлений. В то же время в 2018 г. было зафиксировано на 58% меньше случаев отравления чемерицей в сравнении с 2014 г. Для Санкт-Петербурга, Омска

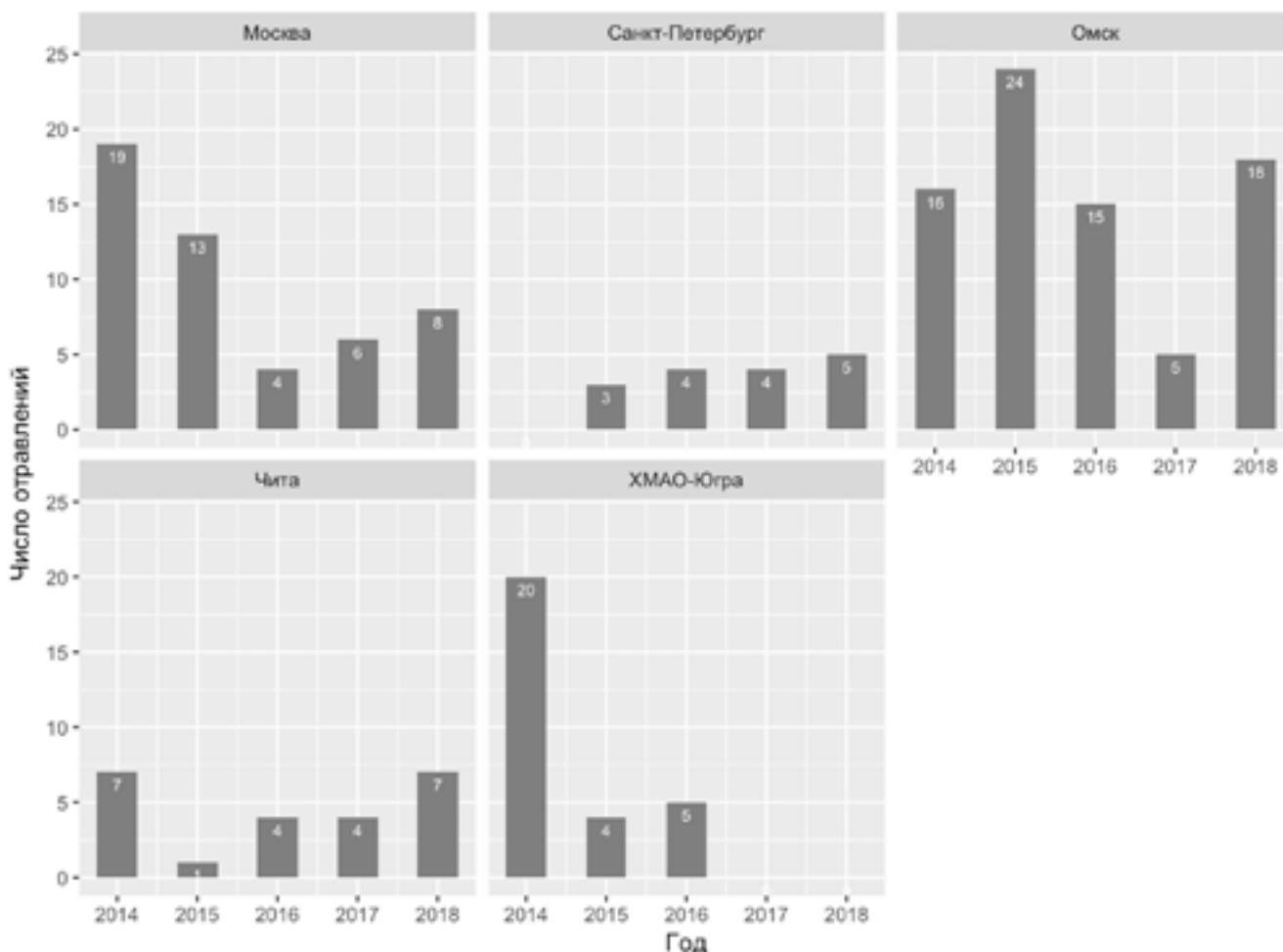


Рис. 1. Динамика абсолютного числа отравлений за период 2014-2018 гг. в г. Москве, г. Санкт-Петербурге, г. Омске, г. Чите, ХМАО-Югра.

и Читы отмечались незначительные колебания числа острых отравлений чемерицей на стабильном общем уровне. В период с 2014 по 2018 гг. наибольшее суммарное число острых отравлений чемерицей было выявлено в Омске (78 случаев), далее следовала Москва (50 случаев). Наименьшее число отравлений было зарегистрировано в Санкт-Петербурге (16 случаев за период 2015-2018 гг.).

При этом известно, что в период с 1999 по 2005 год число отравлений чемерицей составляло до 1% от общего числа госпитализированных в Иркутский токсикологический центр [5]. В те же годы доля отравлений чемерицей в Центре лечения острых отравлений г. Омск достигала 2,5-8,2% от всех госпитализированных пациентов [10]. Наши данные свидетельствуют об улучшении ситуации по данной нозологической форме болезни.

Гендерная структура острых отравлений чемерицей имела схожую картину во всех рассматриваемых регионах, поэтому распределение по полу пациентов рассчитывалось для общего числа отравлений во всех 5 регионах (196 случаев).

Подавляющее большинство (82,1%) составили пациенты мужского пола и лишь в 35 случаях - женщины. Аналогичные данные получены в Иркутском токсикологическом центре в 1999-2004 гг.: мужчины составили 65,5% от числа пациентов данной нозологии [5]. В Городской клини-

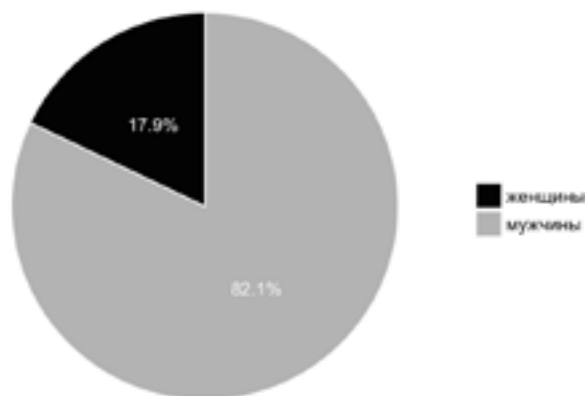


Рис. 2. Гендерная структура острых отравлений чемерицей.

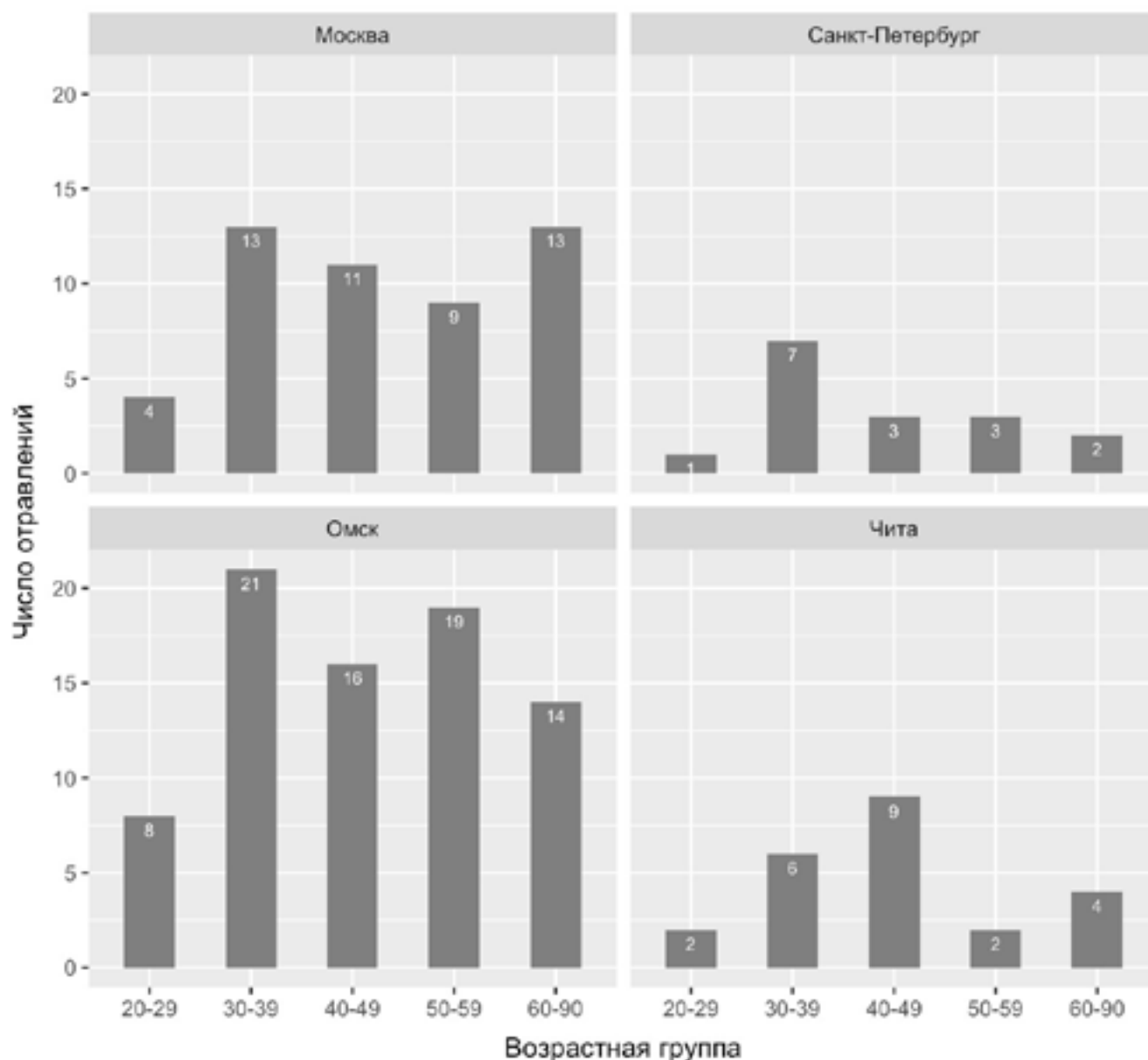


Рис. 3. Возрастное распределение отравлений чемерицей.

ческой больнице № 1 г. Читы не было зафиксировано ни одного случая острого отравления чемерицей среди пациентов женского пола.

С целью изучения возрастной структуры острых отравлений чемерицей были проанализированы данные четырех городов России (Москва, Санкт-Петербург, Омск, Чита) за период с 2014 по 2018 гг. (для Санкт-Петербурга с 2015 по 2018 гг.). На рисунке 3 представлено распределение острых отравлений чемерицей по различным возрастным группам (20-29 лет; 30-39 лет; 40-49 лет; 50-59 лет; 60-90 лет). В Москве наибольшее число отравлений наблюдалось в возрастных группах 30-39 лет и 60-90 лет (по 13 случаев). В Санкт-Петербурге преобладали отравления в возрастной группе 30-39 лет (7 случаев). В Омске больше всего отравлений также пришлось на

группу 30-39 лет (21 случай), а второй по величине была возрастная группа 50-59 лет (19 случаев). В Чите больше всего отравлений наблюдалось в группе 40-49 лет (9 случаев). Необходимо отметить, что ни в одном из четырех городов не были зарегистрированы случаи острого отравления чемерицей среди подростков в возрасте до 20 лет. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что наиболее представительной среди пострадавших является возрастная группа 30-39 лет. По данным [8] наиболее часто отравление чемерицей происходило у лиц в возрасте от 40 до 60 лет, что связано с заболеваемостью хроническим алкоголизмом именно в этой возрастной группе. Полученные нами данные могут указывать на рост заболеваемости алкоголизмом в более молодом и наиболее трудоспособном возрасте.

Представляет интерес способ отравления алкалоидами чемерицы: пострадавшие могут либо принять внутрь лекарственные препараты на основе чемерицы (настойка чемерицы, чемеричная вода), либо употребить само растение или отвар из него. Данная информация редко фиксируется в медицинской документации, однако, по полученным данным, преобладающей формой приема токсиканта являются чемеричная вода, а также настойка и отвар чемерицы, изготовленные в домашних условиях.

Вследствие сложностей в сборе и учете статистических данных между различными регионами России, а также неоднородности регистрируемых данных, представляется проблематичным ведение общей детальной статистики по острым отравлениям чемерицей. В этой связи в данной работе для пяти регионов РФ была представлена лишь общая гендерно-возрастная характеристика пострадавших. Однако более подробно острые отравления чемерицей могут быть охарактеризованы на основании данных НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

Так, в период с 2011 по 2018 гг. в токсикологическую реанимацию, а также отделения лечения острых отравлений НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского поступило 92 пациента с диагнозом «отравление чемерицей», либо «отравление кукольников». 70% от общего числа пострадавших находились в тяжелом состоянии и были доставлены в токсикологическую реанимацию. Остальные поступили в состоянии средней степени тяжести в отделения лечения острых отравлений. Подобное распределение пациентов по тяжести отравления (71,9%/ 28,1%) зафиксировано и в работе [5].

Исходя из анамнестических данных, 87% отравлений носили случайный характер при приеме препаратов чемерицы с целью самолечения от

алкоголизма. 9% отравлений произошли вследствие попытки суицида. При этом смертельного исхода ни в одном случае отравления не было зарегистрировано. Следует отметить, что 37% пациентов с острым отравлением чемерицей находились в состоянии алкогольного опьянения.

Схожая картина отмечалась и в Омске. По данным Омского центра острых отравлений все случаи отравления чемерицей у пациентов мужского пола носили случайный характер на фоне алкогольного опьянения. Все случаи отравления у женщин, за исключением возрастной группы 60 лет и старше, также произошли на фоне алкогольного опьянения. При этом у женщин в возрастной группе 60 лет и старше отравления возникали вследствие ошибочного приема препаратов чемерицы в отсутствие этилового алкоголя в биологических средах организма.

Заключение. Таким образом, проанализированные сведения о случаях острых отравлений чемерицей подтверждают, что проблема острых отравлений алкалоидами чемерицы на данный момент остается актуальной в РФ. Однако установление диагноза на основании лишь клинико-anamnestических данных, которое применяется в подавляющем большинстве регионов РФ, может осложнять диагностику в случаях сокрытия факта употребления чемерицы, а, следовательно, и вносить неточность при ведении учета случаев таких отравлений. В этой связи представляется необходимым внедрение лабораторной диагностики отравлений алкалоидами чемерицы при помощи высокоспецифичных и высокочувствительных инструментальных методов анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием), что позволит повысить достоверность установленного диагноза и выявляемость случаев отравления чемерицей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

- Li H.-J., Jiang Y., Li P. Chemistry, bioactivity and geographical diversity of steroidal alkaloids from the Liliaceae family. *Nat. Prod. Rep.* 2006; 23(5): 735.
- Суворов А.В., Кауров Я.В., Суворов М.А. Особенности нарушения ритма и проводимости сердца при острых отравлениях кардиотоксическими веществами. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2014; 3: 26-30. / Suvorov A.V., Kaurov Ya.V., Suvorov M.A. Violation of rhythm and conductivity of heart in acute poisoning with cardiotoxic substances. *Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Series: Medicine.* 2014; 3: 26-30 (in Russian).
- Мишина Т.П., Лукьянова И.Ю., Бидерман Ф.М., Афанасьева И.В. Отравление чемерицей. Скорая медицинская помощь. 2013; 14(3): 48-51. / Mishina T.P., Lukyanova I.Yu., Biederma F.M., Afanaseva I.V. Hellebore poisoning. *Emergency Medical Care.* 2013; 14(3):48-51 (in Russian).
- Schep L.J., Schmierer D.M., Fountain J.S. Veratrum poisoning. *Toxicol. Rev.* 2006; 25(2): 73-78.
- Зобнин Ю.В., Любимов Б.М., Мalykh A.Ф., Провадо И.П., Третьяков А.Б. Отравление алкалоидами вератрина по данным Иркутского токсикологического Центра. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2006; 7: 91-93. Ссылка активна на 03.06.2020. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/otравlenie-alkaloidami-veratrina-po-dannym-irkutskogo-toksikologicheskogo-tsentra>. / Zobnin Yu.V., Lyubimov B.M., Malykh A.F., Provado I.P., Tretjakov A.B. Poisoning with alkaloids of veratrine according to the date of the Irkutsk Toxicological Center. *Siberian Medical Journal (Irkutsk).* 2006; 7: 91-93 (in Russian). Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/otравlenie-alkaloidami-veratrina-po-dannym-irkutskogo-toksikologicheskogo-tsentra> (Accessed 3 June 2020).
- Лужников Е.А., ред. Медицинская токсикология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012. / Luzhnikov E.A. *Medical toxicology: national guidelines.* Moscow: GEOTAR-Media; 2012 (in Russian).
- Рожанец В.В., Нужный В.П. О допустимости использования чемерицы Лобеля (кукольник) для условно-рефлекторной терапии алкоголизма. *Наркология.* 2003; 2(4):45-48. / Rozhanets V.V., Nuzhny V.P. About permissibility of veratrum intake for conditioned reflex therapy of alcoholism. *Narcology.* 2003; 2(4): 45-48 (in Russian).
- Мусихин И.Г., Шугурова Г.Г., Шевченко Е.В. Отравление кукольником (чемерицей). Неотложная терапия. 2004; 1/2: 59-61. / Musikhin I.G., Shugurova G.G., Shevchenko E.V. Veratrum poisoning. *Emergency therapy.* 2004; 1/2: 59-61 (in Russian).
- Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Ссылка активна на 03.06.2020. Available at: <https://mkb-10.com/index.php?pid=19257>. / The 10th revision of the International classification of diseases (ICD-10). The link is active on 03.06.2020. Available at: <https://mkb-10.com/index.php?pid=19257> (Accessed 3 June 2020).
- А.В. Сабаев, В.Т. Долгих, А.Г. Коробейникова, С.И. Полубоярцев. Анализ причин и структуры острой химической травмы по данным Центра лечения острых отравлений города Омска за 2000–2004 годы. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (2): 33-36. / Sabaev A.V., Dolgikh V.T., Korobejnikova A.G., Polubojarev S.I. Analysis of the causes and pattern of acute chemical injury: the 2000-2004 data of the Omsk Acute Intoxication Center. *General resuscitation science.* 2006; 2 (2): 33-36 (in Russian).

E.V. Melnik¹, M.V. Belova^{1,2}, A.N. Lodyagin³, A.V. Sabaev⁴, B.B. Yatsinyuk⁵, I.A. Afonkin⁶, I.A. Tyurin², G.V. Ramenskaya¹

STATISTICAL ANALYSIS OF VERATRUM ACUTE POISONINGS DURING 2014-2018 IN MOSCOW, SAINT PETERSBURG, OMSK, CHITA, AND KHANTY-MANSIYSK AUTONOMOUS OKRUG – UGRA

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russian Federation

²N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department, 129090, Moscow, Russian Federation

³Saint Petersburg Research Institute of Emergency Medicine n.a. I.I. Dzhanelidze, 192242, Saint Petersburg, Russian Federation

⁴Municipal Clinical Hospital of Emergency Medical Care №1 of Omsk, 644112, Omsk, Russian Federation

⁵Khanty-Mansiysk State Medical Academy, 628011, Khanty-Mansiysk, Russian Federation

⁶Municipal Clinical Hospital №1, 672039, Chita, Russian Federation

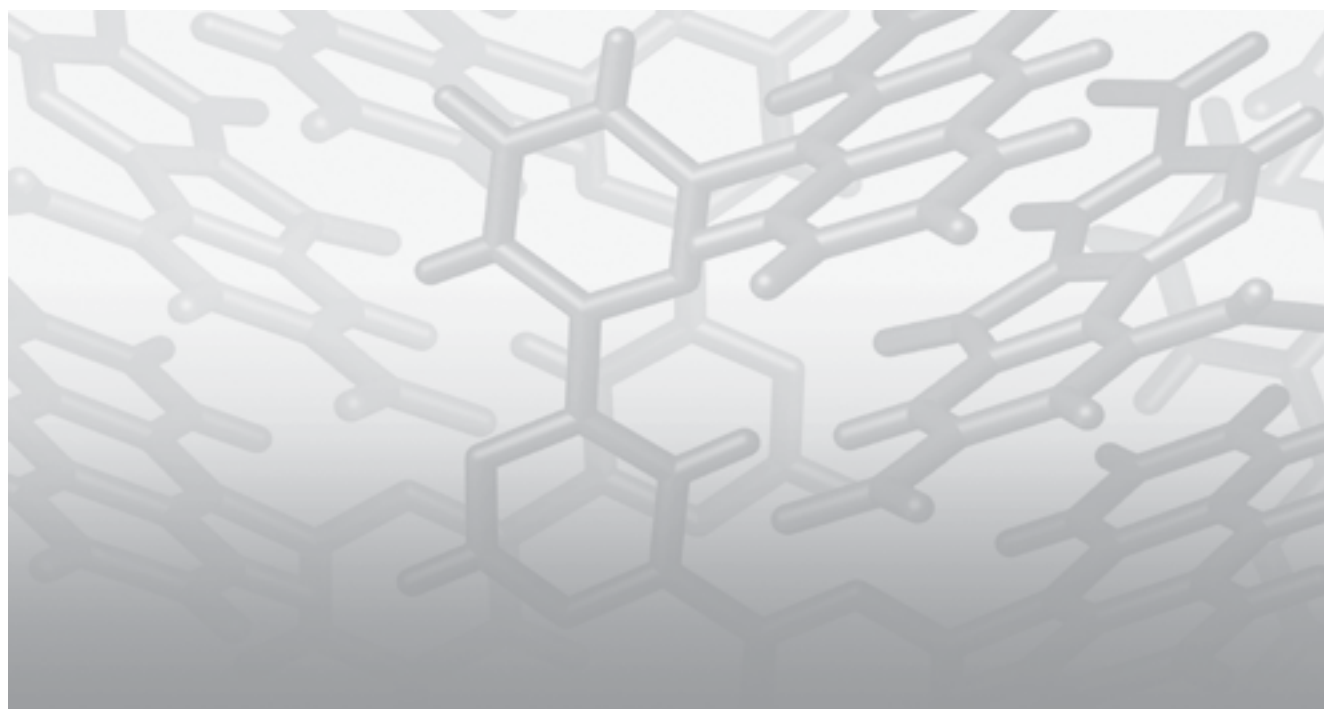
Acute hellebore poisoning is characteristic for the Russian Federation because of the use of this plant for the treatment of alcoholism at home. The varying severity of clinical symptoms, which sometimes become life-threatening, the lack of anamnestic reliable information about the use of hellebore and the difficulties of chemical and toxicological confirmation of its use complicate the diagnosis of acute poisoning, and do not allow timely medical care. In addition, there is no classification of hellebore poisoning in ICD-10, block (T51-T65), which also affects the assessment of the actual frequency of this acute intoxication.

The purpose of this work is to clarify the number of acute hellebore poisoning in the Russian Federation. The analysis of medical records of patients hospitalized with acute hellebore poisoning in toxicological departments of a number of subjects of the Russian Federation for 2014 - 2018 was carried out. The dynamics of such acute poisoning over the specified period, the gender and age composition of victims, and the circumstances of poisoning were revealed. The relevance of developing methods of chemical and toxicological analysis for the determination of hellebore alkaloids is confirmed, which will increase the reliability of diagnosis and detection of cases of hellebore poisoning.

Keywords: *hellebore poisoning, statistical analysis, alkaloids.*

Quote: E.V. Melnik, M.V. Belova, A.N. Lodyagin, A.V. Sabaev, B.B. Yatsinyuk, I.A. Afonkin, I.A. Tyurin, G.V. Ramenskaya. Statistical analysis of veratrum acute poisonings during 2014-2018 in Moscow, Saint Petersburg, Omsk, Chita and Khanty-Mansiysk autonomous okrug – Ugra. *Toxicological Review*. 2020; 5:32-37

Материал поступил в редакцию 09.07.2020 г.



ОСОБЕННОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЯДОМ МЕДУЗЫ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

В.В. Шилов^{1,2}, В.А. Лукин^{1,2},
Л.П. Пивоварова², М.И. Громов²

¹ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова» Минздрава РФ, 195067, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Медузы как представители морской фауны, содержат в своих телах ядовитые химические вещества и в случае контакта с человеком могут представлять угрозу для его здоровья и безопасности. В статье приводится описание клинического наблюдения пациентки, получившей химическую травму в результате контакта правой верхней конечностью с ядовитой медузой (медуза корнерот) и в течение 35 суток проходившей стационарное лечение по поводу острого отравления ядом животного происхождения, химического ожога, токсико-аллергического дерматита, эпидермолиза, некроза мягких тканей и компрессионно-ишемической нейропатии. Результаты лабораторных исследований подтвердили наличие воспалительного процесса, но без аллергического и аутоиммунного компонентов (лейкоцитоз $16,7 \times 10^9/\text{л}$, ускорение СОЭ до 21 мм/час), выявили повышение уровня трансаминаз при поступлении: аланинаминотрансфераза 138,3 ед/л (норма 0-31 ед/л), аспартатаминотрансфераза 94,8 ед/л (норма 0-31 ед/л), гамма-глутамилтрансфераза 97 ед/л (норма 0-32 ед/л). Предшествующая медикаментозная терапия, включающая введение противостолбнячной сыворотки (однократно), антигистаминных (хлоропирамин), гормональных (преднизолон), антикоагулянтных (гепарин натрия), спазмолитических (метамизол натрий, питофенона гидрохлорид, фенпивериния бромид), антиагрегантных (пентоксифиллин, никотиновая кислота) средств, глюконата кальция, поливитаминов в терапевтических дозах, наложение повязок «Джелонет», «Фибротюль Аргентум», была недостаточно эффективна. Комплексная терапия регуляторами клеточного метаболизма, антигипоксантами, ингибиторами холинэстеразы с применением гипербарической оксигенации и мембранного плазмафереза позволила достигнуть стойкого эффекта: купировать болевой синдром, нормализовать нарушенные функции внутренних органов и пораженной конечности, избежать хирургического вмешательства, полностью восстановить трудоспособность. Данный комплекс лечебных мероприятий целесообразно применять в лечении пациентов с подобной патологией.

Ключевые слова: медуза, яд, лечение, гипербарическая оксигенация, мембранный плазмаферез.

Цит: В.В. Шилов, В.А. Лукин, Л.П. Пивоварова, М.И. Громов. Особенности терапии при остром отравлении ядом медузы (клиническое наблюдение). Токсикологический вестник. 2020; 5:38-42

Среди многочисленных видов ксенобиотиков химической этиологии определенное место отводится ядам животного происхождения, в том числе содержащимся в медузах, обитающих в мировом океане [1]. Медузы как фаза жизненного цикла многоклеточных, относятся к кишечнополостным беспозвоночным (Cnidaria),

размножаются половым путём, состоят из соединительной ткани, содержащей 98% воды. Для нападения они используют стрекательные клетки книдоциты (нематоциты), парализующие или умерщвляющие жертву [2]. Отростки стрекательных клеток медузы проникают через кожный покров и вводят комплексный

Шилов Виктор Васильевич (Shilov Victor Vasilevich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург, vshilov@inbox.ru;
Лукин Вадим Анатольевич (Lukin Vadim Anatolevich), доктор медицинских наук, заведующий отделением токсикологии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», г. Санкт-Петербург, Vadim.Lukin@mail.ru;
Пивоварова Людмила Павловна (Pivovarova Ludmila Pavlovna), доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», г. Санкт-Петербург, pivovaroval@yandex.ru;
Громов Михаил Иванович (Gromov Michail Ivanovich), доктор медицинских наук, руководитель отдела эфферентной терапии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», г. Санкт-Петербург, sekt@emergency.spb.ru

яд, содержащий полипептиды и белки высокой молекулярной массы с широким спектром токсического действия локального и системного характера. Местный эффект яда обусловлен высвобождением большого количества гистамина из гранул тучных клеток, а также активностью фосфолипазы А₂ [3,4]. Системные проявления (нейро-, кардио-, гемо-, цитотоксические) отравления формируются в результате попадания токсинов в кровоток [1, 5, 6]. В результате у пациентов могут развиваться токсико-аллергические реакции, расстройства сосудистого тонуса, нарушение нервно-мышечной проводимости [1, 2].

В доступных литературных источниках в основном описаны лечебные мероприятия первой помощи. В зависимости от вида медузы представлены результаты лечения и доказательства эффективности применения местных анальгетиков, гидрокарбоната натрия, 4-6% раствора уксусной кислоты, горячей воды [7, 8]. Важнейшими шагами при развитии интоксикации является базовая поддержка функций жизнеобеспечения и максимальное удаление стрекательных клеток [1].

Однако не существует обоснованных методик лечебных мероприятий, направленных на лечение в более поздние сроки после контакта.

В представленном случае приведены результаты использования комплекса различных методов лечения интоксикации ядом животного происхождения.

Пациентка С., 51 года подверглась нападению медузы корнерота большого размера (более 1 метра в диаметре) в районе Северного Гоа (Индия). Гоа считается единственным местом в мире, свободным от медуз, но именно в тот период в связи с переменной солености, температуры воды и насыщенностью её планктоном, произошло изменение путей миграции медуз. Начальные симптомы в виде острой боли в области правой кисти (места контакта) и психомоторное возбуждение развились в течение 20 минут с момента соприкосновения с медузой. Ещё через 30 минут в местах контакта появились гиперемия, отёк, онемение пальцев и всей правой верхней конечности, развились слабость, тошнота, головокружение. Изначально пострадавшая была госпитализирована в ближайший стационар, где ей провели детоксикационную терапию, которая не привела к улучшению состояния. Через 7 суток пациентка была переведена в лечебное учреждение города Москвы, где находилась в течение двух недель. На момент поступления в стационар у неё сохранялись жалобы на боли и резкое уменьшение подвижности в суставах правой верхней конечности. При осмотре были выявлены: увеличенная правая верхняя

конечность на всем протяжении до подмышечной впадины за счет выраженного отёка мягких тканей, плотная и холодная при пальпации во всех сегментах, кожный покров был поврежден на площади до 4,5% поверхности тела в виде гиперемии, частично эпителизирующейся поверхности, образования новых пузырей с серозным содержимым, десквамации эпителия, формирования тонких некрозов на предплечье и на ладонной поверхности кисти. Объем движений во всех суставах ограничен, снижена кожная чувствительность. Состояние расценено как тяжелое, обусловленное действием яда животного происхождения, токсико-аллергическим дерматитом, лимфангоитом, лимфаденитом, компрессионно-ишемической нейропатией правой верхней конечности. Лечение включало введение противостолбнячной сыворотки (однократно), антигистаминных (хлоропирамин), гормональных (преднизолон), антикоагулянтных (гепарин натрия), спазмолитических (метамизол натрий, питофенона гидрохлорид, фенпивериния бромид), антиагрегантных (пентоксифиллин, никотиновая кислота) средств, глюконата кальция, поливитаминов в терапевтических дозах, наложение повязок «Джелонет», «Фибротюль Аргентум».

В центр по лечению острых отравлений ГБУ «Санкт Петербургский НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе» больная обратилась спустя 22 суток после инцидента.

При поступлении состояние больной было тяжёлым, стабильным. Тяжесть состояния была обусловлена интоксикацией вследствие химического ожога, дерматита, эпидермолиза, влажного некроза, нейропатии. Пациентка предъявляла жалобы на боли в правой кисти в местах



Рис. 1. Пациентка С. Отек мягких тканей правой кисти, десквамация эпителия, токсико-аллергический дерматит, влажный некроз третьего и четвертого пальцев. 22 сутки с момента контакта



Рис. 2. Пациентка С. На 52 сутки от момента контакта с медузой (после лечения)

химического ожога, резкое ограничение активных и пассивных движений кисти и пальцев. Зрачки S=D, симметричные, 3 мм в диаметре. Реакция на свет и корнеальные рефлексy сохранены. Менингеальные знаки отсутствуют. Температура тела 37°C. Движения глазных яблок в полном объеме. Нистагма нет. Нормостенического телосложения. Периферических отеков нет. Дыхание везикулярное. Хрипов нет. Частота дыхания 16 раз в минуту. Гемодинамически стабильна. Артериальное давление (АД): 130 и 80 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений 85 в минуту. Живот мягкий. Печень не увеличена. Диурез сохранен.

Status localis: (рис.1) правая верхняя конечность на всем протяжении увеличена в размерах за счет выраженного отёка мягких тканей, плотная и холодная при пальпации, с ограничением активных и пассивных движений в локтевом, лучезапястном и межфаланговых суставах, кожный покров поврежден на площади до 4,5% в виде гиперемии, частично эпителизирующихся поверхностей, наличия пузырей с серозным содержимым, десквамации эпителия, некрозов кожи на внутренней поверхности пальцев и концевых фаланг. Кожная чувствительность снижена.

Результаты лабораторных исследований: лейкоцитоз ($16,7 \times 10^9/\text{л}$), сохраняющийся 10 суток и повышенное СОЭ (21 мм/час). Биохимические показатели при поступлении: аланинаминотрансфераза 138,3 ед/л (норма 0-31 ед/л), аспартатаминотрансфераза 94,8 ед/л (норма 0-31 ед/л), гамма-глутамилтрансфераза 97 ед/л (норма 0-32 ед/л); показатели содержания в крови общего билирубина, креатинина, креатинкиназы, калия, натрия, кальция, лактатдегидрогеназы, С-реактивного белка были в пределах

референтных значений. Коагулологическое исследование: протромбиновая активность по Квику 88 % (норма более 70%), протромбиновое время 13,8 сек, международное нормализованное отношение 1,08 (норма 0,85-1,15).

С целью исключения возможного развития аллергического и аутоиммунного компонента воспаления исследовали иммунологические показатели крови: концентрации сывороточных иммуноглобулинов (Ig) А, М, G, E, секреторного IgA, иммунных комплексов (ИК), спонтанную миграцию лейкоцитов и индекс торможения миграции лейкоцитов (ИТМЛ), вызванного митогеном фитогемагглютинином (ФГА) в концентрации 30 мг/л.

Было отмечено умеренное увеличение миграционной активности лейкоцитов крови (79 отн. ед. при норме 55,8 – 59 отн.ед.) и концентрации секреторного иммуноглобулина (5,6 мг/л при норме 1,7 – 5,4 мг/л) как отражение умеренно выраженного воспалительного процесса. Концентрации общего IgE, IgG, и величина индекса торможения миграции лейкоцитов (митоген фитогемагглютинин) свидетельствовали об отсутствии лабораторных признаков аллергической реакции; концентрации ИК, IgM и IgA – об отсутствии аутоиммунного компонента кожных повреждений.

Одновременно наблюдали умеренно выраженную гиперкортизолемию, которая может иметь место как при продолжающемся воспалительном процессе, так и при стрессе.

При бактериологическом исследовании содержимого пузырей выделены коагулазонегативные стафилококки (CNS) 104 в 1 мл.

Диагноз сформулировали следующим образом: Основной: Острое парентеральное отравление ядом животного происхождения (контакт с ядовитой медузой). Химический ожог I-II степени 4,5% поверхности тела (правое предплечье, кисть).

Осложнения: Токсико-аллергический дерматит, эпидермолиз, некроз мягких тканей правой кисти. Компрессионно-ишемическая нейропатия срединного и локтевого нервов справа.

Результат предыдущих госпитализаций показал малую эффективность проведенной медикаментозной терапии. Составленный план индивидуального лечения включал комплекс мероприятий различной направленности действия: купирование гипоксических проявлений, восстановление нервно-мышечной передачи, а также не исключали проведение некрэктомии на ладонной поверхности правой кисти с помощью хирургического вмешательства. С целью ограничения повреждающего действия свободных радикалов на клеточные мембраны, в течение семи суток ежедневно внутривенно капель-

но вводили тиоктовую кислоту в дозе 600 мг. Для уменьшения неблагоприятного действия гипоксии, а так же улучшения микроциркуляции и обмена веществ, вводили растворы актовегина (в дозе 2000 мг) и пентоксифиллина (в дозе 100 мг) ежедневно внутривенно капельно медленно в течение 20 суток с предварительным их разведением в 250 мл изотонического раствора натрия хлорида. С целью улучшения синаптической передачи импульса с нерва на мышцу применяли ингибитор холинэстеразы ипидакрин по 15 мг 2 раза в сутки в течение 15 суток подкожно с последующим переходом на таблетированную форму в той же дозе в течение 15 суток. С целью коррекции гипоксического компонента поддержания воспаления и отёка, общего увеличения кислородной емкости жидких сред организма проводили 12 сеансов гипербарической оксигенации (ГБО) в одноместной лечебной барокамере «Sechrist-3200» (США). Сеансы выполнялись ежедневно продолжительностью по 45 минут при изокомпрессии 1,7 ата, с компрессией и последующей декомпрессией по 10 минут. С целью дополнительного ограничения экссудативного компонента системного воспаления, которое, как известно, поддерживается определенным уровнем эндотоксемии, было принято решение о проведении экстракорпорального очищения крови методом мембранного плазмафереза. Мембранный плазмаферез продолжительностью 1 час 20 минут проведен на четвёртые сутки однократно; время перфузии составило 80 минут, скорость перфузии 48 мл/мин, количество обработанной крови 3850 мл, получено 900 мл плазмы; антикоагуляция: 7,5 тыс. ЕД гепарина натрия внутривенно болюсно и 200 мл 4% раствора гидроцитрата натрия капельно в ходе процедуры. Состояние пациентки С. во время процедуры оставалось стабильным: пульс 80-75-80 ударов в минуту, АД 110/80 – 115/75 мм рт. ст.

В результате проведенных лечебных мероприятий на четвёртые сутки был полностью купирован болевой синдром, значительно уменьшился отёк и возросла двигательная активность

и кожная чувствительность правой руки. Также отмечена нормализация лабораторных показателей, характеризующих исходно повышенную активность воспаления и нарушенное функциональное состояние печени.

На 35 сутки пациентка С. была выписана с полным восстановлением двигательной активности и остаточными явлениями дерматита. Продолжить лечение рекомендовано в амбулаторных условиях.

Заключение. На представленном клиническом примере мы показали, что действие яда крупной медузы может приводить к тяжело-му эпидермолизу, некрозу мягких тканей, компрессионно-ишемической нейропатии. Причём тяжесть данных расстройств способна сохраняться на протяжении нескольких недель, что невозможно объяснить непосредственным действием яда. В клинической токсикологии это расценивается как последствия токсического воздействия яда животного происхождения. Сочетанное применение мембранного плазмафереза как метода системной детоксикации, сеансов ГБО в купе с проводимой медикаментозной терапией позволило достаточно быстро купировать болевой синдром, нормализовать нарушенные функции внутренних органов и, что очень важно, избежать хирургического вмешательства (некрэктомии) на ладонной поверхности правой кисти. На основании полученного результата можно сделать вывод о целесообразности включения в схему лечения регуляторов клеточного метаболизма, антигипоксантов, ингибиторов холинэстеразы, сеансов ГБО и мембранного плазмафереза для достижения стойкого положительного результата лечения. Восстановление трудоспособности пациентки позволяет нам считать, что данный комплекс может принести существенную пользу в лечении подобной патологии.

Словарь терминов:

ата – абсолютная атмосфера (единица измерения давления)

отн.ед. – относительные единицы

ед/л – единицы активности в 1 литре

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

1. Cegolon L., Heymann W.C., Lange J.H., Mastrangelo G. Jellyfish stings and their management: a review. *Mar Drugs*. 2013; 11(2): 523-50. Available at: <http://doi:10.3390/md11020523>.
2. Tibballs J. Australian venomous jellyfish, envenomation syndromes, toxins and therapy. *Toxicon*. 2006; 48(7): 830-59. Available at: <http://doi:10.1016/j.toxicon.2006.07.020>.
3. Haddad V., Silveira F.L., Migotto A.E. Skin lesions in envenoming by cnidarians (Portuguese man-of-war and jellyfish): Etiology and severity of accidents on the Brazilian Coast. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2010; 52(1): 47-50. Available at: <http://doi:10.1590/S0036-46652010000100007>.
4. Mariottini G.L., Pane L. Mediterranean jellyfish venoms: a review on scyphomedusae. *Mar Drugs*. 2010; 8(4): 1122-52. Available at: <http://doi:10.3390/md8041122>.
5. Cegolon L., Heymann W. C., Lange J. H., Mastrangelo G. Jellyfish Stings and Their Management: A Review. *Mar. Drugs*. 2013; 11(2): 523-50. Available at: <http://doi:10.3390/md11020523>.
6. Wolff K., Goldsmith L.A., Katz S.I., Gilchrist B.A., Paller A.S., Leffell D.J. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th. McGraw-Hill; New York, NY, USA; 2008: 2042-45.
7. Loten C., Stokes B., Worsley D., Seymour J.E., Jiang S., Isbister G.K. A randomised controlled trial of hot water (45°C) immersion versus ice packs for pain relief in bluebottle stings. *Med. J. Aust*. 2006; 184(7): 329-33. Available at: <http://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2006.tb00265.x>.
8. Remigante A., Costa R., Morabito R., La Spada G., Marino A., Dossena S. Impact of Scyphozoan Venoms on Human Health and Current First Aid Options for Stings. *Toxins* (Basel). 2018; 10(4): 133. Available at: <http://doi:10.3390/toxins10040133>.

V.V. Shilov^{1,2}, V.A. Lukin^{1,2}, L.P. Pivovarova², M.I. Gromov²

FEATURES OF THERAPY FOR ACUTE POISONING WITH JELLYFISH POISON (CLINICAL OBSERVATION)

¹I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, Department of Clinical Toxicology, 192242, Saint Petersburg, Russian Federation;

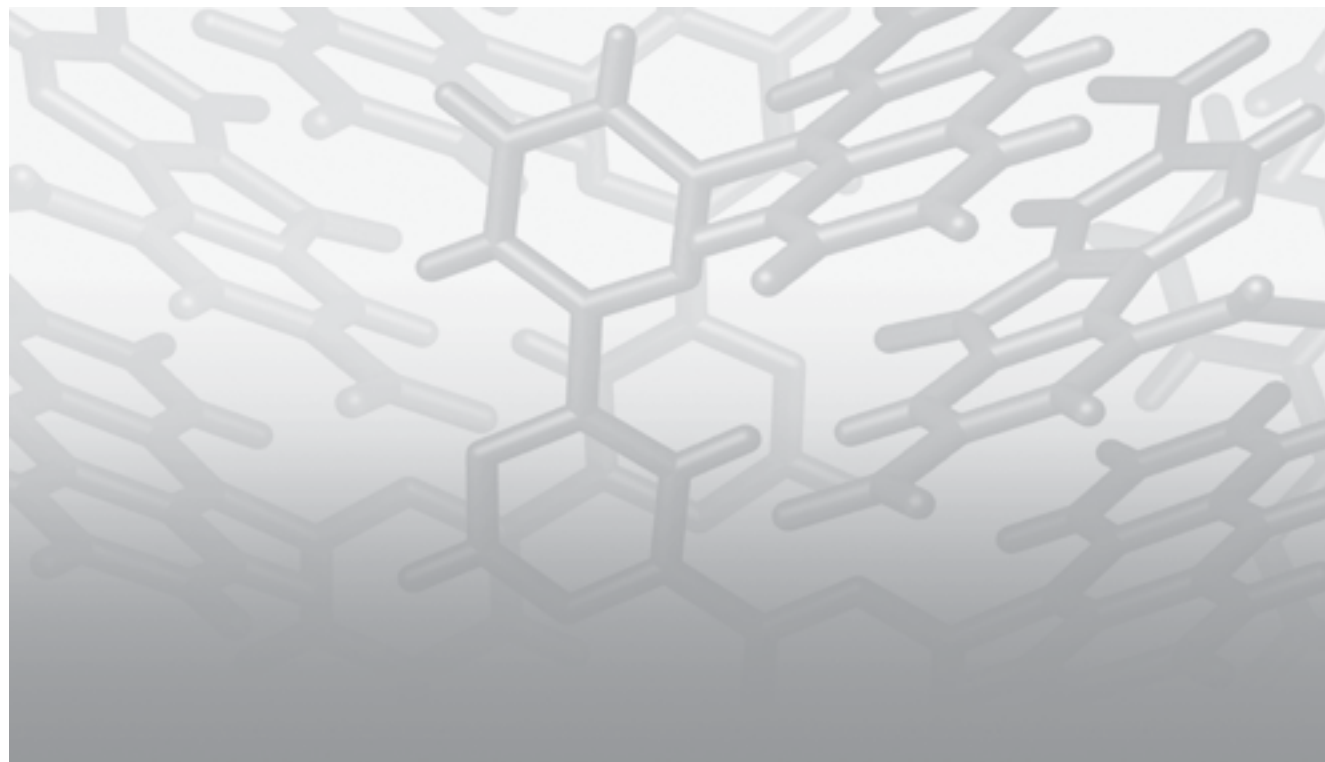
²I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Department of Toxicology, Extreme and Diving Medicine, 195067, Saint Petersburg, Russian Federation

Jellyfish, as representatives of marine fauna, contain toxic chemicals in their bodies and, if they come into contact with humans, can pose a threat to their health and safety. The article describes a clinical observation of a patient who received a chemical injury as a result of contact of the right upper limb with a venomous jellyfish (*Medusa kornerot*) and was hospitalized for 35 days with acute poisoning with animal toxin, chemical burns, toxic-allergic dermatitis, epidermolysis, soft tissue necrosis and compression-ischemic neuropathy. Laboratory results confirmed the presence of an inflammatory process, but without allergic and autoimmune components (leukocytosis $16,7 \times 10^9/l$, acceleration of ESR to 21 mm/h), revealed an increase in the level of transaminases upon admission: alanine aminotransferase 138.3 u/l (norm 0-31 u/l), aspartate aminotransferase 94,8 u/l (norm 0-31 u/l), gamma-glutamyltransferase 97 u/l (norm 0-32 units/l). Previous drug therapy, including the introduction of tetanus serum (once), antihistamines (chloropyramine), hormonal (prednisone), anticoagulants (heparin sodium), antispasmodics (Metamizole sodium, pitofenone hydrochloride, fempiverinium bromide), antiplatelet agents (pentoxifylline, nicotinic acid), calcium gluconate, multivitamins in therapeutic doses, the application of bandages «gelonet», «fibrotul Argentum», was not effective enough. Complex therapy with cellular metabolism regulators, antihypoxants, cholinesterase inhibitors using hyperbaric oxygenation and membrane plasmapheresis allowed to achieve a lasting effect: to stop the pain syndrome, normalize the disturbed functions of internal organs and the affected limb, avoid surgery, and fully restore working capacity. This complex of therapeutic measures should be used in the treatment of patients with this pathology.

Keywords: *jellyfish, poison, treatment, hyperbaric oxygenation, membrane plasmapheresis.*

Quote: V.V. Shilov, V.A. Lukin, L.P. Pivovarova, M.I. Gromov. Features of therapy for acute poisoning with jellyfish poison (clinical observation). *Toxicological Review*. 2020; 5:38-42

Переработанный материал поступил в редакцию 15.09.2020 г.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИЦИНА В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Н.Ю. Роговская, А.Ю. Горбунов,
Я.А. Дубровский,
Н.С. Хлебникова, В.Н. Бабаков

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

В работе предложена система биотестирования токсичности рицина в объектах окружающей среды с помощью технологии мониторинга клеточного индекса в реальном времени. Определена концентрация полумаксимального ингибирования (IC50) рицина ~ 6,7 нг/мл для клеток гепатомы человека линии HeraRG. Добавление антител к А- и В-субъединицам рицина в среду клеток HeraRG приводит к цитопротекторному и антиапоптотическому эффекту на фоне цитотоксического действия рицина. Антитела к рицину нейтрализуют активацию киназы JNK (фосфорилированной по Thr183/Tyr185) и предотвращают накопление активных форм каспазы 8 (гидролизованной по Asp384) и каспазы 9 (гидролизованной по Asp315), индуцированные рицином в клетках HeraRG. Исследованные антитела также предотвращают снижение внутриклеточных уровней активных форм киназы Akt 1 (фосфорилированной по Ser473) и транскрипционного фактора p53 (фосфорилированного по Ser46), вызванные рицином. Система биотестирования с использованием антител к рицину может рассматриваться как специфичный метод идентификации токсина в объектах окружающей среды.

Ключевые слова: рицин, биотестирование, маркеры апоптоза.

Цит: Н.Ю. Роговская, А.Ю. Горбунов, Я.А. Дубровский, Н.С. Хлебникова, В.Н. Бабаков. Определение рицина в объектах окружающей среды с помощью биотестирования. Токсикологический вестник. 2020; 5:43-49

Введение. Рибосом-инактивирующие белки растений принадлежат к числу наиболее токсичных соединений. К таким белкам относится большое семейство лектинов [1,2], включая такие токсины как рицин, абрин, модецин и ряд других. Рицин входит в список соединений, контролируемых Конвенцией о запрещении химического оружия. Быстрое определение токсичных свойств рицина в объектах окружающей среды возможно с помощью биотестирования с использованием различных хорошо пролиферирующих клеточных линий [3,4].

Лектины способны высокоспецифично связывать терминальные β-галактозные поверхностные полисахаридные рецепторы с высокой аффинностью (k_a в диапазоне 10^7 - 10^8 $M^{-1}c^{-1}$) [5].

Рицин, абрин и модецин состоят из двух субъединиц со сходной структурой и активностью. Интактные белки имеют молекулярную массу в диапазоне 63-65 кДа и включают две субъединицы. Субъединицы связаны дисульфидной связью, которая ответственна за проявление токсических свойств. А-субъединица (эффетомер) обладает рибосом-инактивирующими свойствами, В-субъединица (гаптомер) содержит сайт связывания с углеводами. Интактный токсин проявляет свои токсические свойства в клетках, но не обладает рибосом-инактивирующей активностью на рибосомах в бесклеточных системах. Восстановление дисульфидной связи приводит к противоположному эффекту – диссоциированные субъединицы обладают рибосом-инактивирующей активностью.

Роговская Надежда Юрьевна (Rogovskaya Nadezhda Yur'evna), научный сотрудник ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, niigrech@rhorphe.ru;

Горбунов Александр Юрьевич (Gorbunov Aleksandr Yur'evich), научный сотрудник ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, niigrech@rhorphe.ru;

Дубровский Ярослав Александрович (Dubrovskii Yaroslav Aleksandrovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, niigrech@rhorphe.ru;

Хлебникова Наталья Семёновна (Khlebnikova Natalia Semenovna), кандидат химических наук, начальник международного отдела ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, niigrech@rhorphe.ru;

Бабаков Владимир Николаевич (Babakov Vladimir Nikolaevich), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Ленинградская область, г.п. Кузьмоловский, babakov@rhorphe.ru

щей активностью в бесклеточных системах, но не обладают цитотоксическими свойствами. Причиной таких свойств являются особенности димера токсина. Молекула токсина связывается через сахарид-распознающий сайт В-субъединицы с β -галактозилсодержащими гликопротеидами или гликолипидными компонентами клеточной мембраны, находящихся на поверхности клеток. После связывания димера из двух субъединиц с клеткой, А-субъединица проникает внутрь клетки путем эндоцитоза. Оказавшись внутри клетки, А-субъединица связывается и ферментативно инактивирует 28S субъединицу рибосомы, в результате чего нарушается биосинтез белка, что и приводит к гибели клетки. Так как А-субъединица работает как фермент, даже одной молекулы токсина на клетку достаточно, чтобы серьезно нарушить биосинтез белка [5].

Таким образом, дополнительно к прямому определению токсина в объектах окружающей среды с помощью иммунохимических или химических методов [6,7] необходимо оценивать его токсические свойства. При наличии токсичности и подозрений о присутствии рицина требуется применение специфичного скринингового метода для дифференциации рицина от других потенциально вероятных рибосом-инактивирующих белков.

Основной целью настоящей работы являлась разработка скрининговой тест-системы на основе биотестирования для специфичной идентификации рицина в образцах объектов окружающей среды. В работе использовали клетки гепатомы человека линии НераRG. Оценка жизнеспособности клеток при инкубации с серией разведений рицина проводили с помощью системы импедансометрии; кроме того, определяли внутриклеточные маркеры апоптоза. Определение специфической токсичности рицина проводили в присутствии антител к А- и В-субъединицам токсина.

Материалы и методы исследования. Клетки линии НераRG (Gibco) культивировали во флаконах в среде Вильямса Е с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота, средовых добавок инсулина и гидрокортизона, антибиотиков стрептомицина-пенициллина при 37 °С в CO₂-инкубаторе в атмосфере 5% CO₂.

Для определения интегральной цитотоксичности с помощью оборудования xCelligence RTCA, 10 тыс. клеток вносили в лунку специализированного планшета, позволяющего определять клеточный индекс в режиме реального времени, и культивировали в полной среде Вильямса. На следующий день после пассажа клеткам добавляли серию разведения (в диапазоне концентраций 1 нг/мл – 1 мкг/мл) очищенного рицина и рицина с одновременным добавлением анти-

тел в соотношении 100 мкл среды Вильямса и 100 мкл разведенного в растворе Хенкса токсина на лунку планшета. В работе использовали следующие антитела производства Abcam (Великобритания): АТ1 – кат. № ab#27170 к В-субъединице; АТ2 – кат. № ab#48415 к В-субъединице; АТ3 – кат. № ab#27169 к А-субъединице. Мониторинг клеточного индекса проводили в течение 3 дней после добавления токсина. Очищенный рицин был предоставлен Организацией по запрещению химического оружия (ОЗХО) в качестве стандарта в рамках тренировочного теста по анализу биотоксинов. В рамках теста ОЗХО были предоставлены жидкие и сухие образцы, содержащие рицин и абрин в различных концентрациях. Для определения наличия рицина в образце делали серию разведений раствором Хенкса исходного образца до 10%, 1%, 0,1%. Из сухих образцов предварительно делали экстракт раствором Хенкса в соотношении 1:10.

Для получения данных по определению активированных молекулярных маркеров апоптоза, клетки культивировали в 24-луночных планшетах, промывали на следующий день после пассажа, добавляли среду, содержащую очищенный рицин или рицин с антителами и инкубировали 24 ч и 48 ч. Определение активированных фосфорилированных или протеолитически фрагментированных белков – маркеров апоптоза проводили с помощью иммунофлуоресцентного метода по технологии Luminex xMAP. Использовали набор реактивов для определения ранних маркеров апоптоза (7-Plex MILLIPLEX MAP Early Apoptosis Magnetic Bead Kit, Кат. № 48-669MAG Merck/Millipore, США), который позволяет определять активированные фосфорилированные формы следующих белков: Akt1 (Ser473), p53 (Ser46), BAD (Ser112), Bcl-2 (Ser70), JNK (Thr183/Tyr185), а также активных форм каспазы 8 (гидролизованной по Asp384) и каспазы 9 (гидролизованной по Asp315). Клеточные лизаты получали по методике, опубликованной ранее [8]. Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, были обработаны в программе Bio-Plex Data Pro Plus. Оценка различий средних значений проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты и обсуждение. При добавлении в среду пролиферирующих клеток в диапазоне конечных концентраций от 1 до 500 нг/мл рицин вызывает гибель клеток дозозависимым образом (рис. 1А). Использование технологии мониторинга клеточного индекса в реальном времени позволяет оценить временные интервалы начала гибели клеток. Для высоких концентраций рицина (50-500 нг/мл) гибель клеток начинается через 6-12 ч, для низких (менее 10 нг/мл) – через 24-48 ч. Зависимость логарифма концентрации от нор-

мализованного клеточного индекса описывается сигмоидой с IC_{50} 6,7 нг/мл (рис. 1Б).

Время начала гибели клеточной популяции и форма кривой клеточного индекса коррелируют с концентрацией токсина, поэтому при наличии стандартной серии разведений рицина и серии разведений токсичного образца можно оценить концентрацию токсина. В качестве примера приведена цитотоксичность 0,1 % жидкого образца, содержащего рицин, в сравнении со стандартами рицина с концентрациями в 50 и 100 нг/мл (рис. 2А). Определение рицина проводилось в жидких образцах в рамках первого тренировочного теста ОЗХО 2017 года по анализу биотоксинов. Цитотоксичность образца находилась между известными концентрациями и соответствовала концентрации, определенной с помо-

щью идентификации протеотипических пептидов методом ВЭЖХ-МСМС [9].

Добавление антител к А- и В-субъединицам рицина в среду совместно с токсином приводит к меньшей гибели клеток относительно рицина. Рабочие конечные концентрации, нейтрализующие токсическое действие 10 нг/мл рицина, для антител были определены для АТ1 – 1 мкг/мл, для АТ2 – 10 мкг/мл, для АТ3 – 10 мкг/мл. В качестве примера приведены графики зависимости нормализованного клеточного индекса от времени инкубации клеток с рицином (10 нг/мл) и смеси рицин (10 нг/мл) и АТ1 (1 мкг/мл) (рис 2Б). Антитела АТ1 проявляли заметный цитопротекторный эффект. Сходные цитопротекторные профили имели и другие изученные антитела АТ2 и АТ3.

Цитопротекторное влияние оказывают как антитела к В-субъединице, вероятно препятствуя проникновению токсина внутрь клетки, так и антитела к ферментативной А-субъединице. Меньшая цитотоксичность рицина в присутствии антител к нему может рассматриваться как важный элемент специфичной идентификации токсина. Используемые антитела к рицину не влияли на цитотоксичность абрина (данные не представлены).

Рицин и абрин вызывают гибель клеток по апоптотическому пути [10]. Абрин индуцирует повышение экспрессии белка FADD, а также активирует каспазу-8 и каспазу-3, заметное повышение активных форм каспаз отмечено через 24 ч и их накопление усиливается к 48 ч в клетках линии Jurkat [11]. Печень является основным органом захвата рицина *in vivo* и проявления его цитотоксичности [12,13]. Рицин времязависимым образом повышает уровень активных форм каспазы-9 и каспазы-3, а также значительно повышает фрагментацию ДНК в клетках печени крыс [14].

Цитопротекторное влияние антител к А и В субъединицам рицина также оценивали по влиянию на внутриклеточные маркеры апоптоза через 24 ч и 48 ч.

Уровень активной формы киназы Akt1, обеспечивающей выживание клеток, резко падает в лизатах клеток через 48 ч действия рицина. Добавление антител АТ1 и АТ3 одновременно с рицином в культуральную среду возвращает активность этой киназы в клетках к контрольному уровню. Добавление антител АТ2 через 24 ч снижает уровень фосфорилированной киназы Akt1 относительно рицина, но через 48 ч уровень статистически значимо был выше.

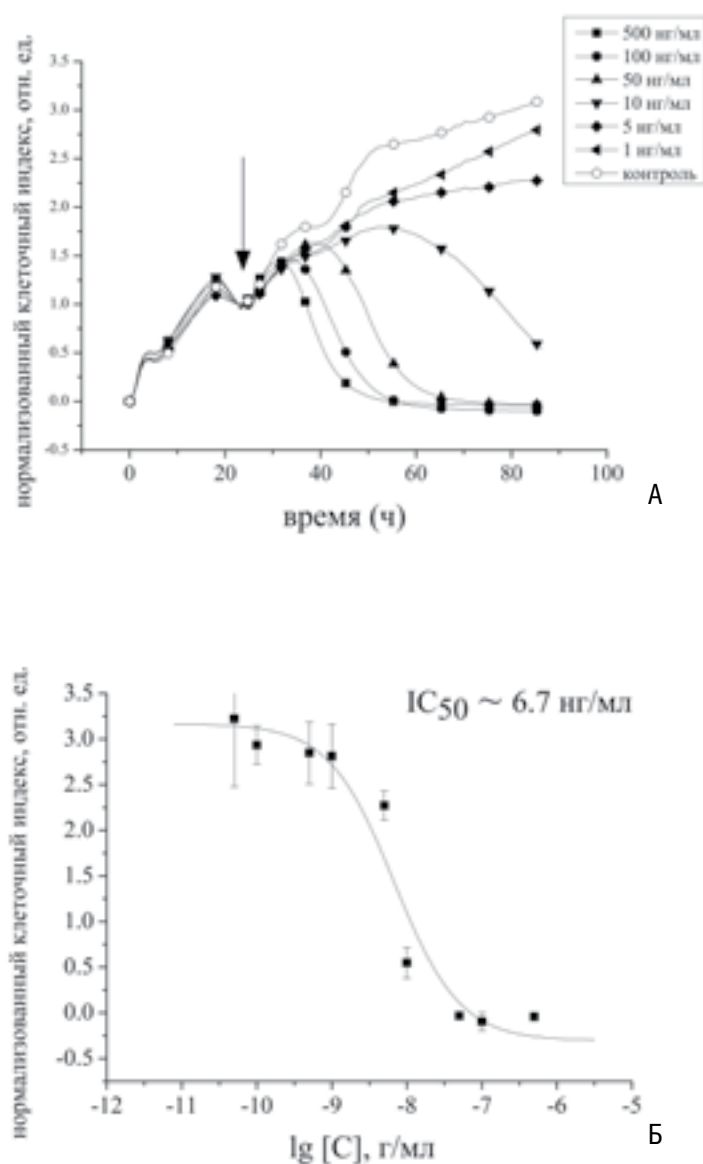


Рис. 1. Графики зависимости нормализованного клеточного индекса от времени инкубации с рицином (А) и от логарифма концентрации рицина (Б) в клетках NeraRG. На графике 1А отмечено время добавления токсина

Стрессактивируемая киназа JNK через 24 ч сильно активируется рицином, но через 48 ч интенсивность флуоресценции активной формы киназы JNK падает практически на порядок на фоне токсического действия рицина. Активность этой киназы при добавлении АТ1 и АТ3 практически не отличается от контрольного уровня. Добавление АТ2 приводит к повышенному уровню активности киназы JNK через 24 и 48 ч относительно контроля.

Рицин приводит к резкому снижению активности транскрипционного фактора р53 уже через

24 ч. Добавка антител в различной степени восстанавливает уровень фосфорилированной формы белка р53 к контрольному уровню, что также может интерпретироваться как молекулярный сигнал к выживанию клетки (рис. 3).

Рицин приводит к снижению уровня фосфорилированной формы белка BAD относительно контроля, через 48 ч разница более чем двукратная. Антитела через 48 ч повышают уровень фосфо-BAD относительно рицина к контрольному уровню.

Рицин активирует ключевые ферменты, инициирующие апоптоз, каспазу-8 и каспазу-9 через 24 ч, через 48 ч уровень активных форм этих каспаз снижается. Добавление антител в инкубационную среду препятствует активации каспаз, вызванной воздействием рицина через 24 ч, а через 48 ч их уровень соответствует контрольному (рис. 4).

Таким образом, исследованные антитела к А- и В-субъединицам рицина предотвращают развитие апоптоза, индуцированного рицином. Добавление антител снижает процент погибших клеток относительно токсина, что может быть количественно измерено с помощью импедансометрии или, например, проточной цитофлуориметрии. При наличии стандарта рицина с помощью импедансометрии можно оценить ориентировочную концентрацию токсина в объектах окружающей среды. Снижение цитотоксичности рицина в присутствии антител к нему может рассматриваться как специфический признак его наличия в объектах окружающей среды и позволяет в течение нескольких дней идентифицировать активный токсин с помощью биотестирования, дополнительно к химическому или иммунохимическому его определению. Предложенные подходы позволили успешно идентифицировать образцы, содержащие рицин, в рамках тестов ОЗХО по анализу биотоксинов.

Заключение. На основе клеточной линии НераRG гепатомы человека и мониторинга клеточного индекса в реальном времени предложена тест-система по идентификации рибосом-инактивирующих белковых токсинов (на примере рицина) в объектах окружающей среды. Добавление антител к токсинам в культуральную среду одновременно с токсином приводит к цитопротекторному и антиапоптотическому эффекту на фоне токсического действия токсина. Система биотестирования с использованием антител к токсину может рассматриваться как специфичный метод идентификации токсина в объектах окружающей среды.

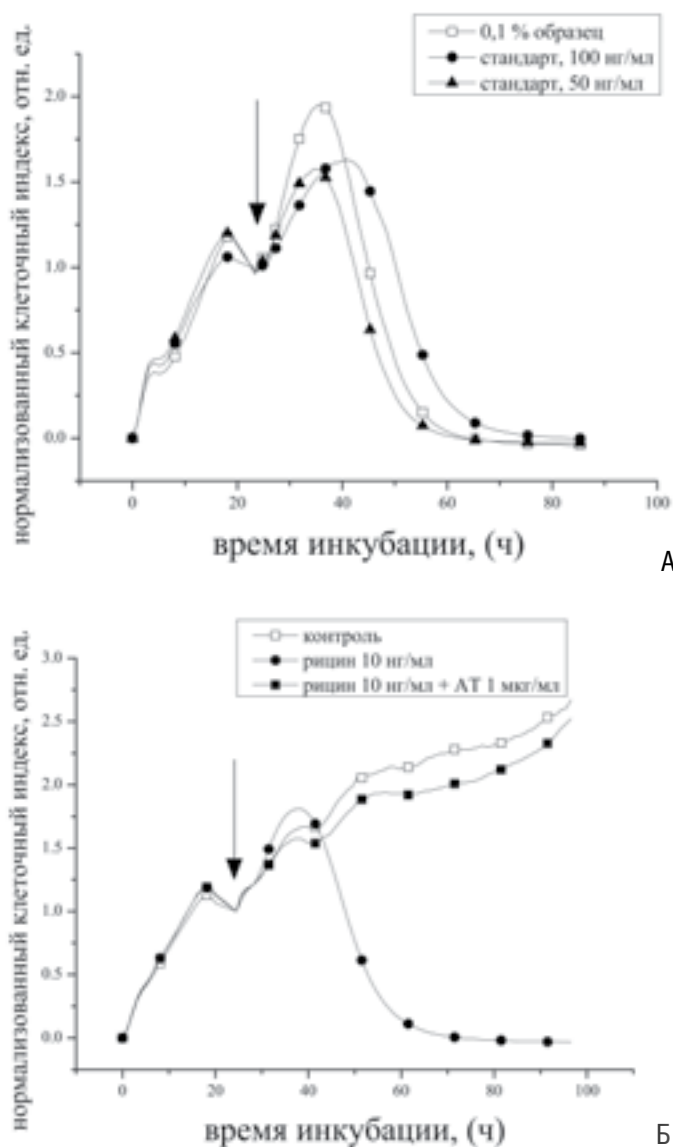
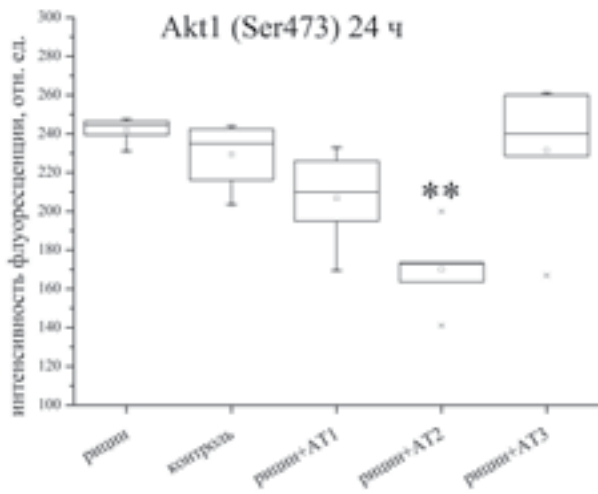
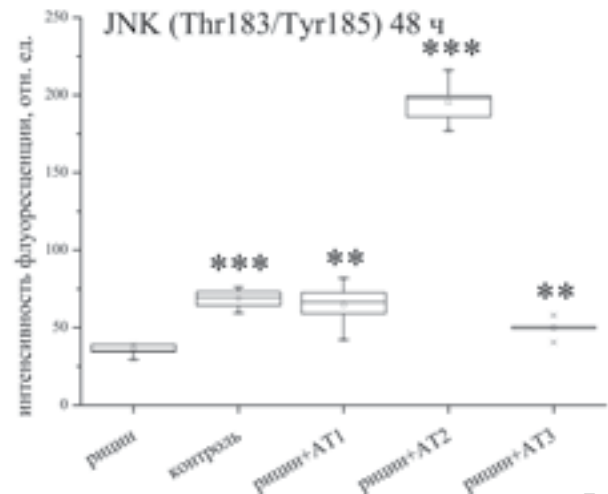


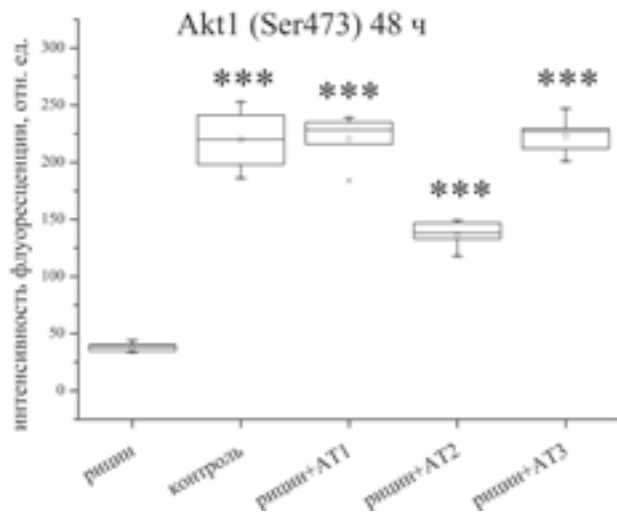
Рис. 2. Графики зависимости нормализованного клеточного индекса от времени инкубации с 0,1% раствором образца, содержащего рицин, и стандартами рицина 50 и 100 нг/мл (А); и от времени инкубации с раствором рицина 10 нг/мл и смесью рицина 10 нг/мл с антителами АТ1 (1 мкг/мл) (Б) в клетках НераRG. На графиках отмечено время добавления токсина



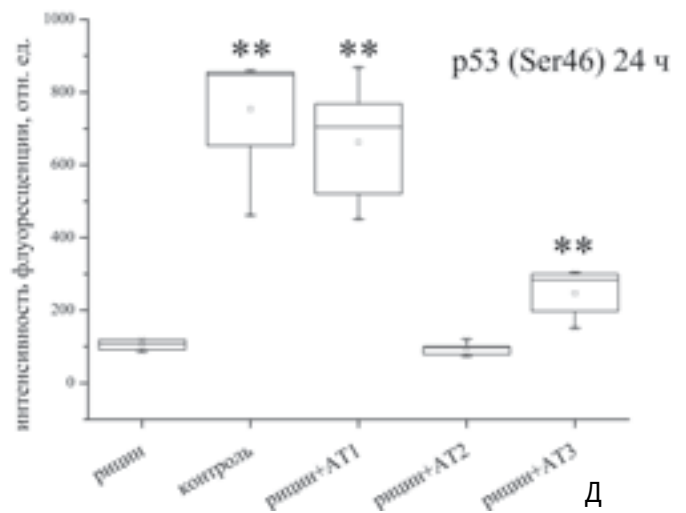
А



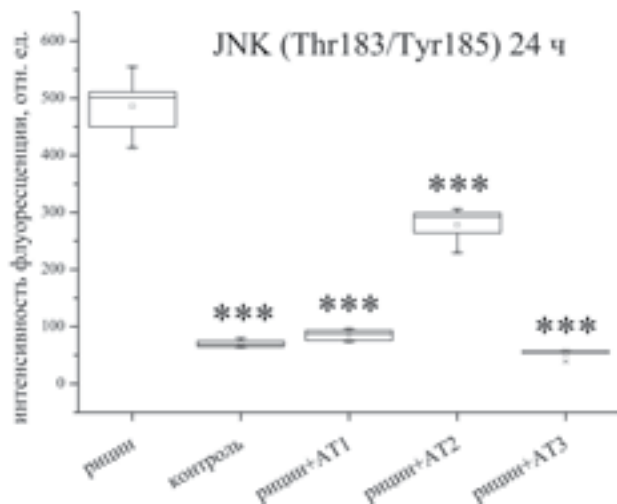
Г



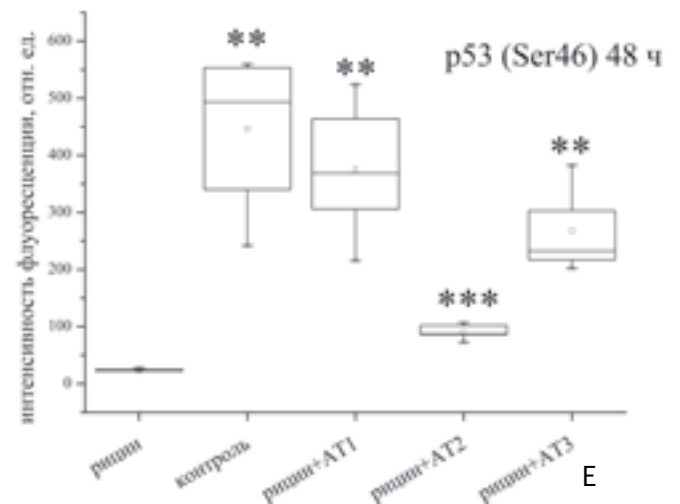
Б



Д

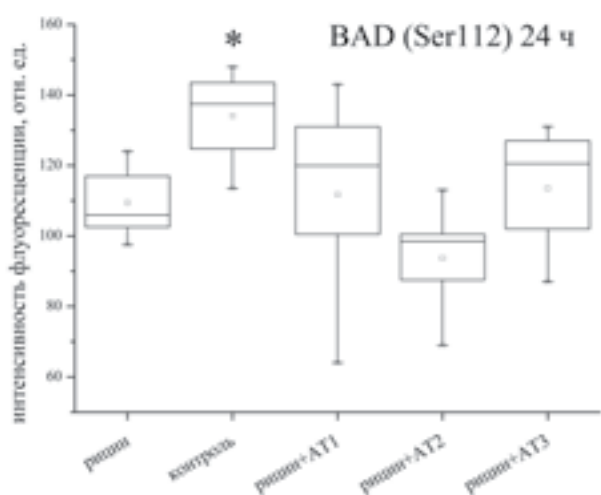


В

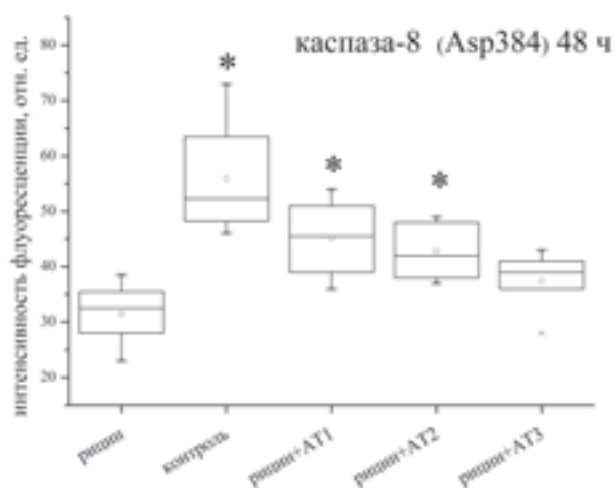


Е

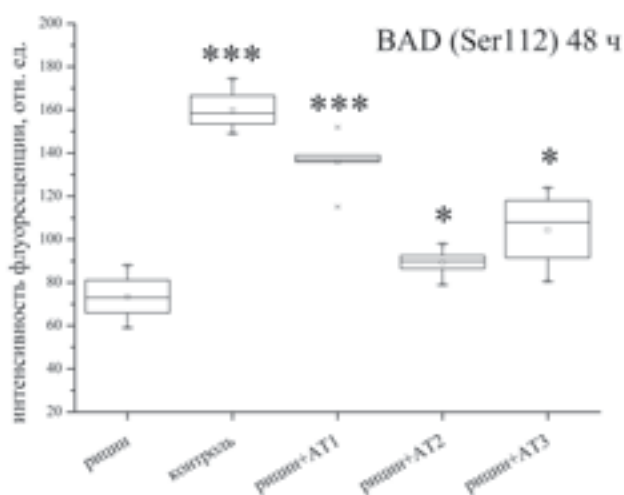
Рис. 3. Интенсивность флуоресценции (диаграмма размаха, медиана, среднее, границы 1-3 квантилей) фосфорилированных белков Akt1 (Ser473), JNK (Thr183/Tyr185) и белка p53 (Ser46) в лизатах клеток НераRG через 24 ч и 48 ч после добавления рицина (10 нг/мл), смеси рицин и AT1 (1 мкг/мл), смеси рицин и AT2 (10 мкг/мл) и смеси рицин и AT3 (10 мкг/мл). Критический уровень значимости (ANOVA) * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.



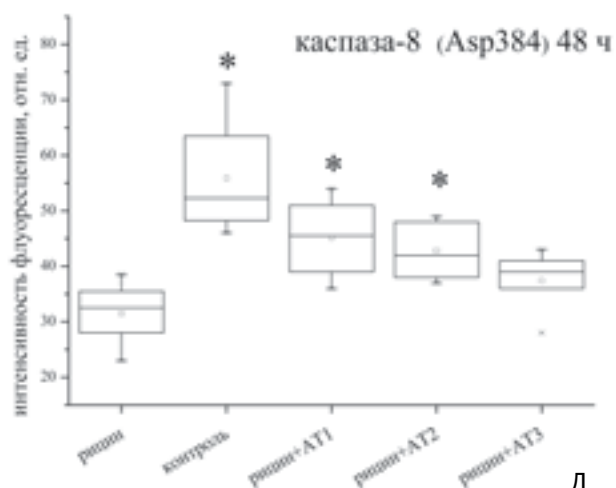
А



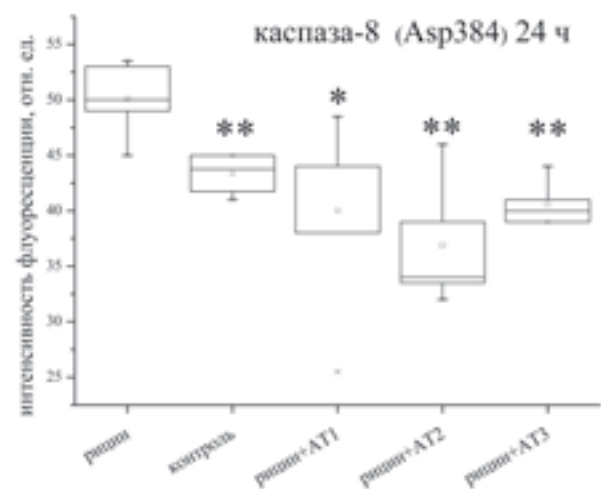
Г



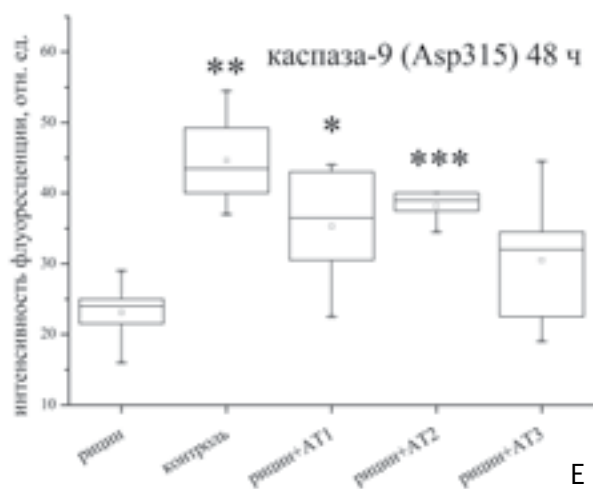
Б



Д



В



Е

Рис. 4. Интенсивность флуоресценции (диаграмма размаха, медиана, среднее, границы 1-3 кватилей) фосфорилированного белка BAD (Ser112), каспазы-8 (гидролизованной по Asp384) и каспазы-9 (гидролизованной по Asp315) в лизатах клеток НераRG через 24 ч и 48 ч после добавления ризина (10 нг/мл), смеси ризин и АТ1 (1 мкг/мл), смеси ризин и АТ2 (10 мкг/мл) и смеси ризин и АТ3 (10 мкг/мл). Критический уровень значимости (ANOVA) * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козлов Ю.В., Сударкина О.Ю., Курманова А.Г. Рибосом-инактивирующие лектины растений Молекулярная биология. 2006; 40(4): 711-23.
2. Bolognesi A, Bortolotti M, Maiello S, Battelli MG, Polito L. Ribosome-Inactivating Proteins from Plants: A Historical Overview. *Molecules*. 2016; 21(12). pii: E1627.
3. Bozza W.P., Tolleson W.H., Rivera Rosado L.A., Zhang B. Ricin detection: tracking active toxin. *Biotechnol Adv*. 2015; 33(1):117-123.
4. Синегубова Е.О., Дубровина И.А., Мясников В.А. Комплексный подход к оценке цитотоксичности рибосом-инактивирующих белков на клеточной модели *in vitro*. Медицина экстремальных ситуаций 2019; 21(S1): 53-62.
5. Endo Y, Tsurugi K. RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. Mechanism of action of the toxic lectin ricin on eukaryotic ribosomes. *J Biol Chem* 1987; 262:8128-30.
6. Дубровский Я.А., Подольская Е.П. Определение токсинов пептидной природы методом MALDI-MS. Научное приборостроение. 2010; 20(4): 21-35.
7. Браун А.В., Таранченко В.Ф., Тихомиров Л.А., Гречухин А.П., Рыбальченко И.В. Обнаружение рицина в растительных экстрактах и почве с использованием жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. Журнал аналитической химии. 2018; 73(8): 622-631.
8. Бабаков В.Н., Роговская Н.Ю., Курдюков И.Д., Бельтюков П.П., Дулов С.А., Радиллов А.С. Влияние агонистов арилгидрокарбонного рецептора и липополисахарида на маркеры генотоксического действия бенз(а)пирена Токсикологический вестник 2019; (3):19-25.
9. Дубровский Я.А., Горбунов А.Ю., Роговская Н.Ю., Мурашко Е.А., Бельтюков П.П., Бабаков В.Н. Протеомный подход по определению биотоксинов в объектах окружающей среды. В сб.: Меди-ко-биологические аспекты химической безопасности. Под общей редакцией А.С. Радилова, В.Р. Рембовского. 2018. С. 25-26.
10. Griffiths G.D., Leek M.D., Gee D.J. The toxic plant proteins ricin and abrin induce apoptotic changes in mammalian lymphoid tissues and intestine. *J Pathol*. 1987;151(3):221-9.
11. Saxena N., Yadav P., Kumar O. The Fas/ Fas ligand apoptotic pathway is involved in abrin-induced apoptosis. *Toxicol Sci*. 2013;135(1):103-18.
12. Fodstad O., Olsnes S., Pihl A. Toxicity, distribution and elimination of the cancer ostatic lectins abrin and ricin after parenteral injection into mice. *Br J Cancer*. 1976;34(4):418-25.
13. Ramsden C.S., Drayson M.T., Bell E.B. The toxicity, distribution and excretion of ricin holotoxin in rats. *Toxicology*. 1989;55(1-2):161-71.
14. Authier F., Djavaheri-Mergny M., Lorin S., Frénoy J.P., Desbuquois B. Fate and action of ricin in rat liver *in vivo*: translocation of endocytosed ricin into cytosol and induction of intrinsic apoptosis by ricin B-chain. *Cell Microbiol*. 2016;18(12):1800-1814

REFERENCES:

1. Kozlov J.V., Sudarkina O.J., Kurmanova A.G. Ribosome-inactivating lectins of plants. *Molecular Biology*. 2006; 40(4): 635-646 (in Russian).
2. Bolognesi A, Bortolotti M, Maiello S, Battelli MG, Polito L. Ribosome-Inactivating Proteins from Plants: A Historical Overview. *Molecules*. 2016; 21(12). pii: E1627.
3. Bozza W.P., Tolleson W.H., Rivera Rosado L.A., Zhang B. Ricin detection: tracking active toxin. *Biotechnol Adv*. 2015; 33(1):117-123.
4. Sinégubova E.O., Dubrovina I.A., Myasnikov V.A. Complex approach to the estimation of cytotoxicity of ribosome-inactivating proteins on the cell model *in vitro*. *Medicine of extreme situations*. 2019; 21(S1): 53-62 (in Russian).
5. Endo Y, Tsurugi K. RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. Mechanism of action of the toxic lectin ricin on eukaryotic ribosomes. *J Biol Chem* 1987; 262:8128-30.
6. Dubrovsky Ya.A., Podolskaya E.P. Peptide toxins identification by MALDI-MS method. *Nauchnoe Priborostroenie (Scientific Instrumentation)* 2010; 20(4): 21-35 (in Russian).
7. Braun A.V., Tikhomirov L.A., Grechukhin A.P., Rybalkchenko I.V., Taranchenko V.F. Detection of ricin in plant extracts and soil using liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *J. Anal. Chem*. 2018; 73(8):786-795 (in Russian).
8. Babakov V.N., Rogovskaya N.Yu., Kurdyukov I.D., Belyukov P.P., Dulov S.A., Radilov A.S. Effect of arylhydrocarbon receptor agonists and lipopolysaccharide on benzo(a)pyrene genotoxicity markers. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review)*. 2019; (3):19-25 (in Russian).
9. Dubrovskii Ya.A., Gorbunov A.Yu., Rogovskaya N.Yu., Murashko E.A., Belyukov P.P., Babakov V.N. Proteomic approach of biotoxin detection in environmental samples. In: *Proc. Med. Biol. Aspects of Chem. Safety*. St. Petersburg. 2018: 25-26 (in Russian).
10. Griffiths G.D., Leek M.D., Gee D.J. The toxic plant proteins ricin and abrin induce apoptotic changes in mammalian lymphoid tissues and intestine. *J Pathol*. 1987; 151(3):221-9.
11. Saxena N., Yadav P., Kumar O. The Fas/ Fas ligand apoptotic pathway is involved in abrin-induced apoptosis. *Toxicol Sci*. 2013;135(1):103-18.
12. Fodstad O., Olsnes S., Pihl A. Toxicity, distribution and elimination of the cancer ostatic lectins abrin and ricin after parenteral injection into mice. *Br J Cancer*. 1976;34(4):418-25.
13. Ramsden C.S., Drayson M.T., Bell E.B. The toxicity, distribution and excretion of ricin holotoxin in rats. *Toxicology*. 1989;55(1-2):161-71.
14. Authier F., Djavaheri-Mergny M., Lorin S., Frénoy J.P., Desbuquois B. Fate and action of ricin in rat liver *in vivo*: translocation of endocytosed ricin into cytosol and induction of intrinsic apoptosis by ricin B-chain. *Cell Microbiol*. 2016;18(12):1800-1814.

N.Yu. Rogovskaya, A.Yu. Gorbunov, Ya.A. Dubrovskii, N.S. Khlebnikova, V.N. Babakov

DETERMINATION OF RICIN IN ENVIRONMENTAL SAMPLES USING BIOASSAY

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

A bioassay of ricin toxicity in environmental samples using real-time cell index monitoring is proposed. The half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of ricin was estimated at 6,7 ng/ml for human hepatoma HepaRG cells proliferation. The antibodies to A- and B-subunits in HepaRG cell media lead to cytoprotective and antiapoptotic effects against the cytotoxicity of ricin. The antibodies neutralised activation of JNK kinase (phosphorylated at Thr183/Tyr185) and prevented accumulation of the active forms of caspase 8 (hydrolysed to Asp384) and caspase 9 (hydrolysed to Asp315) induced by ricin in HepaRG cells. The tested antibodies also prevented a decrease in the intracellular levels of the active forms of Akt 1 kinase (phosphorylated at Ser473) and transcription factor p53 (phosphorylated at Ser46) caused by ricin. The bioassay with antibodies can be considered as a specific method for identifying the toxin in environmental samples.

Keywords: ricin, bioassay, apoptosis markers.

Quote: N.Yu. Rogovskaya, A.Yu. Gorbunov, Ya.A. Dubrovskii, N.S. Khlebnikova, V.N. Babakov. Determination of ricin in environmental samples using bioassay. *Toxicological Review*. 2020; 5:43-49

Переработанный материал поступил в редакцию 17.02.2020 г.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛИПИДНЫХ ПИГМЕНТОВ БЕЛОМОРСКОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SACCHARINA* *LATISSIMA* МЕТОДАМИ ТСХ И МАЛДИ-МС

К.А. Краснов¹, А.С. Гладчук^{1,3},
М.Л. Александрова¹, О.А. Кельциева^{2,1},
М.А. Зайцева¹, М.В. Мельникова¹,
В.Л. Рейнюк¹, Е.П. Подольская^{1,2}

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

²Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, 190103, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Изучен качественный состав важнейших биологически активных липидных веществ – каротиноидов и производных хлорофилла беломорской водоросли ламинарии сахаристой (*Saccharina latissima*). Экстракт липидов разделяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и исследовали методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции-ионизации с масс-спектрометрическим анализом (МАЛДИ-МС). В составе экстракта были обнаружены фукоксантин, фукоксантинол, феофитин *a*, феофорбид *a*, а также другие каротиноиды и хлорофиллы, в том числе не описанные в литературе. Полученные результаты, существенно расширяющие сведения о составе пигментов *S. latissima*, могут быть использованы для стандартизации сырья и препаратов на основе данной водоросли.

Ключевые слова: бурые водоросли, *S. Latissimi*, липиды, пигменты, каротиноиды, хлорофиллы, тонкослойная хроматография, МАЛДИ-МС.

Цит: К.А. Краснов, А.С. Гладчук, М.Л. Александрова, О.А. Кельциева, М.А. Зайцева, М.В. Мельникова, В.Л. Рейнюк, Е.П. Подольская. Изучение состава липидных пигментов беломорской водоросли *Saccharina latissima* методами ТСХ и МАЛДИ-МС. Токсикологический вестник. 2020; 5:50-56

Введение. Ламинария сахаристая (*Saccharina latissima*) является одним из важнейших представителей промысловых бурых водорослей арктического побережья России. Значительные запасы ламинарии, сосредоточенные в районах Белого и Баренцевого морей, служат источником ценных веществ, таких как маннит, альгиновые кислоты, фукоидан, широко используемых

в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности [1,2]. Помимо этого, в последние годы особое внимание уделяется липидным компонентам бурых водорослей, которые широко используются в диетологической практике в составе пищевых добавок и нутрицевтиков. а также рассматриваются в качестве перспективных фармакологических средств [3,4].

Краснов Константин Андреевич (Krasnov Konstantin Andreevich), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медицинских проблем химической безопасности ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, krasnov_tox@mail.ru;

Гладчук Алексей Сергеевич (Gladchuk Aleksey Sergeevich), младший научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»; аспирант Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург, aleglad24@gmail.com;

Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, analekt@mail.ru;

Кельциева Ольга Александровна (Keltsieva Olga Alexandrovna), научный сотрудник лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Института аналитического приборостроения Российской академии наук; научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, keltcieva@gmail.com;

Зайцева Мария Анатольевна (Zaytseva Maria Anatolevna), кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией лекарственной токсикологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, alpha-2@mail.ru;

Мельникова Маргарита Викторовна (Melnikova Margarita Viktorovna), младший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, margarita10108@mail.ru;

Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich), доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, vladton@mail.ru;

Подольская Екатерина Петровна (Podolskaya Ekaterina Petrovna), кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики химико-аналитического отдела ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»; ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Института аналитического приборостроения Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, ek.podolskaya@gmail.com.

Литературные данные позволяют заключить, что к числу наиболее важных биологически активных компонентов бурых водорослей относятся липидные пигменты – каротиноиды и хлорофиллы. Так, фукоксантин, основной каротиноид *S. latissima*, обладает выраженным антиоксидантным и антимуtagenным действием [5], а также онкопротекторными, цитостатическими [6], антидиабетическими [7], гиполипидемическими [8] и многими другими ценными биологическими свойствами. Не меньший интерес представляют и содержащиеся в составе ламинарии производные порфирина (хлорофиллы), представители которых известны как активные антиоксиданты и иммуномодуляторы [3], антиаллергические средства [9]. Описаны также противовоспалительные, антимикробные и противовирусные эффекты экстрактов ламинарии, которые связывают с действием порфириновых соединений или их комплексов [10-13].

В литературе существуют более или менее подробные исследования пигментного состава отдельных видов ламинарии, например, *S. japonica* [10], однако в случае беломорской *S. latissima* сведения носят крайне ограниченный характер. При описании состава пигментов водоросли *S. latissima* авторы приводят данные о суммарном содержании каротиноидов (из которых главным считается фукоксантин), и аналогично указывают содержание хлорофиллов в виде суммы, без идентификации отдельных представителей этих классов [1, 2, 14]. Вместе с тем очевидно, что биологическая активность липидных экстрактов ламинарии, содержащих значительное количество разнообразных представителей каротиноидов и хлорофиллов, должна существенным образом зависеть от их качественного состава, и этот факт нельзя не учитывать при разработке биологически активных средств на основе *S. latissima*. Также, оценка качественного и количественного состава пигментов может играть важную роль при стандартизации как сырья *S. latissima*, так и препаратов на ее основе, являясь удобным маркером подлинности и качества бурой водоросли.

Цель работы. Исследование качественного состава важнейших пигментов - каротиноидов и производных хлорофилла в липидных экстрактах беломорской бурой водоросли *S. latissima*.

Материалы и методы исследования.

Получение экстракта из водоросли *Saccharina latissima*. Образец замороженных водорослей *Saccharina latissima* массой 1 г измельчали до размеров частиц 1-2 мм. К нарезанному образцу таллома добавляли 5 мл этанола и инкубировали в закрытой виае при 20°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании (60 об/мин). Затем образцы центрифугировали (12045 g, 5 мин), супернатант (1 мл) переносили в новые полипропи-

леновые пробирки объемом 1.5 мл и использовали для проведения ТСХ анализа.

Процедура ТСХ анализа. В качестве элюентов при проведении ТСХ анализа были использованы следующие растворы: Э-1 (хлороформ-гексан (1:1)), Э-2 (хлороформ), Э-3 (хлороформ-ацетон (5:1)), Э-4 (ацетон). На хроматографической пластине Sorbfil размечали карандашом линию старта шириной 10 см на высоте 1 см от нижнего края, на которую, затем, наносили под струей горячего воздуха лабораторного фена 100 мкл экстракта из водоросли *Saccharina latissima* с помощью градуированного капилляра. Хроматографическую пластину с нанесенной полосой экстракта помещали в вертикальную хроматографическую камеру, содержащую элюент Э-1, и элюировали восходящим способом до прохождения фронтом растворителя 6 см. После чего вынимали пластину из камеры, высушивали ее на воздухе и переносили в камеру со следующим элюентом. Процедуру элюирования последовательно осуществляли для каждого элюента из набора Э-1 – Э-4. Пробег фронта растворителя в хроматографической камере для каждого элюента составлял: Э-1 – 6 см, Э-2 – 5 см, Э-3 – 4 см, Э-4 – 3 см. После прохождения элюирования в камере с элюентом Э-4 хроматографическую пластину высушивали на воздухе, фиксировали хроматограмму с помощью фотографии. Всего было выявлено 10 окрашенных полос, для которых проводились дальнейшие процедуры.

Экстракция соединений с сорбента. Области хроматографической пластины, соответствующие окрашенным полосам, вырезали ножницами, и с каждой с помощью шпателя сорбент отделяли от алюминиевой подложки и переносили в полипропиленовую пробирку объемом 1.5 мл. К стационарной фазе добавляли 200 мкл изопропилового спирта и выдерживали 1 ч при комнатной температуре при постоянном перемешивании, после чего центрифугировали в течение 3 мин при 12045 g. Полученный супернатант (100 мкл) переносили в новые полипропиленовые пробирки и анализировали методом МАЛДИ-МС.

Масс-спектрометрический анализ методом МАЛДИ-МС. Навеску матрицы (α -Циано-4-гидроксикоричная кислота, СНСА) массой 20 мг помещали в микропробирку объемом 1.5 мл, добавляли 900 мкл 100% ацетонитрила, 1 мкл 99% ТФУ и 99 мкл дистиллированной воды и перемешивали до полного растворения твердой фазы. На лунку стальной полированной мишени (МТР 384 polished steel, Bruker Daltonics, Германия) наносили 0.5 мкл анализируемого раствора, добавляли 0.5 мкл раствора матрицы и высушивали при комнатной температуре.

Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью масс-спектрометра UltrafleXtreme

(Bruker Daltonics, Германия) в режиме «рефлектор» с детектированием положительных ионов. Спектры регистрировали в диапазоне m/z 500 - 1000 при значениях напряжений 1 и 2 на источнике равных 20.0 и 17.9 кВ соответственно. Напряжения на линзах, отражателе и детекторе отражателя составляли 7.0, 21.1 и 2.422 кВ соответственно. Число облучений при регистрации одного спектра составляло 15000, частота выстрелов – 2000 Гц. Временная задержка PLE – 120 нс. Регистрацию и интерпретацию спектров осуществляли с использованием программного обеспечения Flex Control и Flex Analysis. Для калибровки масс-спектрометра использовали калибровочную смесь Peptide Calibration Standard II (Bruker Daltonics).

Результаты и обсуждение. Исследование основных пигментов в составе экстракта *S. latissima* было проведено методом МАЛДИ-МС после

хроматографического разделения в тонком слое (ТСХ). Выбор метода ТСХ был связан с его простотой, а также с тем, что он позволяет провести исследование как высоко гидрофобных, так и гидрофильных соединений в рамках одного анализа. Процедура ТСХ (см. «Материалы и методы исследования») включала последовательное элюирование 4-мя растворителями разной полярности - от малополярной смеси (хлороформ – гексан) до относительно полярного растворителя (ацетона). Использование такого набора элюентов позволило разделить пигменты *S. latissima* на ТСХ пластине на 10 окрашенных хроматографических зон (рис. 1). Пигменты из каждой зоны были экстрагированы и проанализированы методом МАЛДИ-МС.

На основании масс-спектрометрических данных высокого разрешения было установлено, что в хроматографических зонах 1-8, окрашен-

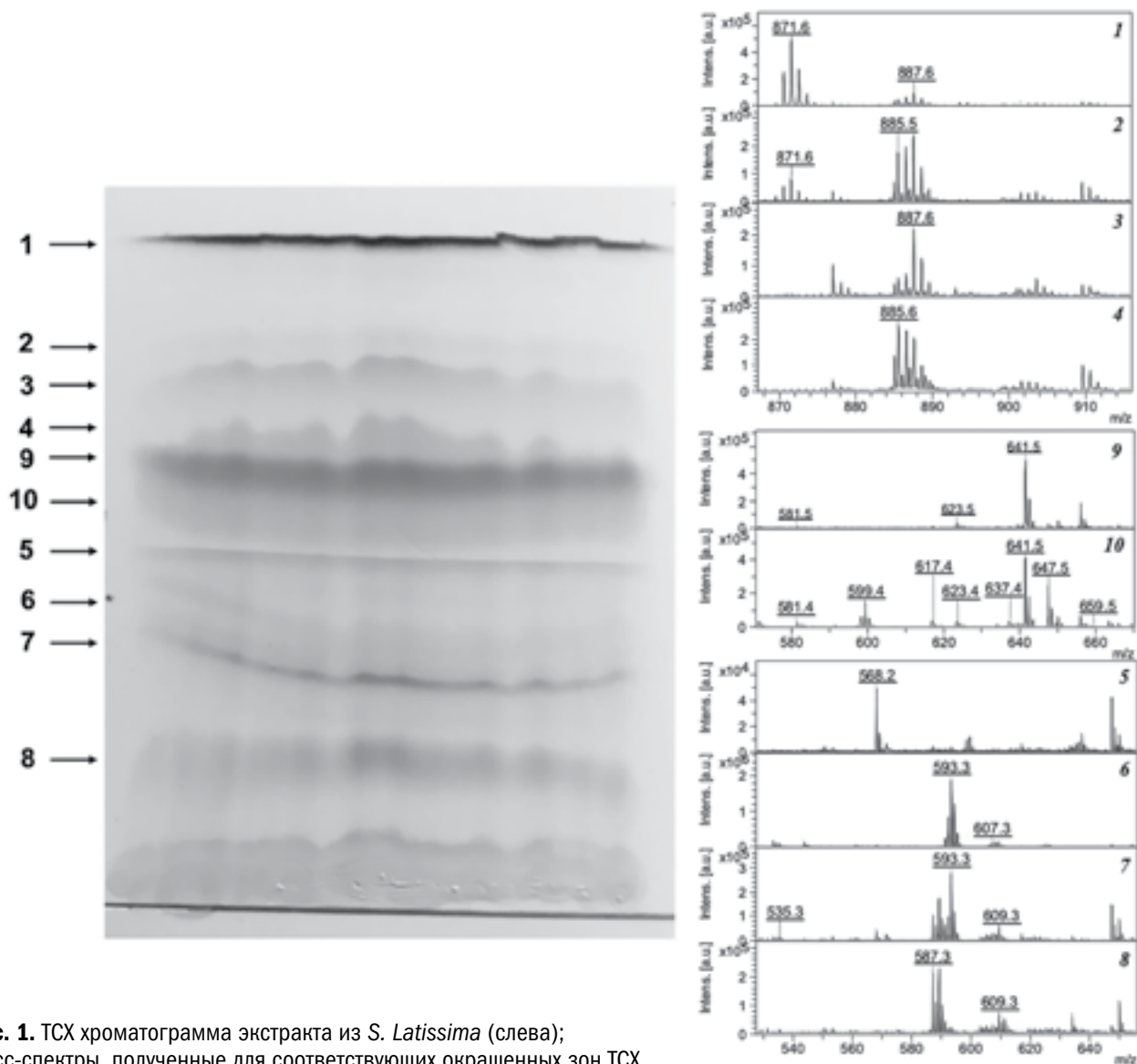


Рис. 1. ТСХ хроматограмма экстракта из *S. Latissima* (слева); масс-спектры, полученные для соответствующих окрашенных зон ТСХ пластины (справа).

Таблица 1

Идентификация хлорофиллов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура фрагментных ионов
1	Пирофеофорбид а	$C_{33}H_{34}N_4O_3$	535.3	535.3	517.3 507.3 491.2 462.3	$[M-H_2O]^+$ $[M-CO]^+$ $[M-CO_2]^+$ $[M-HO_2CC_2H_4]^+$
2	Толипорфирин Д, 7-деглюкозил, 7-гидрокси, 2В-Ас	$C_{32}H_{34}N_4O_7$	587.3	587.3	559.2 542.2 527.2	$[M-CO]^+$ $[M-CO, -OH]^+$ $[M-CH_3CO_2H]^+$
3	Феофорбид а	$C_{35}H_{36}N_4O_5$	593.3	593.3	565.4 561.3 533.4	$[M-CO]$ $[M-CH_3OH]$ $[M-HCO_2CH_3]$
4	Феофорбид б	$C_{35}H_{34}N_4O_6$	607.2	607.3	589.3 575.2 547.2 495.2	$[M-H_2O]^+$ $[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-HO_2CC_3H_4=C_2H_3]^+$
5	Феофорбид а, 10-гидрокси	$C_{35}H_{36}N_4O_6$	609.3	609.3	591.3 577.2 549.3	$[M-H_2O]^+$ $[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$
6	Аналог феофитина	-	817.3	-	773.0 539.2	$[M-CO_2]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
7	Аналог феофитина	-	839.5	-	795.1 561.2	$[M-CO_2]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
8	Феофитин а	$C_{55}H_{74}N_4O_5$	871.6	871.6	839.6 811.5 593.3 533.3	$[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$ $[M-C_{20}H_{39}CO_2CH_3]^+$
9	Гидрокси феофитин а	$C_{55}H_{74}N_4O_6$	887.6	887.6	855.6 827.5 609.3 549.2	$[M-CH_3OH]^+$ $[M-HCO_2CH_3]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$ $[M-C_{20}H_{39}CO_2CH_3]^+$
10	Гомо-131-А-окса-132-гидрокси хлорофилл а	$C_{55}H_{72}MgN_4O_7$	925.5	925.5	866.5 647.2	$[M-CH_3O_2C]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$
11	Аналог феофитина	-	939.6	-	881.6 661.1	$[M-COOCH_2]^+$ или $[M-OCH_2C_2H_4]^+$ $[M-C_{20}H_{38}]^+$

ных в зеленый или сине-зеленый цвет, присутствуют порфириновые соединения (производные хлорофилла). Для каждого индивидуального иона были получены фрагментные масс-спектры (табл. 1) и проведена идентификация с помощью баз данных Charman&Hall, PubChem, KEGG и ChEBI, а также сопоставления с данными литературы по порфириновым соединениям в составе водорослей [15,16].

Порядок удерживания веществ на ТСХ напрямую связан с их гидрофильно-гидрофобными свойствами, которые для различных производных порфирина значительно различаются. Так, наиболее гидрофобный из порфиринов – феофитин *a* обнаруживается в зоне №1 (Rf 0.98 в системе Э-1), а его менее гидрофобный аналог, феофорбид *a*, - в зоне №7 (Rf 0.25 в системе Э-3). С помощью масс-спектрометрических баз данных удалось достоверно идентифицировать 8 соединений, а всего в смеси было зарегистрировано 11 производных хлорофилла, 6 из которых являются эфирами фитола (для которых в масс-спектрах характерен распад с отщеплением фитильного радикала с массой 278), а остальные 5 – порфиринами, не содержащими фитильного остатка. Интересно отметить, что в составе экстракта *S. latissima* были обнаружены не описанные в литературе производные с молекулярными массами 816.3, 838.5 и 938.6, о порфириновой структуре которых свидетельствует характерный масс-спектрометрический распад (табл. 1).

Пигменты другой группы, каротиноиды, обнаруживаются на ТСХ в относительно узком ин-

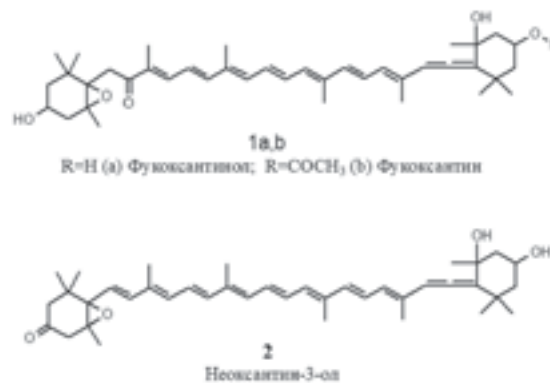


Рис. 2. Структуры идентифицированных каротиноидов в составе *S. latissima*

тервале пробега (Rf 0.55-0.65 в системе Э-3). Эти вещества образуют 2 интенсивно окрашенные в оранжевый цвет зоны (9 и 10, рис. 1), в составе которых были идентифицированы фукоксантин, фукоксантинол и неоксантин-3-он (рис. 2).

Масс-спектрометрические и хроматографические характеристики фукоксантина и фукоксантинола соответствуют стандартным образцам и данным литературы [17]. Также на ТСХ было обнаружено небольшое количество бета-каротина, идентифицированного путем сравнения со стандартом. Кроме того, в смеси присутствует ряд других веществ с характерными для каротиноидов масс-спектрами, однако сведений о таких производных в литературе найти не удалось. В таблице 2 приведены масс-спектрометрические

Таблица 2

Идентификация каротиноидов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура отщепляемых фрагментов
1	Каротиноид	C ₄₀ H ₅₂ O ₃	581.4	581.4	121.1, 221.1, 489.4, 563.3	H ₂ O, C ₃ H ₈ O ₃
2	Неоксантин-3-он	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	599.4	599.4	221.2, 507.4, 581.4	H ₂ O, C ₃ H ₈ O ₃
3	Фукоксантинол	C ₄₀ H ₅₆ O ₅	617.4	617.4	121.1, 221.2, 531.4, 563.3 599.3	H ₂ O, 2H ₂ O, 3H ₂ O,
4	Каротиноид	C ₄₂ H ₅₄ O ₄	623.4	623.4	109.1, 221.1, 531.4, 563.4 587.3, 605.4	H ₂ O, 2H ₂ O, CO ₂ H, C ₃ H ₈ O ₃
5	Каротиноид	C ₄₀ H ₆₀ O ₆	637.4	637.4	109.0, 121.1, 221.1, 577.3, 585.4, 619.4	H ₂ O, COCH ₃ , C ₂ H ₄ O ₂

Таблица 2 (продолжение)

Идентификация каротиноидов водоросли *Saccharina latissima* по данным тандемной масс-спектрометрии

№	Название	Брутто-формула	m/z экспериментальное	m/z расчетное	Основные фрагментные ионы, m/z	Предположительная структура отщепляемых фрагментов
6	Каротиноид	C ₄₀ H ₄₈ O ₇	641.4	641.3	149.1, 221.2, 549.4, 605.4, 623.4	H ₂ O, 2H ₂ O, C ₃ H ₈ O ₃
7	Каротиноид	C ₄₂ H ₆₂ O ₅	647.5	647.4	147, 347, 495, 551, 599, 611, 629	H ₂ O, 2H ₂ O
8	Фукоксантин	C ₄₂ H ₅₈ O ₆	659.5	659.4	109.0, 221.2, 567.5, 581.4, 599.5, 623.5, 641.4	H ₂ O, COCH ₃ , C ₂ H ₄ O ₂ , C ₂ H ₄ O ₃ , C ₃ H ₈ O ₃
9	Каротиноид	C ₄₃ H ₅₈ O ₈	703.5	703.4	109.1, 221.1, 299.2, 567.3, 647.5, 660.2	H ₃ O, COCH ₃

характеристики таких гипотетических каротиноидов *S. latissima*, идентификацию которых, возможно, удастся провести в ходе дальнейших исследований.

Заключение. Таким образом, метод ТСХ в сочетании с МАЛДИ-МС является удобным и информативным подходом для оценки качественного состава пигментов *S. latissima*, и может служить для стандартизации водорослевого сырья и липидных извлечений, предназначенных для изготовления БАД и фармацевтических средств.

Полученные данные о биологически активных пигментах *S. latissima*, в том числе свидетельства о наличии в ее составе новых каротиноидов и производных порфирина, представляют несомненный интерес для дальнейших исследований.

Благодарности. Авторы выражают благодарность ресурсному центру «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ за возможность выполнения масс-спектрометрического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боголицин К. Г., Каплицын П. А., Ульяновский Н. В., Пронина О. А. Комплексное исследование химического состава бурых водорослей Белого моря. Химия растительного сырья. 2012; 4: 153-160.
2. Боголицин К. Г., Каплицын П. А. Перспективы использования сверхкритической флюидной экстракции для получения биологически активных веществ из бурых водорослей арктических морей. В кн.: Материалы Всероссийской школы – конференции молодых учёных «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем. Экстракция растительного сырья». Архангельск, 25 – 28 июня 2012: 79-86.
3. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. Biotechnol Adv. 2011; 29(5): 483-501.
4. Vadalà M., Palmieri B. From algae to "functional foods". Clin Ter. 2015; 166(4): e281-300 (in Italian).
5. Gammone MA., Riccioni G., D'Orazio N. Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. Mar. Drugs. 2015; 13(10): 6226-6246.
6. Martin L.J. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. Mar. Drugs. 2015; 13(8): 4784-4798.
7. Maeda H. Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. J. Oleo Sci. 2015; 64(2): 125-32.
8. Abidov M., Ramazanov Z., Seifulla R., Grachev S. The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat. Diabetes Obes Metab. 2010; 12(1): 72-81.
9. Fujiwara T., Nishida N., Nota J., Kitani T., Aishi K., Takahashi H., et.al. Efficacy of chlorophyll c2 for seasonal allergic rhinitis: single-center double-blind randomized control trial. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016; 273(12): 4289-4294.
10. Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., et.al. Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. Food Chem Toxicol. 2013; 55: 541-548.
11. Лозовская М.Е. Эффективность использования ламинарии у подростков при комплексном лечении туберкулёза лёгких. Вопросы питания. 2005; 74(1): 40-43.
12. El-Nakeeb M.A., Jousef R.T. Antimicrobial activity of sodium cooper chlorophyllin. Pharmazie. 1974; 29: 48-50.
13. Kamei Y., Aoki M.A. Chlorophyll c2 analogue from the marine brown alga *Eisenia bicyclis* inactivates the infectious hematopoietic necrosis virus, a fish rhabdovirus. Arch. Virol. 2007; 152(5): 861-869.
14. Муравьева Е.А. Комплексная технология получения экстрактивных БАВ из бурых водорослей белого моря. Рыбпром. 2010; 3: 54-57.
15. Fu W., Magnúsdóttir M., Brynjólfsson S., Pálsson B.Ø., Paglia G. UPLC-UV-MS(E) analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. Anal Bioanal Chem. 2012; 404(10): 3145-3154.
16. Milenković S.M., Zvezdanović J.B., Anđelković T.D., Marković D.Z. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. Advanced technologies. 2012; 1(1): 16-24.
17. Murador D.C., Salafia F., Zoccali M., Martins P.L.G., Ferreira A.G., Dugo P., et.al. Green Extraction Approaches for Carotenoids and Esters: Characterization of Native Composition from Orange Peel. Antioxidants (Basel). 2019; 8(12): E613.

REFERENCES:

1. Bogolicin K.G., Kaplicyn P.A., Ulyanovskij N.V., Pronina O.A. Complex research of the White sea brown algae chemical composition. Chemistry of plant raw materials. 2012; 4: 153-160 (in Russian).
2. Bogolicin K.G., Kaplicyn P.A. Perspectives of using supercritical fluid extraction for obtaining of biologically active substances from the Arctic seas' brown algae. In: Proceedings of the National school-conference of young scientists "Supercritical fluid technologies in the environmental management. Extraction of plant raw materials". Arkhangelsk, June 25-28, 2012: 79-86 (in Russian).
3. Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A.

- Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol Adv.* 2011; 29(5): 483-501.
4. *Vadalà M., Palmieri B.* From algae to "functional foods". *Clin Ter.* 2015; 166(4): e281-300 (in Italian).
 5. *Gammone M.A., Riccioni G., D'Orazio N.* Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. *Mar. Drugs.* 2015; 13(10): 6226-6246.
 6. *Martin L.J.* Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Mar. Drugs.* 2015; 13(8): 4784-4798.
 7. *Maeda H.* Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: a review. *J. Oleo Sci.* 2015; 64(2): 125-32.
 8. *Abidov M., Ramazanov Z., Seifulla R., Grachev S.* The effects of Xanthigen in the weight management of obese premenopausal women with non-alcoholic fatty liver disease and normal liver fat. *Diabetes Obes Metab.* 2010; 12(1): 72-81.
 9. *Fujiwara T., Nishida N., Nota J., Kitani T., Aoishi K., Takahashi H., et al.* Efficacy of chlorophyll c2 for seasonal allergic rhinitis: single-center double-blind randomized control trial. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016; 273(12): 4289-4294.
 10. *Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., et al.* Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Food Chem Toxicol.* 2013; 55: 541-548.
 11. *Lozovskaia M.E.* Effectiveness of using the biologically active additive to food from *Laminaria* in adolescents during complex treatment of the pulmonary tuberculosis. *Nutrition issues.* 2005; 74(1): 40-43 (in Russian).
 12. *El-Nakeeb M.A., Jousef R.T.* Antimicrobial activity of sodium cooper chlorophyllin. *Pharmazie.* 1974; 29: 48-50.
 13. *Kamei Y., Aoki M.A.* Chlorophyll c2 analogue from the marine brown alga *Eisenia bicyclis* inactivates the infectious hematopoietic necrosis virus, a fish rhabdovirus. *Arch. Virol.* 2007; 152(5): 861-869.
 14. *Murav'eva E.A.* Complex technology for obtaining of extractive biologically active substances from the White Sea brown algae. *Rybprom.* 2010; 3: 54-57 (in Russian).
 15. *Fu W., Magnúsdóttir M., Brynjólfson S., Palsson B.Ø., Paglia G.* UPLC-UV-MS(E) analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. *Anal Bioanal Chem.* 2012; 404(10): 3145-3154.
 16. *Milenković S.M., Zvezdanović J.B., Anđelković T.D., Marković D.Z.* The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced technologies.* 2012; 1(1): 16-24.
 17. *Murador D.C., Salafia F., Zoccali M., Martins P.L.G., Ferreira A.G., Dugo P., et al.* Green Extraction Approaches for Carotenoids and Esters: Characterization of Native Composition from Orange Peel. *Antioxidants (Basel).* 2019; 8(12): E613.

K.A. Krasnov¹, A.S. Gladchuk^{1,3}, M.L. Alexandrova¹, O.A. Keltsieva^{2,1}, M.A. Zaytseva¹, M. V. Melnikova¹, V.L. Reinyuk¹, E.P. Podolskaya^{1,2}

STUDY OF THE LIPID PIGMENT COMPOSITION IN THE WHITE SEA ALGAE *SACCHARINA LATISSIMA* USING TLC AND MALDI-MS

¹Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

²Institute of Analytical Instrumentation, Russian Academy of Sciences, 190103, Saint Petersburg, Russian Federation

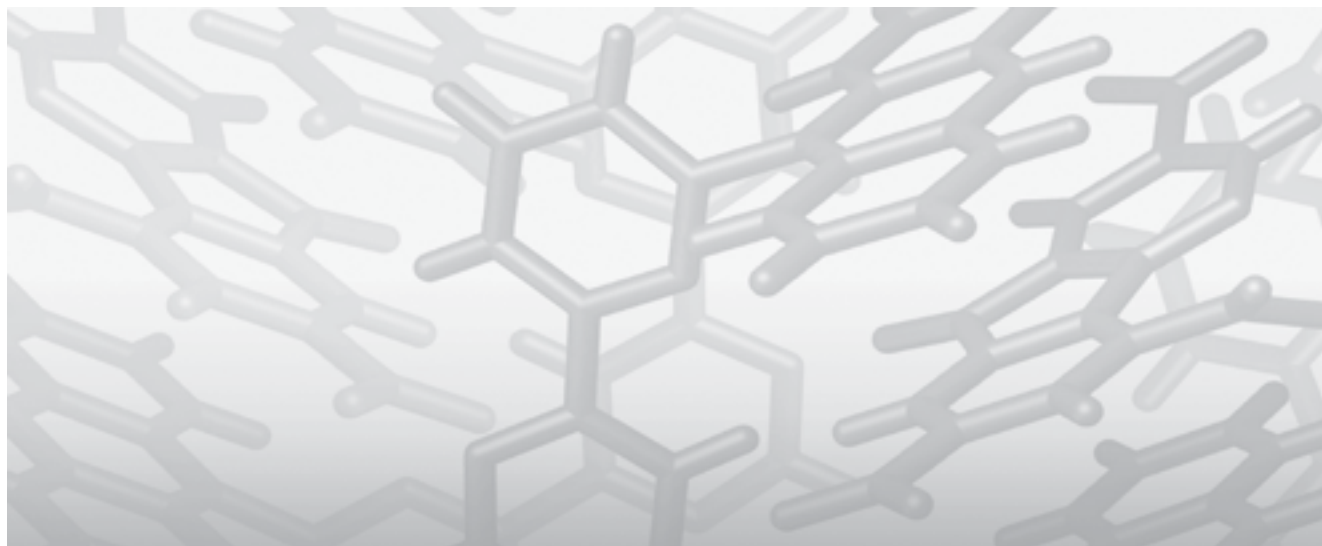
³St. Petersburg State University, 199034, Saint Petersburg, Russian Federation

The qualitative composition of the most important biologically active lipid substances-carotenoids and chlorophyll derivatives of the White sea algae *Saccharina latissima* has been studied. The lipid extract was separated by thin-layer chromatography (TLC) and examined by matrix-associated laser desorption-ionization with mass-spectrometric analysis (MALDI-MS). The extract contained fucoxanthin, fucoxanthinol, pheophytin a, pheophorbide a, as well as other carotenoids and chlorophylls, including those not described in the literature. The results obtained, which significantly expand the information about the composition of *S. latissima* pigments, can be used to standardize raw materials and preparations based on these algae.

Keywords: brown algae, *S. latissima*, lipids, pigments, carotenoids, chlorophylls, thin-layer chromatography, MALDI-MS.

Quote: K.A. Krasnov, A.S. Gladchuk, M.L. Alexandrova, O.A. Keltsieva, M.A. Zaytseva, M. V. Melnikova, V.L. Reinyuk, E.P. Podolskaya. Study of the lipid pigment composition in the White sea algae *Saccharina latissima* using TLC and MALDI-MS. *Toxicological Review.* 2020; 5:50-56

Материал поступил в редакцию 13.04.2020 г.



НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 615.9

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-5-57-60

ТОКСИЧНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ ЗОЛМИТРИПТАНА (ДАННЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

М.В. Бидевкина¹, М.И. Голубева²,
И.А. Бобринева², А.В. Лиманцев¹,
Т.Н. Потапова¹, И.Н. Разумная²,
А.Ю. Савченко³, Г.В. Раменская⁴

¹ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора, 117246, Москва, Российская Федерация

²АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (АО «ВНЦ БАВ»), 142450, Старая Купавна Московской области, Российская Федерация

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

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

Золмитриптан – широко используемое средство против мигрени, относится к группе триптанов второго поколения, обладает выраженным центральным механизмом действия и высокой селективностью к серотониновым рецепторам 5HT_{1D}- и 5HT_{1B}-типа. Золмитриптан относится к 3 классу опасности по ГОСТ 12.1.007-76: DL₅₀ при введении в желудок для мышей самцов 660 (495 ÷ 881) мг/кг, для мышей самок 1045 (749 ÷ 1292) мг/кг. При введении в брюшную полость DL₅₀ для мышей самцов 172 (131 ÷ 225) мг/кг. Препарат оказывает слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаз, не раздражает кожу, признаков кожно-резорбтивного действия не выявлено, обладает низкой способностью к кумуляции. Порог острого ингаляционного действия установлен на уровне 0,9 мг/м³ по влиянию на функциональное состояние нервной системы и печени. Для аэрозоля золмитриптана рекомендован к утверждению ОБУВ в воздухе рабочей зоны 0,01 мг/м³ и ОБУВ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений 0,0001 мг/м³.

Ключевые слова: золмитриптан, токсичность, нервная система, печень, крысы, гигиеническое нормирование.

Цит: М.В. Бидевкина, М.И. Голубева, И.А. Бобринева, А.В. Лиманцев, Т.Н. Потапова, И.Н. Разумная, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская. Токсичность и опасность золмитриптана (данные экспериментального исследования). Токсикологический вестник. 2020; 5:57-60

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

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

Бобринева Ирина Алексеевна (Bobrineva Irina Alekseevna), ведущий научный сотрудник лаборатории профилактической токсикологии и гигиены АО «ВНЦ БАВ», Старая Купавна Московской области, ural955@mail.ru;

Лиманцев Анатолий Владимирович (Limantsev Anatoliy Vladimirovich), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории токсикологии дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии, г. Москва, av.lim@yandex.ru;

Потапова Татьяна Николаевна (Potapova Tatyana Nikolaevna), старший научный сотрудник лаборатории токсикологии дезинфекционных средств ФБУН НИИ Дезинфектологии, г. Москва, potapovatn@niid.ru;

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

Савченко Алла Юрьевна (Savchenko Alla Yur'evna), старший научный сотрудник ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Московская область, alursav@mail.ru;

Раменская Галина Владиславовна (Ratenskaya Galina Vladislavovna), доктор фармацевтических наук, профессор, директор Института фармации ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России, г. Москва, ratenskaia@mail.ru

Введение. Золмитриптан – широко используемое средство против мигрени, относится к группе триптанов второго поколения. Препарат обладает выраженным центральным механизмом действия и высокой селективностью к серотониновым рецепторам 5HT_{1D}- и 5HT_{1B}-типа. Фармакодинамические и фармакокинетические свойства обеспечивают продолжительное действие препарата, минимум возвратных головных болей, эффективность в отношении не только головной боли, но и сопутствующих тошноты, света- и звукобоязни. Преимуществами золмитриптана являются высокая клиническая эффективность, быстрое достижение терапевтического уровня препарата в плазме крови и слабое вазоконстрикторное влияние на коронарные сосуды [1, 2]. Золмитриптан применяют внутрь и интраназально (в виде спрея). Рекомендуемая доза для купирования приступа мигрени – 2,5 мг (минимальная суточная терапевтическая доза – МСТД). При возникновении повторных приступов мигрени общая доза золмитриптана, принятая в течение 24 ч, не должна превышать 10 мг (высшая суточная терапевтическая доза – ВСТД).

По данным фармацевтической компании AstraZeneca золмитриптан относится к умеренно опасным веществам при поступлении в организм через желудочно-кишечный тракт. DL₅₀ для крыс при введении в желудок находится в пределах от 1000 до 1500 мг/кг. Препарат не проявил антигенной активности в тестах активной системной анафилаксии и пассивной кожной анафилаксии. Сведения о мутагенном действии вещества противоречивы: имеются данные об отсутствии и наличии мутагенного эффекта в тестах *in vitro* и *in vivo*. Канцерогенное действие не выявлено в опытах на мышах и крысах при введении вещества в течение 2 лет в дозах до 400 мг/кг в сутки (превышает рекомендуемую терапевтическую дозу для человека примерно в 3000 раз). Введение золмитриптана в этой дозе самкам и самцам крыс не выявило нарушения фертильности. Изучение репродуктивной токсичности препарата проводили на крысах и кроликах при введении вещества внутрь в период органогенеза. Эмбриотоксическое действие препарата выявлено при воздействии доз, токсичных для материнского организма. Настоящее исследование проведено с целью разработки ОБУВ золмитриптана в воздухе рабочей зоны и атмосферного воздуха городских и сельских поселений.

Материалы и методы исследования. Международное непатентованное наименование: Золмитриптан (Zolmitriptan). Синонимы: Зомиг, Зомигон, Золмигрен, Рапимиг, Флезол. Химическое название по IUPAC: (4S)-4-[[3-[2-(диметиламино)этил]-1H-индол-5-ил]метил]-2-оксазолидинон. CAS: 139264-17-8. Брутто-формула: C₁₆H₂₁N₃O₂.

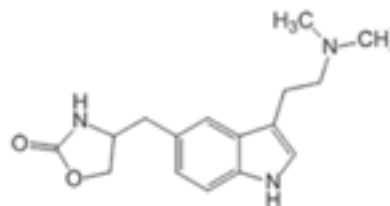


Рис. Структурная формула золмитриптана

М. м.: 287,36. Т пл.: 136-140 °С. Агрегатное состояние: белый или почти белый кристаллический порошок.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. Исследование проведено на 150 белых беспородных крысах самцах, 100 белых беспородных мышах, 6 кроликах породы «Советская шиншилла». Статистические группы животных состояли из 6-10 особей. Средние смертельные дозы рассчитывали методом пробит-анализа в модификации В.Б. Прозоровского. Раздражающее действие изучали на кроликах. Кожно-резорбтивное действие препарата оценивали на мышах «пробирочным методом»; кумулятивные свойства изучали методом Лима и соавторов. Исследование острого ингаляционного воздействия на крысах проводили в затравочных камерах объемом 200 литров динамическим способом. Состояние нервной системы оценивали по изменению поведенческих реакций в тестах «открытого поля», «темной камеры с отверстиями» (ТКСО); порога нервно-мышечной возбудимости (СПП), регистрируемого по методу С.В. Сперанского. Функцию дыхательной системы изучали с помощью регистрации частоты дыхания (ЧД), определения количественного и качественного состава клеток смывов из легких и носоглотки по методу Г.С. Комовникова. Измеряли ректальную температуру, частоту сердечных сокращений (ЧСС) крыс. Для оценки функционального состояния печени в сыворотке крови подопытных животных измеряли активность ферментов аминотрансфераз (АЛТ и АСТ), щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и холинэстеразы. Функцию почек оценивали по уровню диуреза, содержанию в моче общего белка, мочевины и хлоридов, кроме того, определяли содержание мочевины в сыворотке крови крыс.

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

Результаты и обсуждение. Золмитриптан относится к 3 классу опасности по величине DL₅₀ при

Таблица

Показатели функционального состояния нервной системы после однократной ингаляции аэрозоля золмитриптана в различных концентрациях

Показатели		Группы 4,8 ± 0,3	Концентрация, мг/м ³		
			0,9 ± 0,1	0,2 ± 0,02	
СПП, усл. ед.		Опыт Контроль	4,00 ± 0,18** 5,00 ± 0,15	4,33 ± 0,10* 5,08 ± 0,15	5,10 ± 0,21 5,09 ± 0,19
Открытое поле	Горизонтальная подвижность	Опыт Контроль	23,2 ± 5,3 29,3 ± 3,6	22,7 ± 4,2 20,1 ± 3,4	25,8 ± 4,4 26,3 ± 5,2
		Опыт Контроль	8,3 ± 1,4* 13,5 ± 1,9	7,5 ± 0,9* 11,8 ± 1,2	8,5 ± 1,5 10,3 ± 1,8
	Норки	Опыт Контроль	9,8 ± 1,4 8,5 ± 1,3	7,6 ± 0,9 8,1 ± 0,7	7,4 ± 1,1 7,9 ± 1,3
ТКСО	Латентный период, сек.	Опыт Контроль	23,3 ± 6,7* 57,3 ± 9,9	31,1 ± 4,6* 48,3 ± 5,5	38,4 ± 3,9 43,3 ± 5,6
	Количество выглядываний	Опыт Контроль	10,8 ± 1,9 8,0 ± 0,81	9,6 ± 1,4 7,5 ± 1,1	8,3 ± 1,0 8,9 ± 1,1

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,002$

введении в желудок (по ГОСТ 12.1.007-76): DL_{50} для мышей самцов 660 (495 ÷ 881) мг/кг, для мышей самок 1045 (749 ÷ 1292) мг/кг. При введении в брюшную полость по величине DL_{50} золмитриптан является малотоксичным веществом (4 класс токсичности по классификации К.К. Сидорова): DL_{50} для мышей самцов 172 (131 ÷ 225) мг/кг. После введения препарата у животных наблюдали клинические признаки интоксикации: снижение двигательной активности, слабость, атаксию, судороги, гиперемия ушей и лап, саливацию, сгорбленность, затрудненное дыхание, пилоэрекцию, у отдельных особей – боковое положение.

Золмитриптан оказывает слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаз кроликов, не раздражает кожу. Признаков кожно-резорбтивного действия не выявлено. Коэффициент кумуляции составил 8,7, что свидетельствует о низкой способности препарата к кумуляции в организме. Для определения порога острого ингаляционного действия ($Limac$) аэрозоля золмитриптана были испытаны 3 концентрации: $4,8 \pm 0,3$; $0,9 \pm 0,1$ и $0,2 \pm 0,02$ мг/м³. Аэрозоль золмитриптана при ингаляции в максимальной испытанной концентрации оказывал влияние на показатели функционального состояния нервной, дыхательной систем и печени экспериментальных животных. У крыс зарегистрировано снижение СПП, вертикальной компоненты двигательной активности в тесте «открытое по-

ле» и латентного периода первого выглядывания в тесте «ТКСО» (табл.), выявлено снижение ЧД (опыт: $105,0 \pm 1,4$; контроль: $142,7 \pm 11,4$ дых./мин; $p < 0,01$), увеличение относительного количества нейтрофилов в смывах из носоглотки (опыт: $52,0 \pm 6,0$; контроль: $46,0 \pm 1,3$ кл/мкл; $p < 0,05$) и из легких (опыт: $37,0 \pm 3,1$; контроль: $23,1 \pm 2,0$ кл/мкл; $p < 0,05$). ЧСС, ректальная температура, состав периферической крови подопытных животных не отличись от контроля. Биохимический анализ сыворотки крови показал повышение активности АЛТ в сыворотке крови (опыт: $72,4 \pm 8,1$; контроль: $50,5 \pm 3,1$ Е/л; $p < 0,05$). При изучении показателей функции почек у подопытных крыс не отмечено изменений.

После ингаляции аэрозоля золмитриптана в концентрации $0,9$ мг/м³ у подопытных крыс изменялись показатели функционального состояния нервной системы и печени. Отмечено снижение СПП, вертикальной компоненты двигательной активности в тесте «открытое поле» и латентного периода первого выглядывания в тесте «ТКСО» (табл.), а также повышение активности АЛТ в сыворотке крови (опыт: $58,2 \pm 4,6$; контроль: $45,6 \pm 3,2$ Е/л; $p < 0,05$). Ингаляция золмитриптана в концентрации $0,2$ мг/м³ не вызывала у подопытных крыс каких-либо изменений регистрируемых показателей. Таким образом, $Limac$ золмитриптана находится на уровне $0,9$ мг/м³ по влиянию на показатели функционального состо-

яния нервной системы и печени. Прогноз безопасного уровня золмитриптана в воздухе рабочей зоны проводили с учетом установленного Limac (0,9 мг/м³), а также МСТД (2,5 мг) и ВСТД (10 мг).

Заключение. Рекомендуемый ОБУВ аэрозоля золмитриптана в воздухе рабочей зоны 0,01 мг/м³. С учетом максимального поглощения вещества в

течение рабочей смены в организм работающего может попасть 0,1 мг, что в 25 раз меньше МСТД и в 100 раз меньше ВСТД. Метод определения в воздухе – спектрофотометрический, диапазон измеряемых концентраций 0,1- 0,7 мг/м³. Рекомендуемый ОБУВ аэрозоля золмитриптана в атмосферном воздухе городских и сельских поселений 0,0001 мг/м³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калашникова Л.А. Зомиг – новый селективный агонист серотониновых рецепторов в лечении приступа мигрени. Неврологический журнал; 1999; 4 (4): 37-40.
2. Эволюция взглядов на причины развития мигрени. Международный невро-

логический журнал; 2009; 5(27). Available at: http://www.mif-ua.com/archive/article_print/11306 (дата обращения 02 августа, 2019).

REFERENCES:

1. Kalashnikova L.A. Zomig – a new selective serotonin receptor agonist in the treatment of migraine attacks. Neurological journal; 1999; 4 (4): 37-40 (in Russian).
2. Evolution of views on the causes of migraines. International neurological journal;

2009; 5(27). Available at: http://www.mif-ua.com/archive/article_print/11306 (accessed 02 August, 2019) (in Russian).

M.V. Bidevkina¹, M.I. Golubeva², I.A. Bobrineva², A.V. Limantsev¹, T.N. Potapova¹, I.N. Razumnaya², A.Yu. Savchenko³, G.V. Ramenskaya⁴

TOXICITY AND HAZARD OF ZOLMITRIPTAN (EXPERIMENTAL STUDY)

¹Scientific Research Disinfectology Institute of Rospotrebnadzor, 117246, Moscow, Russian Federation

²Joint-Stock Company «All-Union Scientific Center for the Safety of Biologically Active Compounds», 142450, Staraya Kupavna, Moscow region, Russian Federation

³Scientific Center for Biomedical Technology of the Federal Medical Biological Agency of the Russian Federation, 143442, Svetlye Gory Village, Krasnogorsk District, Moscow region, Russian Federation

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russian Federation

Zolmitriptan is a widely used antimigraine drug, belongs to the group of second-generation tryptans, has a pronounced central mechanism of action and high selectivity to serotonin receptors of 5HT_{1D}- and 5HT_{1B}-types. Zolmitriptan belongs to hazard class 3 according to GOST 12.1.007-76: DL₅₀ are 660 (495 - 881) mg/kg for male mice and 1045 (749 - 1292) mg/kg for female mice when administered into the stomach. When injected into the abdominal cavity, DL₅₀ is 172 (131 - 225) mg/kg for male mice. The drug has a weak irritating effect on the mucous membranes of the eyes, does not irritate the skin, there are no signs of skin-resorptive action, and has a low ability to accumulate. The threshold of acute inhalation action is set at 0,9 mg/m³ for the effect on the functional state of the nervous system and liver. For the zolmitriptan aerosol, it is recommended to approve the tentative safe exposure level in the air of the working area at 0,01 mg/m³ and the tentative safe exposure level in the atmospheric air of urban and rural settlements at 0,0001 mg/m³.

Keywords: *zolmitriptan, toxicity, nervous system, liver, rats, hygiene standards.*

Quote: M.V. Bidevkina, M.I. Golubeva, I.A. Bobrineva, A.V. Limantsev, T.N. Potapova, I.N. Razumnaya, A.Yu. Savchenko, G.V. Ramenskaya. Toxicity and hazard of zolmitriptan (experimental study). Toxicological Review. 2020; 5:57-60

Материал поступил в редакцию 10.08.2019 г.



ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-5-61-63

ИНФОРМАЦИЯ О РЕАЛИЗАЦИИ ТР ЕАЭС «О БЕЗОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ» ОТ 03.03.2017 № ТР ЕАЭС 041/2017 В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

14.09.2020 вступило в силу Постановление Правительства РФ от 11.09.2020 N 1407 Об уполномоченных органах, ответственных за реализацию технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности химической продукции» в Российской Федерации (<http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202009160003>).

В соответствии с пунктом 2 Постановления Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека определена уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, осуществляющим проведение нотификации новых химических веществ, а также проведение процедуры разрешительной государственной регистрации химической продукции (химических веществ и смесей) при наличии в ее составе новых химических веществ в части оценки их опасности для здоровья человека и окружающей среды с учетом физико-химических, токсикологических и экотоксикологических свойств и направления в Министерство промышленности и торговли Российской Федерации соответствующего заключения о возможности проведения нотификации новых химических веществ либо проведения процедуры разрешительной государственной регистрации химической продукции (химических веществ и смесей) при наличии в ее составе новых химических веществ по форме, утвержденной Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

В согласно пункта 48 ТР ЕАЭС «О безопасности химической продукции» от 03.03.2017 № ТР ЕАЭС 041/2017 сведения, направляемые в уполномоченный орган в целях нотификации новых химических веществ, должны включать в себя:

а) отчет о химической безопасности в соответствии со структурой согласно приложению N 3 к тексту ТР;

б) наименование химического вещества согласно номенклатуре IUPAC, в том числе на английском языке;

в) структурную формулу химического вещества;

г) номер CAS;

д) данные инструментального анализа химического вещества;

е) степень чистоты химического вещества;

ж) предполагаемые области применения химического вещества;

з) предполагаемые методы утилизации (переработки) химического вещества;

и) способ транспортировки химического вещества и меры по предотвращению и ликвидации возникших чрезвычайных ситуаций;

к) аналитические методы контроля;

л) физико-химические данные химического вещества;

м) данные по токсичности химического вещества;

н) данные по экотоксичности химического вещества;

о) копии данных (протоколов) исследований (испытаний) химического вещества по определению биоаккумуляции, канцерогенности, мутагенности, токсичности, проведенных в лабораториях (центрах), признанных соответствующими принципам надлежащей лабораторной практики уполномоченным органом в соответствии с законодательством государства-члена (допускается проведение исследований (испытаний) в иных лабораториях (центрах) в течение 2 лет с даты вступления в силу настоящего технического регламента).

Структура отчета о химической безопасности включает следующую информацию

I. Общие сведения

1. Реквизиты заявителя (изготовителя (уполномоченного изготовителем лица), импортера химической продукции) (наименование (фамилия, имя, отчество) и местонахождение (адрес юридического лица) заявителя, государственные регистрационные номера, банковские и почтовые реквизиты, номер телефона, адрес электронной почты).
2. Сведения о химической продукции (наименование, компонентный состав, номер CAS (при наличии)), ее производстве и использовании.
3. Классификация и маркировка.
4. Руководство по безопасному использованию.
5. Результаты исследований физико-химических, токсикологических и экотоксикологических свойств.
6. Предложения по дополнительному тестированию.
7. Информация об опасности в отношении жизни и здоровья человека, жизни и здоровья животных и растений, окружающей среды, имущества.
8. Оценка возможности использования безопасных химических веществ в качестве альтернативных компонентов регистрируемой химической продукции.

II. Оценка опасностей

1. Оценка опасности для здоровья.
2. Оценка взрывопожароопасности.
3. Оценка опасности для окружающей среды.
4. Оценка стойкости, способности к бионакоплению и токсичности.
5. Оценка воздействия (для опасных и (или) стойких, способных к бионакоплению и токсичных химических веществ).
6. Сценарии воздействия (для опасных и (или) стойких, способных к бионакоплению и токсичных химических веществ).
7. Характеристика риска (для опасных и (или) стойких, способных к бионакоплению и токсичных химических веществ).

В целях осуществления процедуры нотификации новых химических веществ Межгосударственной рабочей группой по созданию документов второго уровня в целях реализации ТР 041/2017 был разработан проект Порядка нотификации новых химических веществ, в котором указано, что нотификация нового химического вещества проводится уполномоченным органом (в соответствии с текстом Постановления Правительства РФ от 11.09.2020 N 1407 Об уполномоченных органах, ответственных за реализацию

технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности химической продукции» в Российской Федерации таким уполномоченным органом является Роспотребнадзор) на основании заявления установленного образца. Одновременно с заявлением подаются сведения о веществе в соответствии с п.48 технического регламента и заполненный отчет о химической безопасности.

Сведения, предоставляемые заявителем в рамках отчета о химической безопасности, должны сопровождаться ссылкой на источник информации.

В отчете о химической безопасности допускается ссылаться на данные, содержащиеся в официальных информационных источниках согласно приложению № 3 к Порядку формирования и ведения реестра химических веществ и смесей Союза. Если какой-либо параметр или показатель не характерен для нотифицируемого химического вещества, в том числе согласно приложению № 8 к Порядку формирования и ведения реестра химических веществ и смесей Союза в соответствующем разделе отчета о химической безопасности приводят фразу «не применимо».

В целях снижения финансовой нагрузки на заявителя, вызванной необходимостью комплексного исследования свойств нового химического вещества, уполномоченный орган допускает возможность поэтапного представления информации о новом химическом веществе.

В случае поэтапного представления информации о новом химическом веществе, заявитель на первом этапе представляет в уполномоченный орган (уполномоченную организацию) сведения о новом химическом веществе в объеме, предусмотренном частью I рекомендаций по заполнению отчета о химической безопасности согласно приложению № 2 к настоящему Порядку, а также стратегию дальнейших исследований.

Стратегия дальнейших исследований выступает в качестве гарантии представления заявителем в уполномоченный орган (организацию) на втором этапе в установленные сроки сведений о новом химическом веществе в объеме, предусмотренном частью II рекомендаций по заполнению отчета о химической безопасности согласно приложению № 2 к настоящему Порядку.

Стратегия дальнейших исследований оформляется заявителем в свободной форме на бланке организации и включает в себя следующую информацию:

- перечень отсутствующих данных о свойствах нового химического вещества, требующих длительного изучения;
- перечень испытаний, проведение которых необходимо для получения отсутствующих данных (включая наименование метода испыта-

ний и номер документа по стандартизации, устанавливающего требования к проведению данного испытания);

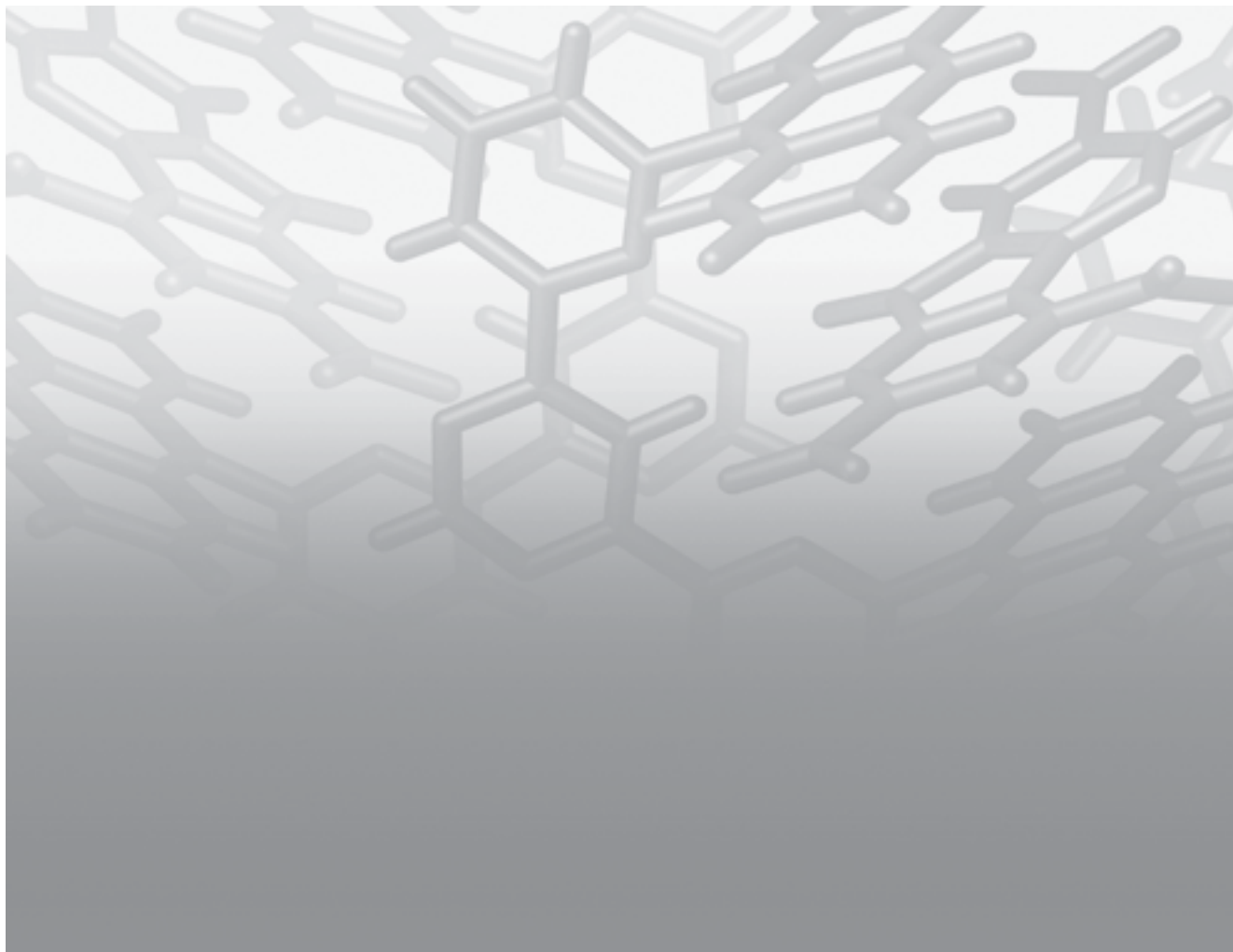
- последовательность проведения испытаний и сроки получения данных;
- окончательный срок предоставления заявителем в уполномоченный орган сведений о новом химическом веществе, предусмотренном частью II рекомендаций по заполнению отчета о химической безопасности, который не должен превышать период в 3 года.

Уполномоченный орган (уполномоченная организация) рассматривает представленные заявителем документы и принимает решение о нотификации нового химического вещества или мотивированном отказе в течение 25 рабочих дней с даты поступления документов.

Таким образом, согласно Постановления Правительства РФ от 11.09.2020 N 1407 Об уполномоченных органах, ответственных за реализацию технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности химической продукции» в Российской Федерации Федеральная служба по надзору в сфере защи-

ты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющая проведение нотификации новых химических веществ, а также проведение процедуры разрешительной государственной регистрации химической продукции (химических веществ и смесей) при наличии в ее составе новых химических веществ в части оценки их опасности для здоровья человека и окружающей среды и направляет в Министерство промышленности и торговли Российской Федерации соответствующее заключение о возможности проведения нотификации новых химических веществ либо проведения процедуры разрешительной государственной регистрации химической продукции (химических веществ и смесей) при наличии в ее составе новых химических веществ по форме, утвержденной Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Структурой Роспотребнадзора, ответственной за проведение процедуры нотификации новых химических веществ, планируется Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ.

Хамидулина Х.Х.



НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ



ТОКСИКОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ГОРЕНИЯ. КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ/под ред. Проф. В.Д.Гладких, проф. М.Б.Иванова. М.:Комментарий, 2020.- 224 с. ISBN 978 - 5 - 94822-138-0

В монографии рассмотрены состав и токсикологическая характеристика основных продуктов горения при техногенных и природных пожарах, а также факторы, определяющие вредное воздействие токсичных продуктов горения на здоровье человека. Дана общая характеристика вреда здоровью населения от действия дыма и других продуктов горения. Рассмотрены вопросы дифференциальной диагностики и оказания медицинской помощи при отравлениях токсичными продуктами горения. Обозначены приоритетные направления развития средств антидотной терапии.

