

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*



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

№ 2 (155), 2019

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

<b>Х.Х. Хамидулина</b> КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА.....2	<b>Kh.Kh. Khamidulina</b> FROM THE EDITOR-IN-CHIEF.....2
<b>Ю.Н. Остапенко, Б.Б. Яцынюк, С.А. Васильев, А.М. Лаптев, П.П. Гавриков</b> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ КАЧЕСТВА В ЦЕЛЯХ ОЦЕНКИ ОКАЗАНИЯ ПОМОЩИ ПО ПРОФИЛЮ «ТОКСИКОЛОГИЯ».....3	<b>Yu.N. Ostapenko, B.B. Yatsinyuk, S.A. Vasil'ev, A.M. Laptev, P.P. Gavrikov</b> USE OF QUALITY CRITERIA IN ORDER TO ASSESS THE MEDICAL CARE IN «TOXICOLOGY».....3
<b>О.И. Куликова, Т.Н. Федорова, В.С. Орлова</b> МОДЕЛИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОГЕННЫХ НЕЙРОТОКСИНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....9	<b>O.I. Kulikova, T.N. Fedorova, V.S. Orlova</b> MODELING OF PARKINSON'S DISEASE USING ENVIRONMENTAL NEUROTOXINS (REVIEW) .....9
<b>А.В. Кадомцева, И.В. Жданович, М.С. Пискунова, А.Н. Линева, А.Н. Новикова, П.А. Логинов</b> ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГЕРМАНИЯ..... 16	<b>A.V. Kadomtseva, I.V. Zhdanovich, M.S. Piskunova, A.N. Lineva, A.N. Novikova, P.A. Loginov</b> ASSESSMENT OF TOXICITY OF GERMANIUM COORDINATION COMPOUNDS..... 16
<b>Е.С. Другова, Н.Ф. Кушнерова, С.Е. Фоменко, В.Г. Спрыгин, Л.Н. Лесникова, В.Ю. Мерзляков, Т.В. Момот</b> ВЛИЯНИЕ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КРОВИ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРИРОДНЫМИ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ..... 22	<b>E.S. Drugova, N.F. Kushnerova, S.E. Fomenko, V.G. Sprygín, L.N. Lesnikova, V.Yu. Merzlyakov, T.V. Momot</b> EFFECT OF CARBON TETRACHLORIDE ON THE LIPID COMPOSITION OF RAT'S BLOOD AND ITS CORRECTION BY NATURAL HERBAL POLYPHENOLS ..... 22
<b>Н.И. Шеина, В.А. Паршин, Т.А. Федотчева, Н.Л. Шимановский</b> ВЛИЯНИЕ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ ГЕСТОБУТАНОИЛ ДЛЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕСТАГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА РАЗВИТИЕ ПЛОДА И ПОТОМСТВА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ ..... 28	<b>N.I. Sheina, V.A. Parshin, T.A. Fedotcheva, N.L. Shimanovsky</b> EFFECT OF THE NEW STEROID DRUG GESTOBUTANOIL FOR HORMONE REPLACEMENT THERAPY OF GESTAGENOUS INSUFFICIENCY ON THE DEVELOPMENT OF FETUS AND OFFSPRING IN EXPERIMENTS ON RATS..... 28
<b>К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Т.А. Гуськова</b> МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАННЕМУ ВЫЯВЛЕНИЮ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ТОКСИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА НА ОСНОВЕ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ БИОМАРКЕРОВ .... 37	<b>K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, T.A. Gus'kova</b> METHODOLOGICAL APPROACHES TO EARLY DETECTION OF TOXIC ACUTE KIDNEY INJURY BASED ON DYNAMICS OF SOME BIOMARKERS..... 37
<b>А.В. Бевзюк, С.А. Недовесова, В.В. Турбинский, А.С. Огудов, С.Б. Бортникова, Н.Г. Никифорова</b> ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ И ТОКСИКОКИНЕТИКА МЫШЬЯКА И СУРЬМЫ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ ..... 43	<b>A.V. Bevzyuk, S.A. Nedovesova, V.V. Turbinskij, A.S. Ogudov, S.B. Bortnikova, N.G. Nikiforova</b> ELEMENTAL COMPOSITION OF TISSUES AND TOXICOKINETICS OF ARSENIC AND ANTIMONY ON INTAKE IN MALE WHITE RATS OF THE WISTAR LINE WITH DRINKING WATER ..... 43
<b>□ Экологическая токсикология</b> <b>Н.Ю. Тропин, М.Я. Борисов, Е.В. Угрюмова, А.С. Комарова, Е.С. Иванова</b> СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЕЧНОГО ОКУНЯ ( <i>PERCA FLUVIATILIS</i> (L.)) КРУПНЫХ ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ ..... 53	<b>□ Ecotoxicology</b> <b>N.Yu. Tropin, M.Ya. Borisov, E.V. Ugryumova, A.S. Komarova, E.S. Ivanova</b> MERCURY CONTENT IN MUSCLE TISSUE OF PERCH ( <i>PERCA FLUVIATILIS</i> (L.)) IN LARGE RESERVOIRS OF THE VOLOGDA REGION ..... 53
<b>□ Некролог</b> ПАМЯТИ КРАСОВСКОГО ГУРИЯ НИКОЛАЕВИЧА..... 59	<b>□ Obituary</b> IN MEMORY OF KRASOVSKY GURI NIKOLAEVICH..... 59
<b>□ Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам ..... 60</b>	<b>□ New publications on Toxicology and related disciplines..... 60</b>

## Дорогие авторы и читатели журнала!

Мы продолжаем освещать свою работу в соответствии с Программой развития научного журнала «Токсикологический вестник» на 2018-2023 гг. Журнал входит в международные базы цитирования WoS CC; BIOSIS -Chemical Abstracts; EBSCO.

В настоящее время одна из задач, которая стоит перед коллективом редакции журнала «Токсикологический вестник» – включение журнала в международную базу данных Scopus, что позволит:

- повысить «видимость» публикаций;
- получить доступ к глобальному сообществу исследователей и экспертов (для программ рецензирования);
- отслеживать результативность публикаций; конкурентные издания;
- привлечь к публикации большее количество авторов.

С 2014 по 2018 года журнал уже провел большую работу по соответствию требованиям Scopus. «Токсикологический вестник» содержит рецензируемый контент (описание процесса рецензирования размещено в открытом доступе); регулярно публикуется и имеет номер ISSN, зарегистрированный в Международном центре ISSN (ISSN International Centre). Контент журнала соответствует критериям по актуальности и доступности для международной аудитории, то есть имеет ссылки в латинской транскрипции, аннотации и названия статей на английском языке

В открытом доступе размещены заявления об издательской этике и недобросовестной издательской практике.

В 2018 году произошла смена главного редактора журнала, к деятельности которого Scopus предъявляет следующие требования:

- наличие экспертизы и опыта в научной области соответствующей журналу;
- наличие публикаций нескольких статей в соответствующей журналу научной области;
- наличие рецензий в международных рецензируемых журналах;
- наличие научной степени и опыта работы в научной должности с аналогичным опытом в исследовательской деятельности;
- наличие таких личностных качеств необходимых для выполнения обязанностей редактора как энтузиазм и понимание реального объема работы.

Также в 2018 году произошли изменения и в составе редколлегии, к деятельности которой Scopus предъявляет следующие требования:

- предоставление экспертизы в соответствующей области;
- проведение экспертной оценки предоставленных рукописей;
- консультирование по вопросам журнальной политики и содержанию журнала;
- работа с редактором над развитием журнала;
- определение темы специальных выпусков журнала или рекомендация конференции для продвижения журнала (а также оказание помощи в организации конференций);
- привлечение новых и опытных авторов, а также содействие увеличению количества присылаемых статей;
- предоставление членами редколлегии своих работ для публикации в журнале, при условии соблюдения требований «Положения о конфликте интересов»;
- взаимодействие между членами редколлегии на регулярной основе.

В то же время с целью включения в Scopus планируется выполнить следующие мероприятия в 2019 году:

-осуществить предварительную оценку готовности журнала международными экспертами для индексации в Scopus с целью повышения шансов журнала на включение в БД Scopus и исключения периода эмбарго на следующую подачу;

-заключить договор с Crossref на использование индекса DOI с целью самостоятельного формирования идентификаторов и загрузки их и метаданных статей в систему Crossref, что позволит сделать статьи журнала легкодоступными для поиска, а также корректно фиксировать все ссылки на статьи журнала.

*Главный редактор Х.Х. Хамидулина*

УДК 615.9 : 614

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ КАЧЕСТВА В ЦЕЛЯХ ОЦЕНКИ ОКАЗАНИЯ ПОМОЩИ ПО ПРОФИЛЮ «ТОКСИКОЛОГИЯ»

Ю.Н. Остапенко<sup>1</sup>, Б.Б. Яцинюк<sup>2</sup>, С.А. Васильев<sup>3</sup>,  
А.М. Лаптев<sup>2</sup>, П.П. Гавриков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НПТЦ ФМБА России. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-практический токсикологический центр федерального медико-биологического агентства» России, 129090, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия». Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия». 628011, г. Ханты-Мансийск, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**В** соответствии с федеральными и ведомственными документами дана совокупность характеристик, отражающих своевременность оказания медицинской, в том числе токсикологической помощи и степень достижения запланированного результата, представлена организация и необходимость проведения ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности, которая складывается из документарных и целевых проверок. Эксперты, оценивающие качество оказания помощи по профилю «токсикология» (временную характеристику оказания медицинских услуг, проведение консультации специалистов, рубрификацию диагноза, своевременность оказания помощи, использование средств антидотной терапии и проведение химико-токсикологической диагностики) в экспертной оценке основываются на порядок, стандарты, протоколы, рекомендации и национальное руководство. Знания врачами различных специальностей критериев оказания помощи, оценки качества оказания медицинских услуг пациентам с острой химической травмой необходимы для повышения их компетенций и профилактики нежелательных осложнений.

**Ключевые слова:** токсикология, качество медицинской помощи.

**Введение.** Становление системы стандартизации в здравоохранении и отдельных сферах деятельности ведомства начиналось в 90-х годах прошлого столетия. Одним из первых документов в системе стандартизации являлся приказ N277 Минздрава РФ от 16.10.1992 г. «О создании системы медицинских стандартов (нормативов) по оказанию медицинской помощи населению РФ». Решением коллегий Минздрава РФ, Государственного комитета РФ по стандартизации, метрологии и сертификации, Совета исполнительных директоров территориальных фондов ОМС 03.12.1997 г. под N14/43/6-11 утвержден норматив-

ный документ «Об основных положениях стандартизации в здравоохранении». За основу классификации ГОСТ и ОСТ – нормативно-правовых документов, в соответствии с требованиями которых производится стандартизация производственных процессов и оказания услуг, используемых в настоящее время на территории РФ, взят универсальный классификатор, применяемый в отношении стандартов, установленных в СССР. В 1998 г. на основе реализации Программы работ по созданию и развитию системы стандартизации в здравоохранении (утвержден Госстандартом 25.04.1998 и Минздравом РФ 21.07.1998) Минздра-

**Остапенко Юрий Николаевич (Ostapenco Yuri Nikolayevich)**, к.м.н., ФГБУ НПТЦ ФМБА России, доцент, главный токсиколог Минздрава России, член Правления Всероссийской общественной организации токсикологов, член Европейской ассоциации токсикологических центров и клинических токсикологов, заслуженный врач РФ

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

**Васильев Сергей Анатольевич (Sergey Anatolyevich Vasil'ev)**, д.м.н., профессор кафедры токсикологии, экстремальной и водолазной медицины Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова

**Лаптев Алексей Михайлович (Lapteva Alexey Mikhailovich)**, ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии, скорой медицинской помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»

**Гавриков Павел Павлович (Gavrikov Pavel Pavlovich)**, ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии, скорой медицинской помощи и клинической токсикологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»

вом РФ от 04.06.2001 г. был издан приказ N181 «О введении в работу отраслевого стандарта «Система стандартизации в здравоохранении. Основные положения» (ОСТ 91500.01.0007-2001), который наряду с другими документами ведомства способствовал дальнейшему совершенствованию охраны здоровья населения (обеспечение качества и безопасности медицинской помощи).

Оценка ведомственного контроля качества оказания помощи по различным профилям медицинских специальностей проводится в соответствии с частью 2 статьи 89 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в РФ» [1] и подпунктом 5.2.205 Положения о Министерстве здравоохранения РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 19 июня 2012 г. N608 [2]. В части 21 статьи 2 N 323-ФЗ (ред. от 07.03.2018) дано определение понятия качество медицинской помощи, которое предполагает – совокупность характеристик, отражающих своевременность оказания медицинской помощи, правильность выбора методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации при оказании медицинской помощи, степень достижения запланированного результата. Также качество медицинской помощи отражено в статье 4. части 6 – доступность и качество медицинской помощи и статье 10; части 2, подпункт 20 статьи 14 – создание условий для организации проведения независимой оценки качества оказания услуг медицинскими организациями.

В приказе Минздрава РФ от 21 декабря 2012 г. N1340н «Об утверждении порядка организации и проведения ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности» [3] имеются определения понятий: документарная проверка – проверка, проводимая путем анализа документов, представленными подведомственными медицинскими организациями; целевая проверка – проверка, проводимая в рамках рассмотрения конкретного случая оказания (неоказания) гражданину медицинской помощи, обращения, жалобы, факта деятельности медицинской организации. Критерии качества, согласно пункта I подпункта 1.2 приказа Минздрава РФ от 10 мая 2017 г. N203н «Об утверждении критериев качества медицинской помощи» [4] применяются в целях оценки своевременности оказания медицинской помощи, правильности выбора методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации, степени достижения запланированного результата. Критерии качества применяются (пункт 1 подпункт 1.3) по группам заболеваний (состояний) и по условиям оказания медицинской помощи (в амбулаторных условиях, в условиях дневного стационара и стационарных условиях).

Согласно части 4 ст. 10 (323-ФЗ), медицинская помощь обеспечивается применением порядков

оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи. Оказание токсикологической помощи по профилю токсикология обеспечивается Порядком оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями, приказ Минздрава РФ от 15 ноября 2012 г. N925н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями» [5]. Таким образом, начиная с 2012 года, знание контроля качества и критериев оказания медицинской помощи является составляющим функциональных обязанностей всех специалистов ведомства, а получение знаний о критериях качества должно быть неотъемлемым звеном в реализации федеральных государственных образовательных стандартов по всем направлениям подготовки медицинских специальностей, основных профессиональных образовательных программ, программ дополнительного профессионального образования, разрабатываемых образовательными организациями. *Целью исследования* является анализ нормативных документов, регламентирующих оценку качества оказания помощи (задачи и регламент контроля), критериев качества (оценка помощи, выбора методов диагностики, лечения, степени достижения запланированного результата) по профилю «токсикология».

**Материалы и методы исследования.** Нормативные федеральные и ведомственные документы, регламентирующие оценку качества оказания помощи по профилю «токсикология».

**Результаты и обсуждение.** Необходимо отметить, что анализ нормативных документов, позволяющих оценить качество оказания помощи пациенту, проведенный в данной статье, необходим для специалистов, оказывающих медицинские услуги пациентам с острой химической травмой и направлен на повышение их компетенций: знания нормативных документов, регламентирующих оказание помощи по профилю «токсикология»; соблюдения в рамках должностных обязанностей специалиста качественных показателей оказания медицинской помощи в соответствии с порядком, стандартами, федеральными клиническими рекомендациями (ФКР) и национальным руководством [6].

21 ноября 2011 г. был принят Федеральный закон N323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», определяющий оказание медицинской помощи в соответствии с порядками и стандартами (часть 1 статья 37). В последующем письме Минздрава РФ от 30 апреля 2013 г. N13-2/10/2-3113 «О применении стандартов и порядков оказания медицинской помощи» [7] давалось разъяснение, что с учетом территориальных особенностей, нормативными правовыми актами субъекта РФ могут быть установлены этапы (уровни) оказания медицинской помощи по стан-

дарту. При применении стандартов следует также учитывать виды, условия и формы оказания медицинской помощи в медицинской организации соответствующего типа и уровня.

Порядком, регламентирующим оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями, является приказ Минздрава РФ N 925н, который устанавливает правила оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями (пункт 1 приказа), ее вид, условия, форму, место оказания (пункт 2,3,4), специальность, оказывающую помощь (пункт 7,16), участие врача-токсиколога (пункт 15,17), проведение химико-токсикологических исследований (Приложение N1 к приказу, пункт 5,17). Порядком оказания скорой, в том числе, скорой специализированной медицинской помощи, утвержденным приказом Минздрава РФ от 20.07.2013 г. N388н (N33н от 22 января 2016 г. «О внесении изменений в Порядок оказания скорой, в том числе скорой специализированной, медицинской помощи, утвержденный приказом Минздрава РФ от 20 июня 2013 г. N 388н») установлены правила оказания скорой медицинской помощи в соответствии со стандартами.

Возвращаясь к части 4 ст. 10 323-ФЗ, регламентирующего применение стандартов медицинской помощи, и приказу Минздрава РФ N 1340н пункт 4 подпункт 1, необходимо отметить, что при оценке качества оказания помощи по профилю «токсикология» на этапе скорой медицинской помощи используются стандарты: приказ Минздрава РФ от 24.12.2012 г. N 1448н – Стандарт скорой медицинской помощи при отравлении веществами нейротропного действия (рубрификация по МКБ-10 T41,42,43,44); Стандарт скорой медицинской помощи при отравлении наркотическими веществами (рубрификация T40); Стандарт скорой медицинской помощи при отравлении разъедающими веществами (рубрификация T54,55); приказ Минздрава РФ от 24.12.2012 г. N 1375н – Стандарт скорой медицинской помощи при отравлениях лекарственными средствами, медикаментами, биологическими веществами, токсическом действии веществ преимущественно немедицинского назначения (рубрификация T36-39, T45-50, T56,57, T60-65).

Частью 2 ст. 76 323-ФЗ предусмотрено – «...Медицинские профессиональные некоммерческие организации разрабатывают, в том числе, с учетом результатов клинической апробации, и утверждают клинические рекомендации (протоколы лечения) по вопросам оказания медицинской помощи». Также, одним из нормативных документов, регламентирующих использование клинических рекомендаций (протоколов лечения), является приказ Федерального фонда обязательного медицинского страхования от 01.12.2010

N230 (ред. от 22.02.2017) «Об утверждении Порядка организации и проведения контроля объемов, сроков, качества и условий предоставления медицинской помощи по обязательному медицинскому страхованию», [8] в разделе 5 которого – Экспертиза качества медицинской помощи, пункте 21. отмечено, что «...экспертиза качества медицинской помощи проводится путем проверки соответствия предоставленной застрахованному лицу медицинской помощи, договора на оказание и оплату медицинской помощи по обязательному медицинскому страхованию, порядкам оказания медицинской помощи и стандартам медицинской помощи, клиническим рекомендациям (протоколам лечения) по вопросам оказания медицинской помощи, сложившейся клинической практике.

В соответствии с данными документами Межрегиональной благотворительной общественной организацией «Ассоциация клинических токсикологов» в 2013-2014 гг., были разработаны и утверждены ФКР (переутверждены 2018 г.): 2013 г. – «Токсическое действие алкоголя»; «Отравление кокаином, и психостимулирующими средствами, вызывающими зависимость»; «Отравление наркотиками и психодислептиками»; «Отравление психотропными средствами не классифицируемое в других рубриках»; «Токсическое действие метанола и гликолей»; «Токсическое действие окиси углерода» [9 – 14]; 2014 г. – «Отравление препаратами, действующими преимущественно на сердечно-сосудистую систему»; «Токсическое действие разъедающих веществ», «Токсическое действие мыл и детергентов»; «Токсическое действие других ядовитых веществ, содержащихся в съеденных грибах»; «Отравление противосудорожными, седативными, снотворными и противопаркинсоническими средствами» [15-18]. Представленный материал в ФКР строго структурирован и отражает вопросы токсикодинамики, токсикокинетики, патогенеза, клинических проявлений, оказания помощи в зависимости от тяжести и диагностированных нарушений, имеет всю необходимую информацию для качественного оказания помощи (в зависимости от стадии отравления и степени тяжести) врачами токсикологами и специалистами, не имеющими сертификат по токсикологии. Дополнительными документами, используемыми при оценке качества, является письмо Федерального фонда обязательного медицинского страхования N8240/30-5/н от 31.12.2015 «О применении клинических рекомендаций в оценке качества медицинской помощи» [19] и письмо Федерального фонда обязательного медицинского страхования от 25.06.2015 N3994/30-5/и «О примерном порядке оценки обоснованности госпитализации...» [20].

Как показывают проводимые консультации с представителями администрации медицинских

организаций и врачами, немаловажным является вопрос определения отделения, в котором будет получать медицинскую помощь пациент токсикологического профиля, в зависимости от тяжести состояния. В соответствии с пунктом 4 приказа Минздрава РФ N925н медицинская помощь по направлению «токсикология» оказывается в форме: экстренной помощи – при острых химических отравлениях, представляющих угрозу жизни пациента с острыми химическими отравлениями; неотложной помощи – при острых химических отравлениях без явных признаков угрозы жизни пациента с острыми химическими отравлениями. Пункт 12 настоящего приказа предусматривает оказание помощи пациентам в зависимости от тяжести состояния при отсутствии в медицинской организации центра (отделения) острых отравлений и имеющей в своем составе отделение (палату, блок) реанимации и интенсивной терапии, оказание медицинской помощи пациентам с острыми химическими отравлениями тяжелой степени осуществляется в отделении (палате, блоке) реанимации и интенсивной терапии, а для пациентов с острыми химическими отравлениями средней тяжести и для пациентов, переводимых из отделения (палаты, блока) реанимации и интенсивной терапии, – в терапевтических отделениях медицинской организации.

Выполнение консультативной помощи пострадавшим, поступившим в медицинскую организацию, проводится в соответствии с приказом Минздрава РФ N203н осмотр (консультация) врача-токсиколога (анестезиолога-реаниматолога) проводится не позднее 15 мин от момента поступления в стационар при токсическом действии алкоголя (подпункт 3.18.6 приказа); не позднее 10 мин при отравлениях противосудорожными, седативными, снотворными и противопаркинсоническими средствами и отравлениях психотропными средствами, не классифицированных в других рубриках; (подпункт 3.18.10); токсическом действии окиси углерода (подпункт 3.18.11); при отравлении наркотиками и психодислептиками [галлюциногенами] (подпункт 3.18.12) [4]. Проведение консультаций с врачом-токсикологом пациенту токсикологического профиля отражено в приказе Минздрава РФ N925н – пункт 15,17 и приложение N1, пункт 17, а пунктом 16 предусмотрено привлечение специалистов по специальностям, при наличии медицинских показаний для лечения пациента с острым химическим отравлением.

Рубрификация диагноза по направлению «токсикология» проводится по МКБ-10, код Т (острое отравление – Т 36-50 и токсическое воздействие – Т 51-65), а оценка тяжести острой химической травмы в соответствии с данными представленными в ФКР [9-18] и национальном руководстве [6]. Одним из удобных электронных ресурсов,

позволяющих специалистам правильно рубрифицировать острое отравление (токсическое действие), уточнить фармакологическую группу препарата, действующего вещества и торгового названия является электронный ресурс – регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента [21].

Проведение химико-токсикологического исследования у пациента с острой химической травмой отражено в приказе Минздрава РФ N925н (приложение N1, пункт 5) и приказе Минздрава РФ от 27 января 2006 г. N40 «Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ» [22]. Таким образом, по состоянию на декабрь 2018 года имеется необходимая база документов для специалистов медицинских организаций всех видов, условий и форм для качественного оказания помощи по профилю «токсикология».

11.03.2014 г. Минздрав России направил руководителям органов государственной власти письмо № 14-3/10/2-1528 «О направлении материалов по применению средств антидотной терапии при оказании скорой медицинской помощи», который длительно являлся основным документом, регламентирующим наличие комплекса препаратов специфической фармакотерапии. В 2016 г. Минздрав РФ издал приказ №36н «Об утверждении требований к комплектации лекарственными препаратами и медицинскими изделиями упаковок и наборов для оказания скорой медицинской помощи» (от 22.01.2016) определяющий, на сегодняшний день, линейку лекарственных препаратов антидотной терапии в медицинской организации.

Доступность и качество медицинской помощи (статья 10), оценка качества оказания медицинской помощи (статья 64, 89, 90) являются составляющими 323-ФЗ. В приказе Минздрава РФ N203н, разработанного на основе статьи 64 323-ФЗ, в пункте II подпункт 2.1. определены критерии качества, оцениваемые в амбулаторных условиях и анализируемые в ходе оценки качества – медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (ф. 025/у-87); подпункте 2.2. определены критерии качества, оцениваемые в стационарных условиях и анализируемые в ходе оценки качества – медицинская карта стационарного больного (ф. 003/у).

В приказе Минздрава РФ N203н в пункте III имеются критерии качества по группам заболеваний (состояний). В подпункте 3.18. критерии качества при травмах, отравлениях и некоторых других последствиях воздействия внешних причин имеются разделы, используемые по профилю «токсикология»: 3.18.6. критерии качества специализированной медицинской помощи взрослым

и детям при токсическом действии алкоголя (код по МКБ-10: T51); 3.18.10. критерии качества специализированной медицинской помощи взрослым и детям при отравлениях противосудорожными, седативными, снотворными и противопаркинсоническими средствами и отравлениях психотропными средствами, не классифицированных в других рубриках (коды по МКБ-10: T42; T43); 3.18.11. Критерии качества специализированной медицинской помощи взрослым и детям при токсическом действии окиси углерода (код по МКБ-10: T58); 3.18.12. критерии качества специализированной медицинской помощи взрослым и детям при отравлении наркотиками и психодислептиками [галлюциногенами] (код по МКБ-10: T40), позволяющие оценить качество оказываемой помощи.

В пункте 3 приказа Минздрава РФ N1340н, определены задачи ведомственного контроля: 1) предупреждение, выявление и пресечение нарушений требований к обеспечению качества и безопасности медицинской деятельности, установленных законодательством РФ об охране здоровья граждан; 2) принятие мер по пресечению и (или) устранению последствий и причин нарушений, выявленных в рамках государственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности; 3) обеспечение качества медицинской помощи, оказываемой в медицинских организациях, подведомственных органам исполнительной власти; 4) определение показателей качества деятельности подведомственных органов и организаций; 5) соблюдение объемов, сроков и условий оказания медицинской помощи в медицинских организациях, подведомственных органам исполнительной власти; 6) создание системы оценки деятельности медицинских работников, участвующих в оказании медицинских услуг. Регламент проведения проверок включает: 1) соблюдение медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи; 2) соблюдение медицинскими организациями безопасных условий труда, требований по безопасному применению и эксплуатации медицинских изделий и их утилизации (уничтожению); 3) соблюдение медицинскими работниками, руководителями медицинских организаций, фармацевтическими работниками и руководителями аптечных организаций ограничений, применяемых к ним при осуществлении

профессиональной деятельности. При проверке соблюдения медицинскими организациями порядков оказания медицинской помощи оцениваются: 1) соблюдение выполнения этапов, условий и сроков оказания медицинской помощи по соответствующему виду, профилю заболеваний или состояний; 2) соответствие организации деятельности медицинской организации, ее структурного подразделения, врача требованиям положений, регламентированных порядками оказания медицинской помощи; 3) соблюдение требований стандартов оснащения медицинской организации, ее структурных подразделений; 4) соответствие штатного расписания рекомендуемым штатным нормативам; 5) соответствие деятельности организации иным установленным положениям, исходя из особенностей оказания медицинской помощи. При проверке соблюдения медицинскими организациями стандартов медицинской помощи оцениваются: 1) соблюдение выполнения медицинских услуг, обоснованность назначения медицинских услуг; 2) обоснованность и полнота назначения лекарственных препаратов, компонентов крови.

**Заключение.** Проведенный анализ законодательных документов, используемых при оценке качества оказания помощи по профилю «токсикология», дает представление специалистам разного уровня и профиля, руководителям медицинских организаций о необходимости точного соблюдения порядков, стандартов, ФКР и национального руководства для качественного оказания медицинской помощи, выполнения ими своих функциональных обязанностей. На специалистов-экспертов по профилям специальностей возлагается дополнительный объем работы и ответственность по анализу документов, предоставляемых медицинскими организациями. Требуется четкое обоснование результатов ведомственной проверки качества медицинской помощи, оценки условий и форм оказания медицинской помощи в медицинской организации соответствующего типа и уровня, выполнения специалистами объема медицинских услуг в соответствии со степенью тяжести пациента, консультативной помощи, обоснованности назначения лекарственных препаратов и их наличие в медицинской организации, оценки иных положений, исходя из особенностей заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федеральный закон от 21.11.2011 N323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (ред. от 07.03.2018)
2. Положение о Минздраве РФ, утвержденное постановлением Правительства РФ от 19 июня 2012 г. N608
3. Приказ Минздрава РФ от 21 декабря 2012 г. N 1340н «Об утверждении порядка организации и проведения ведомственного контроля качества и безопасности медицинской деятельности»
4. Приказ Минздрава РФ от 10.05.2017 N203н «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи»
5. Приказ Минздрава РФ от 15.11.2012 N925н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями»
6. Лужников Е.А., ред. Медицинская токсикология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 20–928 с.
7. Письмо Минздрава РФ от 30.04.2013г. N13-2/10/2-3113 «О применении стандартов и порядков оказания медицинской помощи»
8. Приказ Федерального фонда обязательного медицинского страхования от 01.12.2010 N230 (ред. от 22.02.2017) «Об утверждении Порядка организации и проведения контроля объемов, сроков, качества и условий предоставления медицинской помощи по обязательному медицинскому страхованию»
9. Сабаев А.В., Ливанов А.С., Бонитенко Е.Ю. Токсическое действие алкоголя: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–50 с.
10. Ильяшенко К.К., Брусин К.М., Ермохина

Т.В. Отравление кокаином и психостимулирующими средствами, вызывающими зависимость: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–50 с.

11. Ильяшенко К.К., Бочков И.В., Емцов В.И. Отравление наркотиками и психодислептиками: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–40 с.

12. Ливанов Г.А., Васильев С.А., Батоцыренов Б.В. Отравление психотропными средствами не классифицируемое в других рубриках: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–38 с.

13. Сивораक्षा Г.В., Бонитенко Е.Ю., Ливанов А.С. Токсическое действие метанола и гликолей: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических

токсикологов. М.; 20–38 с.

14. Зобнин Ю.В., Леженина Н.Ф., Суходолова Г.Н. Токсическое действие окиси углерода: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–39 с.

15. Сенцов В.Г., Яцинюк Б.Б., Афанасьев В.В. Отравление препаратами, действующими преимущественно на сердечно-сосудистую систему: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–77 с.

16. Прохоровская А.Г., Кувакова Р.И., Мокрушин А.В. Токсическое действие разбавляющих веществ, Токсическое действие мыл и детергентов: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–42 с.

17. Мусселиус С.Г., Рык А.А., Леженина Н.Ф. Токсическое действие других ядовитых

веществ, содержащихся в съеденных грибах: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М. 20–37 с.

18. Брусин К.М., Ильяшенко К.К., Ермохина Т.В. Отравление противосудорожными, седативными, снотворными и противопаркинсоническими средствами: Федеральные клинические рекомендации. Ассоциация клинических токсикологов. М.; 20–45 с.

19. Письмо Федерального фонда обязательного медицинского страхования №8240/30-5/н от 31.12.2015 «О применении клинических рекомендаций в оценке качества медицинской помощи»

20. Письмо Федерального фонда обязательного медицинского страхования от 25.06.2015 N3994/30-5/н «О примерном порядке оценки обоснованности госпитализации и по использованию института

представителей страховых медицинских организаций в медицинских организациях, а также дополнительные материалы для практического использования Методических указаний по проведению социологических опросов (анкетирования) застрахованных лиц в сфере обязательного медицинского страхования, утвержденных приказом ФФОМС от 11.06.2015 N103».

21. «Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента». Available at: <https://www.rlsnet.ru>

22. Приказ Минздрава РФ от 27 января 2006 г. N40 «Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ»

## REFERENCES:

1. Federal act from 21.11.2011 № 323 «About bases of citizens' healthprotection in Russian Federation» (as revised in 07.03.2018) (in Russian).
2. Regulation about Ministry of health, adopted by government decree from 19.06.2012 № 608 (in Russian).
3. Order of Ministry of health from 21.12.2012 №1340n «About approved arrangement of organization and holding of administrative monitoring of quality and safety health activity» (in Russian).
4. Order of Ministry of health from 10.05.2017№203n «About approved criteria of quality assessment of medical assistance» (in Russian).
5. Order of Ministry of health from 15.11.2012№925n «About approved arrangement of medical assistance of ill persons with sharp chemical toxication» (in Russian).
6. E.A. Lugnikov, as revised in Medical toxicology: National governance. Moscow. GEOTAR-Media; 2014 – page 928 (in Russian).
7. Letter of Ministry of health from 30.04.2013№13-2/10/2-3113 «About usage of medical assistances standards and arrangements» (in Russian).
8. Order of Federal Compulsory Medical Insurance Fund from 01.12.2010№230 as revised in 22.02.2017 «About approved arrangement of organization and holding of monitoring amount, terms, qualities of medical assistance with the usage of medical insurance» (in Russian).
9. Sabaev A.V., Livanov A.S., Bonitenko E.Y. Alcohol toxic effect: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 50 (in Russian).
10. Ilyashenko K.K., Brusin K.M., Ermokhina T.V. Intoxication caused by cocaine and psychostimulant addicted drugs: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 50 (in Russian).
11. Ilyashenko K.K., Bochkov I.V., Emtsov V.I. Intoxication by narcotics and psychodelic drugs: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 40 (in Russian).
12. Livanov G.A., Vasilyev S.A., Batotsyrenov B.V. Intoxication by psychopharmaceuticals which are not classified in other sections: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 38 (in Russian).
13. Sivoraksha G.V., Bonitenko E.U., Livanov A.S. Toxic effect of methanol and glycol alcohol: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 38 (in Russian).
14. Zobnin Y.V., Lezhennina N.F., Sukhodolova G.N. Carbonic oxide toxic effect: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 39 (in Russian).
15. Sentsov V.G., Yatsinyuk B.B., Afanasyev V.V. Intoxication by medications which effect on cardiovascular system: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 77 (in Russian).
16. Prokhorovskaya A.G., Kuvakova R.I., Mokrushin A.V. The corrosive toxic effect, toxic effect of soaps and detergents: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 42 (in Russian).
17. Musselius S.G., Ryk A.A., Lezhennina N.F. Toxic effect of others toxicant substances containing in eaten mushrooms: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 37 (in Russian).
18. Brusin K.M., Ilyashenko K.K., Ermokhina T.V. Intoxication by anticonvulsant, sedative, hypnagogue and antiparkinsonian medications: Federal clinical guidelines. Clinicaltoxicologist association. Moscow; 2013 – page 45 (in Russian).
19. Letter of Federal Compulsory Medical Insurance Fund №8240/30-5/n from 31.12.2015 «About usage of clinical guidelines in quality control of medical assistance» (in Russian).
20. Letter of Federal Compulsory Medical Insurance Fund from 25.06.2015№3994/30-5/1 «About illustrative arrangement of hospitalization assessment and about usage of institution of representatives medical insurance organization in medical organizations, also supplemental materials for common use of practical policies for survey questionnaire of the insured in compulsory health insurance sphere, approved by order Federal Compulsory Medical Insurance Fund from 11.06.2015 № 103 (in Russian).
21. Russian medicinal preparation register. Encyclopedia of medication and pharmacy staff. Available at: <https://www.rlsnet.ru>
22. Order of Ministry of health from 27.01.2006№40 «About organization of carrying of chemical-toxicological research of analytic diagnoses of existence alcohol, narcotic drugs and psychotropic substances and other toxic stuffs in a human body (in Russian).

Yu.N. Ostapenko<sup>1</sup>, B.B. Yatsinyuk<sup>2</sup>, S.A. Vasil'ev<sup>3</sup>, A.M. Laptev<sup>2</sup>, P.P. Gavrikov<sup>2</sup>

## USE OF QUALITY CRITERIA IN ORDER TO ASSESS THE MEDICAL CARE IN «TOXICOLOGY»

<sup>1</sup>Scientific and Practical Toxicological Center of Federal Medical and Biological Agency, 129090, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Khanty-Mansiysk State Medical Academy, 628011, Khanty-Mansiysk, Russian Federation

<sup>3</sup>I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 191015, Saint Petersburg, Russian Federation

In accordance with Federal and Departmental documents, a set of characteristics reflecting the timeliness of medical care including toxicological care and the degree of achievement of the planned result is given, the organization and the need for departmental control of quality and safety of medical activities, which consists of documentary and targeted audits, are presented.

Experts assessing the quality of care in toxicology (time characteristic of the provision of medical services, consultation with specialists, classification of the diagnosis, timeliness of care, use of antidote therapy and chemical toxicological diagnostics) rely on the procedure, standards, protocols, recommendations and national guidance. The knowledge by doctors of various specialties of the criteria for providing assistance assessing the quality of the provision of medical services to patients with acute chemical trauma are necessary to improve their competencies and prevent unwanted complications.

**Keywords:** toxicology, quality of medical care.

Материал поступил в редакцию 22.02.2019 г.



УДК 57.021 : 574.24 : 577.1

# МОДЕЛИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОГЕННЫХ НЕЙРОТОКСИНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

О.И. Куликова<sup>1,2</sup>, Т.Н. Федорова<sup>2</sup>,  
В.С. Орлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр неврологии», 125367, г. Москва, Российская Федерация

**В** последние годы наблюдается увеличение распространенности нейродегенеративных заболеваний, одним из которых является болезнь Паркинсона (БП), характеризующаяся прогрессирующей дегенерацией дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции головного мозга и приводящая к инвалидизации больных и большим финансовым затратам на их лечение и реабилитацию. В связи с этим понимание экологических факторов, вызывающих данное заболевание, разработка адекватных экспериментальных моделей для изучения патогенеза и поиска стратегий предотвращения его развития, а также возможных нейропротекторных препаратов имеет фундаментальную научную значимость. Хотя некоторые исследователи считают, что основными факторами развития БП являются генетические мутации и старение популяции, множество исследований доказывает, что БП может быть вызвана воздействием ряда токсических веществ, попадающих в организм из окружающей среды. В данном обзоре будут рассмотрены основные экзогенные нейротоксины, вызывающие развитие БП и в связи с этим используемые для моделирования данного заболевания на животных и клеточных культурах, а также механизмы их действия, преимущества и недостатки конкретных моделей.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, нейротоксины, пестициды, моделирование, окислительный стресс, экологические факторы.

**Введение.** Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное двигательное расстройство, характеризующееся необратимой и избирательной утратой дофаминергических нейронов [1]. БП относится к социально значимым заболеваниям. Это объясняется его широким распространением и значительными финансовыми затратами на лечение и реабилитацию больных. Несмотря на десятилетия исследований, БП остается неизлечимым заболеванием. Фармакологическое лечение БП сфокусировано на заместительной терапии, восстанавливающей уровень дофамина [2].

В 1817 году английский врач Джеймс Паркинсон впервые подробно описал симптомы БП в своей работе «Эссе о дрожащем параличе». Это событие коррелирует с началом промышленной и химической революции в Европе в конце 18-го и начале 19-го веков. Хотя многие симптомы БП были описаны и опубликованы до публикации Паркинсона, они не выделялись в отдельное заболевание. В связи с этим существует гипотеза о том, что распространенность БП до начала XIX

века была крайне низкой и резкое увеличение случаев БП произошло параллельно с промышленной революцией [3]. Существует большое количество эпидемиологических и экспериментальных исследований, доказывающих взаимосвязь заболеваемости БП с воздействием экотоксикантов. Кроме того, показана связь между повышенным риском БП и другими факторами окружающей среды, включая употребление колодезной питьевой воды, проживание в сельской местности, ведение сельского хозяйства, некоторые виды диет и воздействие сельскохозяйственных химикатов [4–6].

Однако некоторые исследователи связывают увеличение заболеваемости БП с увеличением продолжительности жизни и старением популяции [7]. Процесс старения связан с нарушением антиоксидантной системы организма и митохондриальной дисфункцией клеток [8]. Известно, что в большинстве случаев дебют спорадической формы БП наблюдается в возрасте 50-60 лет. Логично, что увеличение ожидаемой продолжительности жизни приведет к увеличению забо-

Куликова Ольга Игоревна (Kulikova Olga Igorevna), аспирант кафедры системной экологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; младший научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной нейробиологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», posibilidad@mail.ru

Федорова Татьяна Николаевна (Fedorova Tatiana Nikolaevna), доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией клинической и экспериментальной нейробиологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», tnf51@bk.ru

Орлова Валентина Сергеевна (Orlova Valentina Sergeevna), доктор биологических наук, профессор кафедры системной экологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», bte2005@mail.ru

леваемости и распространенности БП. Однако в связи с тем, что критерии клинической диагностики БП появились лишь в конце 1980-х годов и до этого времени неврологами не осознавалось четкое различие между БП и другими нозологическими формами паркинсонизма [9], четко отследить взаимосвязь ожидаемой продолжительности жизни и заболеваемостью БП не представляется возможным. В среднем, за последние 40 лет уровень заболеваемости БП остается более или менее постоянным [10].

Наиболее вероятным представляется сочетанное влияние двух этих факторов – старения и воздействия экотоксикантов на увеличение заболеваемости БП.

Вероятность заболевания БП имеет четкую семейную наследственность и связана с мутациями по меньшей мере в 6 генах [11]. Идентификация генов, таких как SNCA или PARK1, кодирующих белок альфа-синуклеин (а-син), открыла ключи к молекулярным механизмам, вовлеченным в патогенез БП [12]. Тем не менее, 90% случаев БП являются спорадическими и не могут быть отнесены только к генетическим факторам, что предполагает, что БП имеет многофакторную этиологию [13].

Клинические особенности синдрома БП включают в себя двигательную дисфункцию, в том числе тремор в состоянии покоя, ригидность, акинезию (или брадикинезию) и постуральную нестабильность. Однако моторные симптомы начинают проявляться, когда погибает по меньшей мере 60% дофаминергических нейронов и на 80-85% снижается содержание дофамина в полосатом теле [14].

Хотя исследования по изучению БП быстро продвигаются вперед, задействованные патогенетические молекулярные механизмы все еще не ясны, и этиология данного заболевания сложна. Одним из ведущих факторов патогенеза при БП является окислительный стресс (ОС), который проявляется избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК) и снижением уровня эндогенной антиоксидантной системы защиты, прежде всего в дофамин-продуцирующих нейронах компактной части черной субстанции (ЧС) среднего мозга [15]. Существенным источником АФК является нарушение функциональной активности митохондрий [16]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что значительный вклад в потерю дофаминергических нейронов в мозге при БП вносят АФК, которые образуются при метаболизме дофамина, а также снижение уровня глутатиона и высокий уровень железа и кальция в ЧС [17]. Кроме того, мозг содержит высокие концентрации полиненасыщенных жирных кислот, которые в условиях ОС образуют перекиси липидов и токсичные продукты [18].

В дополнение к потере нейронов основным нейропатологическим признаком БП является присутствие в нейронах телец Леви, которые представляют собой эозинфильные цитоплазматические включения, содержащие агрегаты а-син [19].

#### МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Понять и изучить процесс нейродегенерации при БП помогают не только клинические, но и экспериментальные исследования. Экспериментальные модели БП, различаются по объектам и индукторам, запускающим процесс нейродегенерации.

##### *Генетические модели*

Идентификация генов, связанных с БП, послужила основой целенаправленных исследований молекулярных сигналов, вызывающих заболевание. Более того, изучение этих генов обеспечило рациональную основу для моделирования болезни на клетках или животных посредством генетических манипуляций. Объектом для генетических моделей чаще всего являются животные. Данные модели, имитирующие генетические изменения, наблюдаемые у пациентов с БП [20], были разработаны для таких организмов как грызуны, черви, дрозофилы и рыбы (*Danio rerio*) [21]. При этом используются такие методы как нокаут генов, чрезмерная экспрессия или экспрессия мутированных форм PARK-1 (т.е. а-син или его мутаций A53T, A30P и E46K) или нокдаун DJ-1, PINK или LRRK2 [21; 22] и другие. Тем не менее, большинство существующих генетических моделей не демонстрирует типичную дегенерацию дофаминергических нейронов в ЧС, что говорит о сложной и не до конца изученной генетической составляющей развития данного заболевания [21]. Кроме того, генетические мутации являются причиной менее 10% случаев БП и не могут объяснить многие клинические и патологические признаки, наблюдаемые у пациентов с идиопатической формой. Это доказывает важную роль других факторов в развитии БП, одним из которых является воздействие токсических веществ из окружающей среды.

##### *Модели с использованием нейротоксинов*

До настоящего времени общепринятыми и наиболее адекватными остаются модели с использованием нейротоксинов в качестве индукторов гибели дофаминергических нейронов. Используемые нейротоксины различаются по механизму действия и в связи с этим, выбор наиболее подходящего из них, а также адекватной клеточной культуры для экспериментов *in vitro*, вида и линии животных для экспериментов *in vivo*, является важной задачей при изучении БП.

Наиболее часто для моделирования БП используются следующие 4 нейротоксина: 6-гидроксидафамин, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетра-

гидропиридин, и пестициды ротенон и паракват.

1. 6-гидроксидофамин (6-ОНДА) – это нейротоксин, который широко используется для моделирования БП (рис. 1). Он имеет структурное сходство с дофамином и норадреналином, а также высокое сродство к транспортерам этих веществ в плазматической мембране, поэтому может проходить внутрь клетки дофаминергических и норадренергических нейронов и наносить им вред. Механизм токсического действия 6-ОНДА проявляется посредством совокупного влияния активных форм кислорода (АФК) и хинонов, в связи с тем, что в аэробных щелочных условиях, 6-ОНДА легко окисляется до перекиси водорода и пара-хинона (рис.2) [23].

6-ОНДА стал первым нейротоксином, использованным в качестве индуктора БП на животных [24]. В связи с тем, что 6-ОНДА практически не проходит через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ), его необходимо вводить непосредственно в мозг. При введении 6-ОНДА в медиальный пучок переднего мозга крысы он разрушает дофаминергические нейроны в компактной части ЧС с последующей потерей дофаминовых нервных терминалей в стриатуме [25]. Однако, эта модель не воспроизводит характерного формирования телец Леви и не демонстрирует прогрессирующие патологии.

2. 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МРТР) – это вещество, впервые синтезированное в 70-х годах 20 века в качестве побочного про-

дукта героина. Вследствие употребления данного вещества, у группы молодых лиц наблюдалось развитие паркинсонического синдрома. МРТР проникает в мозг через переносчик аминокислот и метаболизируется под действием монооксидазы-В в реакционноспособный токсичный радикал МРР<sup>+</sup> (1-метил-4-фенилпиридиний) (рис. 1) [23]. При попадании МРР<sup>+</sup> внутрь нейрональных тел и в митохондрии он затормаживает окислительное фосфорилирование посредством ингибирования комплекса I цепи переноса электронов (НАДФ-убихинон оксидоредуктазы I). Это ингибирование приводит к повышению уровня ионов кальция, образованию свободных радикалов и ингибированию выработки АТФ, что в конечном итоге ведет к гибели клетки [23]. Воздействие МРР<sup>+</sup> в первую очередь приводит к повреждению дофаминергических нейронов и тяжелому необратимому паркинсоническому синдрому. Он широко используется для моделирования БП *in vivo* на мышах и дает хорошие воспроизводимые результаты [26].

Модели, основанные на использовании этого вещества, были разработаны для понимания роли ингибирования митохондрий в развитии БП и проверки различных нейропротективных стратегий или для наблюдения последствий снижения содержания дофамина в различных областях мозга с изменением в связи с этим их функциональной активности [27]. Данная модель обладает двумя недостатками. Во-первых, МРТР индуцирует острую или подострую нейродегенерацию,

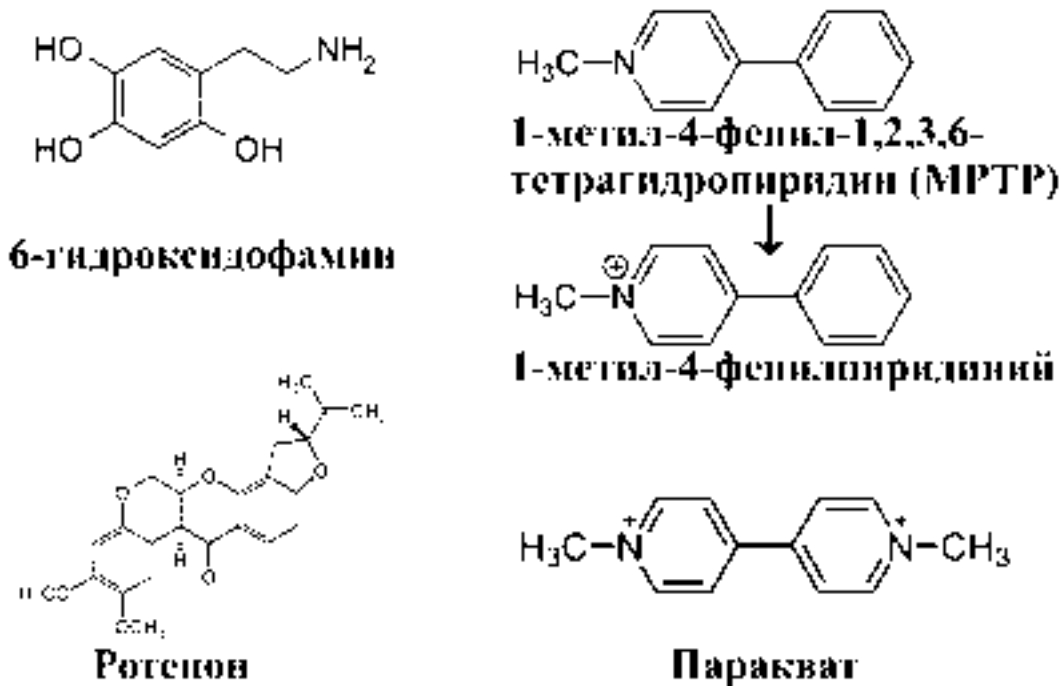


Рис. 1. Структурные формулы нейротоксинов 6-гидроксидофамин, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МРТР), 1-метил-4-фенилпиридиния (МРР<sup>+</sup>), ротенона и параквата.

отличающуюся от хронического нейродегенеративного процесса при БП, а во-вторых, так же, как и в случае с 6-ОНДА, не наблюдается образования телец Леви [28].

3. Ротенон – это цитотоксичное соединение, получаемое из корней некоторых бобовых. На рисунке 1 представлена его структурная формула. Он применяется в сельском хозяйстве в качестве пестицида и инсектицида. Ротенон, так же, как и МРТР ингибирует цепь переноса электронов в митохондриях, что приводит к гибели клетки. В связи с его токсичностью для всех систем органов, на животных моделях получаются довольно противоречивые результаты, но в моделях *in vitro* он является одним из самых часто используемых нейротоксинов [29].

Способы введения ротенона крысам и мышам включают прямую инфузию в ЧС, системное внутрибрюшинное или внутривенное введение [29], чтобы достичь более естественного способа воздействия нейротоксина, подобного поступлению из окружающей среды, используется пероральное, накожное или подкожное введение [30]. Системное хроническое введение (более 5 недель) ротенона вызывает специфическую дегенерацию дофаминергических нейронов с образованием включений  $\alpha$ -син [31]. Кроме того, высокие дозы ротенона приводят к дегенерации нейронов в области стриатума без нарушения ЧС, демонстрируя ту же картину дегенерации, что и при воздействии марганца и окиси углерода у приматов и людей [32]. Поскольку энтеральная нервная система и обонятельные луковицы головного мозга являются нервными структурами, наиболее подверженными воздействию поллютантов из окружающей среды, соединения, действующие локально на эти нервные структуры, вызывают появление БП-подобной патологии и ее прогрессирование в ЦНС через синаптически-связанные структуры [3]. Однако главным недостатком данной модели является то, что хроническое введение ротенона приводит к мультисистемным повреждениям, не характерным для БП [27].

4. Паракват ( $N,N'$ -диметил-4,4'-бипиридиний дихлорид, рис. 1) – это сильнодействующий неселективный гербицид, механизм токсичности которого опосредован через ОС, повышение со-

держания  $\alpha$ -син и образование телец Леви. Так как все эти процессы характерны для БП, паракват был одним из первых нейротоксинов, который начали использовать для моделирования БП [33]. Он обладает структурным сходством с МРТР (рис. 2), но при этом отличается по механизму действия. Он так же, как МРТР и ротенон ингибирует цепь переноса электронов в митохондриях, что приводит к развитию ОС и последующему поэтапному апоптозу дофаминергических нейронов [34]. Кроме того, паракват может индуцировать нейротоксический эффект через другие механизмы. Известно, что паракват-индуцированному снижению активности комплекса I митохондрий предшествует респираторная дисфункция в головном мозге. Воздействие параквата приводит к образованию АФК в комплексе III транспортной цепи переноса электронов, что было показано в модельной системе на *Drosophila* [35]. Паракват индуцирует продукцию оксида азота (NO) в головном мозге путем активации синтазы оксида азота и ингибирует антиоксидантную активность некоторых ферментов, что, в свою очередь, приводит к увеличению содержания активных форм кислорода и азота [36]. Лабораторные исследования на животных моделях БП показали, что паракват вызывает гибель дофаминергических нейронов в ЧС при хроническом воздействии низких доз [37].

#### Клеточные модели

Системы *in vitro* являются очень эффективными инструментами для скрининга и выявления потенциальных нейротоксических соединений среди множества химических веществ из окружающей среды, которым подвергаются люди. Они также представляют множество возможностей для исследования клеточных и молекулярных эффектов токсических веществ и поиска соединений, способных снизить их негативные эффекты. Например, на нейрональных клеточных культурах PC12 и SH-SY5Y было показано, что алюминий, медь и железо, а также некоторые пестициды инициируют структурную трансформацию и фибрилляцию  $\alpha$ -син [38]. Множество исследований показало, что ксенобиотики индуцируют ОС, так на первичной культуре гранулярных нейронов мозжечка грызунов бы-

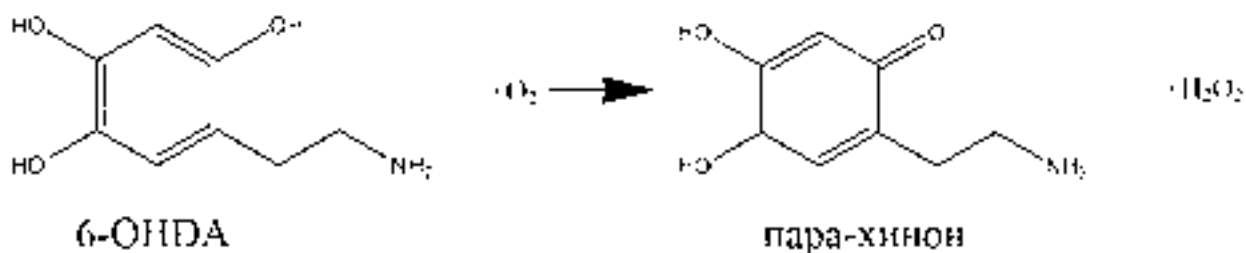


Рис. 2. Схема окисления 6-гидроксидофамина (6-ОНДА) до пара-хинона и перекиси водорода

ло показано развитие ОС вследствие воздействия многочисленных пестицидов и инсектицидов [39; 40], на клетках культуры нейробластомы человека SH-SY5Y вследствие воздействия тяжелых металлов [41], в первичных культурах мезенцефальных нейронов после воздействия фунгицида этилен-бис-дитиокарбамата [42].

В экспериментах *in vitro* также показано, что ксенобиотики вызывают глиальную реактивность, то есть разрастание клеток глии, что является решающим этапом воспалительного процесса в мозге. После субхронического воздействия соединений ртути на агрегированные культуры клеток головного мозга наблюдаются процессы микроглиоза и астроглиоза без каких-либо признаков повреждения нейронов [43].

Общий механизм действия нейротоксинов при моделировании БП

Одним из общих механизмов действия описанных нейротоксинов, является ингибирование НАДН-убихинон оксидоредуктазы I, также известной как комплекс I цепи переноса электронов митохондрий, и образование свободных радикалов, что приводит к развитию ОС в клетке. В то же время посмертное исследование нейронов ЧС больных со спорадической формой БП показало наличие митохондриальной дисфункции и ОС [44]. Кроме того, аналогичные изменения наблюдаются и в тромбоцитах больных БП [45].

Многие токсические вещества вызывают агрегацию и фибрилляцию  $\alpha$ -син. При этом интересно, что ротенон вызывает накопление и высвобождение  $\alpha$ -син из нейронов кишечника во внеклеточное пространство [3]. Desplat и соавторы показали, что  $\alpha$ -син транспортируется между клетками в совместной культуре от нейронов хозяина к привитым нейронам [46]. Таким образом, воздействие нейротоксинов индуцирует распространение и накопление  $\alpha$ -син в центральной нервной системе.

Наконец, экзогенные нейротоксины могут вызывать высвобождение провоспалительных сигналов. У пациентов с БП наблюдается усиление

воспалительных реакций с активацией микроглиальных и воспалительных цитокинов [47]. Воспалительный процесс может включать активацию иммунных клеток мозга (микроглии и астроцитов), которые выделяют воспалительные и нейротоксические факторы, что, в свою очередь, приводит к нейродегенерации [48]. Также способствовать возникновению воспалительной реакции может внеклеточный  $\alpha$ -син [49].

**Заключение.** Моделирование конкретных заболеваний необходимо для лучшего понимания их патогенеза и разработки новых терапевтических стратегий. Модель редко отображает все аспекты рассматриваемого заболевания, особенно это актуально, когда патофизиология и этиология заболевания до конца не ясны, как в случае с БП.

Экзогенные нейротоксины могут играть важную роль в появлении и прогрессировании патологии при БП, в особенности при идиопатической форме данного заболевания. Подтверждением может служить то, что в большинстве случаев снижения обоняния [50] (вследствие повреждения обонятельных луковиц, например, при ингаляционном воздействии нейротоксинов) и нарушение работы желудочно-кишечного тракта [51] (вследствие повреждения энтеральной нервной системы при пероральном поступлении нейротоксинов). В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что распространение и прогрессирование патологического процесса от наиболее уязвимых для нейротоксинов структур – обонятельных луковиц и энтеральной нервной системы, может происходить за счет высвобождения и трансклеточного переноса  $\alpha$ -син.

В связи с этим, использование экзогенных нейротоксинов в качестве индукторов нейродегенеративного процесса при моделировании БП представляется обоснованным. Данные модели способствуют выяснению механизмов гибели клеток, и как следствие, позволяют разрабатывать и тестировать нейропротекторные вещества.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иллариошкин С.Н. Современные представления об этиологии болезни Паркинсона. Неврологический журнал. 2015; 20 (4): 4-13.
- Ахметжанов В.К., Шашкин Ч.С., Джамангаева Б.Д. Болезнь Паркинсона. Патофизиология экстрапирамидной системы. Современные представления о причинах возникновения и патогенезе паркинсонизма. Нейрохирургия и неврология Казахстана. 2016; 43 (2): 44-51.
- Pan-Montojo F., Schwarz M., Winkler C., Arnold M., O'Sullivan G.A., Pal A., Said J. et al. Environmental toxins trigger PD-like progression via increased  $\alpha$ -synuclein release from enteric neurons in mice. Scientific Reports. 2012; 2. Article 898. DOI: 10.1038/srep00898.
- Gatto N.M., Cockburn M., Bronstein J., Manthripragada A.D., Ritz B. Well-water consumption and Parkinson's disease in rural California. Environmental Health Perspectives. 2009; (117): 1912-1918. DOI:10.1289/ehp.0900852
- Похабов Д.В., Абрамов В.Г., Нестерова Ю.В. Эпидемиология паркинсонизма в Красноярском крае. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2008; 2 (4) С. 4-9.
- Priyadarshi A., Khuder S.A., Schaub E.A., Priyadarshi S.S. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. Environmental Research. 2001; 86. (2): P. 122-127. DOI: 10.1006/enrs.2001.4264
- de Lau L.M., Breteler M.M. Epidemiology of Parkinson's disease. The Lancet Neurology. 2006; 5 (6): 525-535. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9
- Federico A., Cardaioli E., Da Pozzo P., Formichi P., Gallus G.N., Radi E. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. Journal of the Neurological Sciences. 2012; 322 (1-2): 254-262. DOI: 10.1016/j.jns.2012.05.030
- Раздорская В.В., Воскресенская О.Н., Юдина Г.К. Болезнь Паркинсона в России: распространенность и заболеваемость (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал. 2016; 12 (3) 379-384.
- Ascherio A., Schwarzschild M.A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. The Lancet Neurology. 2016; 15 (12): 1257-1272. DOI: 10.1016/S1474-4422(16)30230-7.
- Cookson M.R. Parkinsonism due to mutations in PINK1, parkin and DJ-1 and oxidative stress and mitochondrial pathways. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012; 2 (9). Article a009415. DOI: 10.1101/cshperspect.a009415
- Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2011; 5 (4): С. 46-51.
- Goldman S.M. Environmental Toxins and Parkinson's Disease. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2014; 54 (1): 141-164.

- 14. Wirdefeldt K., Adami H. O., Cole P., Trichopoulos D., Mandel J.** Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology*. 2011; 26 (Suppl 1): S1-S58.
- 15. Schiesling C., Kieper N., Seidel K., Krüger R.** Familial Parkinson's disease—genetics, clinical phenotype and neuropathology in relation to the common sporadic form of the disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2008; 34 (3): 255-271. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2008.00952.x.
- 16. Beal M.F.** Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annals of Neurology*. 1995; 38 (3): 357-366.
- 17. Jenner P., Olanow C.W.** The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Neurology*. 2006; 66 (10. Suppl 4): S24-S36.
- 18. Liu X., Yamada N., Maruyama W., Osawa T.** Formation of dopamine adducts derived from brain polyunsaturated fatty acids: mechanism for Parkinson's disease. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008; 283 (50): 34887-34895. DOI: 10.1074/jbc.M805682200.
- 19. Spillantini M.G., Goedert M.** Neurodegeneration and the ordered assembly of  $\alpha$ -synuclein. *Cell and Tissue Research*. 2018; 373 (1): 137-148. DOI: 10.1007/s00441-017-2706-2709.
- 20. Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрин М.И., Бальева Г.Х., Загоровская Т.Б., Маркова Е.Д. и др.** Гетерогенность спорадической болезни Паркинсона: молекулярный подход к решению проблемы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2007; 1 (1): 23-31.
- 21. Lee Y., Dawson V.L., Dawson T.M.** Animal models of Parkinson's disease: vertebrate genetics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012; 2 (10): Article a009324. DOI: 10.1101/cshperspect.a009324.
- 22. Kamp F., Exner N., Lutz A.K., Wender N., Hegemann J., Brunner B. et al.** Inhibition of mitochondrial fusion by alpha-synuclein is rescued by PINK1, Parkin and DJ-1. *The EMBO Journal*. 2010; 29 (20): 3571-3589. DOI: 10.1038/emboj.2010.223.
- 23. Bové J., Perier C.** Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2012; (211): 51-76. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.10.057.
- 24. Ungerstedt U., Arbutnot G.W.** Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Research*. 1970; 24 (3): 485-493.
- 25. Ungerstedt U., Ljungberg T., Steg G.** Behavioral, physiological, and neurochemical changes after 6-hydroxydopamine-induced degeneration of the nigro-striatal dopamine neurons. *Advances in neurology*. 1974; 5: 421-426.
- 26. Richardson J.R., Caudle W.M., Guillot T.S., Watson J.L., Nakamaru-Ogiso E., Seo B.B. et al.** Obligatory role for complex I inhibition in the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Toxicological Sciences*. 2007; 95 (1): 196-204. DOI: 10.1093/toxsci/kf1133
- 27. Hoegliger G.U., Feger J., Prigent A., Michel P.P., Parain K., Champy P. et al.** Chronic systemic complex I inhibition induces a hypokinetic multisystem degeneration in rats. *Journal of Neurochemistry*. 2003; 84 (3): 491-502.
- 28. Shimoji M., Zhang L., Mandir A.S., Dawson V.L., Dawson T.M.** Absence of inclusion body formation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 2005; 134 (1): 103-108. DOI: 10.1016/j.molbrainres.2005.01.012
- 29. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M., Seo B.B., Richardson J.R., Kim J.H. et al.** Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience*. 2003; 23 (34): 10756-10764.
- 30. Inden M., Kitamura Y., Takeuchi H., Yanagida T., Takata K., Kobayashi Y. et al.** Neurodegeneration of mouse nigrostriatal dopaminergic system induced by repeated oral administration of rotenone is prevented by 4-phenylbutyrate, a chemical chaperone. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 101 (6): 1491-1504. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04440.x
- 31. Betarbet R., Sherer T.B., MacKenzie G., Garcia-Osuna M., Panov A.V., Greenamyre J.T.** Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*. 2000; 3 (12): 1301-1306. DOI: 10.1038/81834
- 32. Ferrante R.J., Schulz J.B., Kowall N.W., Beal M.F.** Systemic administration of rotenone produces selective damage in the striatum and globus pallidus, but not in the substantia nigra. *Brain Research*. 1997; 753 (1): 157-162.
- 33. Day B.J., Patel M., Calavetta L., Chang L.Y., Stamler J.S.** A mechanism of paraquat toxicity involving nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1999; 96 (22): 12760-12765.
- 34. Fukushima T., Yamada K., Hojo N., Isoe A., Shiwaku K., Yamane Y.** Mechanism of cytotoxicity of paraquat III. The effects of acute paraquat exposure on the electron transport system in rat mitochondria. *Experimental and Toxicological Pathology*. 1994; 46 (6): 437-441. DOI: 10.1016/S0940-2993(11)80056-4
- 35. Hosamani R., Muralidhara.** Acute exposure of *Drosophila melanogaster* to paraquat causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2013; 83 (1): 25-40. DOI: 10.1002/arch.21094
- 36. Djukic M., Jovanovic M.C., Ninkovic M., Vasiljevic I., Jovanovic M.** The role of nitric oxide in paraquat-induced oxidative stress in rat striatum. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2007; 14 (2): 247-252.
- 37. Li X., Yin J., Cheng C.M., Sun J.L., Li Z., Wu Y.L.** Paraquat induces selective dopaminergic nigrostriatal degeneration in aging C57BL/6 mice. *Chinese Medical Journal*. 2005; 118 (16): 1357-1361.
- 38. Uversky V.N., Li J., Fink A.L.** Pesticides directly accelerate the rate of alphasynuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Letters*. 2001; 500 (3): 105-108.
- 39. Giordano G., Afsharinejad Z., Guizzetti M., Vitalone A., Kavanagh T.J., Costa L.G.** Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2007; 219 (2-3): 181-189. DOI: 10.1016/j.taap.2006.09.016
- 40. Лопачев А.В., Лопачева О.М., Абаймов Д.А., Королева О.В., Владыченская Е.А., Ерухимович А.А. и др.** Нейропротекторное действие карнозина на первичную культуру клеток мозжечка крысы в условиях окислительного стресса. *Биохимия*. 2016; 81 (5): 678-689.
- 41. Федорова Т.Н., Куликова О.И., Столинский С.Л., Орлова В.С.** Протекторное действие (S)-тролокс-карнозина на культуру клеток нейробластомы человека SH-SY5Y в условиях токсичности тяжелых металлов. *Нейрохимия*. 2016; 33 (1): 63-69. DOI: 10.7868/S1027813316010088
- 42. Domico L.M., Zeevalk G.D., Bernard L.P., Cooper K.R.** Acute neurotoxic effects of maneb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. *Neurotoxicology*. 2006; 27 (5): 816-825. DOI: 10.1016/j.neuro.2006.07.009
- 43. Monnet-Tschudi F., Zurich M.G., Honegger P.** Comparison of the developmental effects of two mercury compounds on glial cells and neurons in aggregate cultures of rat telencephalon. *Brain Reserch*. 1996; 741 (1-2): 52-59.
- 44. Kaidey A., Thomas N.** Current perspective of mitochondrial biology in Parkinson's disease. *Neurochemistry International*. 2018; 117: 91-113. DOI: 10.1016/j.neuint.2018.03.001
- 45. Haas R.H., Nasirian F., Nakano K., Ward D., Pay M., Hill R., Shults C.W.** Low platelet mitochondrial complex I and complex II/III activity in early untreated Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. 1995; 37 (6): 714-722. DOI: 10.1002/ana.410370604
- 46. Desplats P., Lee H.J., Bae E.J., Patrick C., Rockenstein E., Crews L. et al.** Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2009; 106 (31): 13010-13015. DOI: 10.1073/pnas.0903691106
- 47. Hirsch E.C., Vyas S., Hunot S.** Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2012; Suppl 1: S210-S212. DOI: 10.1016/S1353-8020(11)70065-7
- 48. Liu B., Hong J.S.** Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative diseases: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003; 304 (1): 1-7. DOI: 10.1124/jpet.102.035048
- 49. McGeer P.L., McGeer E.G.** The alpha-synuclein burden hypothesis of Parkinson disease and its relationship to Alzheimer disease. *Experimental Neurology*. 2008; 212 (2): 235-238. DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.04.008
- 50. Алексеева Н.С., Иллариошкин С.Н., Пономарева Т.А., Федотова Е.Ю., Иванова-Смоленская И.А.** Нарушения обоняния при болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2012; 1: 10-14.
- 51. Кострюкова Е.С., Алифирова В.М., Жукова Н.Г., Жукова И.А., Ижболдина О.П., Петров В.А. и др.** Обонятельная дисфункция и изменение микробиоты как ранние немоторные проявления болезни Паркинсона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (5): 66-74.

## REFERENCES:

- 1. Иллариошкин С.Н.** Modern view on etiology of Parkinson's disease. *Neurologicheskii zhurnal*. 2015; 20 (4): 4 - 13. (In Russian)
- 2. Akhmetzhanov V.K., Shashkin ChS, Dzhamaeva BD.** Parkinson's disease. Pathophysiology of extrapyramidal system. Modern concepts of the causes and pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurosurgery and Neurology of Kazakhstan*. 2016; 43 (2): 44 - 51. (In Russian)
- 3. Pan-Montojo F., Schwarz M., Winkler C., Arnold M., O'Sullivan G.A., Pal A., Said J, et al.** Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice. *Scientific Reports*. 2012; 2: 898. doi: 10.1038/srep00898
- 4. Gatto NM, Cockburn M, Bronstein J, Manthirapragada AD, Ritz B.** Well-water consumption and Parkinson's disease in rural California. *Environmental Health Perspectives*. 2009; 117 (12): 1912-8. doi: 10.1289/ehp.0900852.
- 5. Pokhobov D.V., Abramov V.G., Nesterova Yu.V.** Epidemiology of parkinsonism in the Krasnoyarsk region. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2008; 2 (4): 4-9. (In Russian)
- 6. Priyadarshi A., Khuder S.A., Schaub E.A., Priyadarshi S.S.** Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environmental Research*. 2001; 86 (2): 122-7. doi: 10.1006/enrs.2001.4264
- 7. de Lau L.M., Breteler M.M.** Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2006; 5 (6): 525 - 535. doi: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9
- 8. Federico A., Cardaioli E., Da Pozzo P., Formichi P., Gallus G.N., Radi E.** Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences*. 2012; 322 (1-2): 254 - 262. doi: 10.1016/j.jns.2012.05.030.
- 9. Razzorskaya V.V., Voskresenskaya O.N., Yudina G.K.** Parkinson's disease in Russia: prevalence and incidence (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2016; 12 (3): 379 - 384. (In Russian)
- 10. Ascherio A., Schwarzschild M.A.** The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *The Lancet Neurology*. 2016; 15 (12): 1257 - 1272. doi: 10.1016/S1474-4422(16)30230-7
- 11. Cookson M.R.** Parkinsonism due to mutations in PINK1, parkin and DJ-1 and oxidative stress and mitochondrial pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012; 2 (9): a009415. doi: 10.1101/cshperspect.a009415.
- 12. Pchelina S.N.** Alpha-synuclein as a biomarker of Parkinson's disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2011; 5 (4): 46 - 51. (In Russ)
- 13. Goldman S.M.** Environmental Toxins and Parkinson's Disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2014; 54: 141 - 64. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011613-135937.
- 14. Wirdefeldt K., Adami H.O., Cole P., Trichopoulos D., Mandel J.** Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology*. 2011; Suppl 1: S1-S58. doi: 10.1007/s10654-011-9581-6.
- 15. Schiesling C., Kieper N., Seidel K., Krüger R.** Familial Parkinson's disease—genetics, clinical phenotype and neuropathology in relation to the common sporadic form of the disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2008; 34 (3): 255 - 271. doi: 10.1111/j.1365-2990.2008.00952.x.
- 16. Beal M.F.** Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annals of Neurology*. 1995; 38 (3): 357 - 366.
- 17. Jenner P., Olanow C.W.** The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Neurology*. 2006; 66 (10 Suppl 4): S24 - 36.
- 18. Liu X., Yamada N., Maruyama W., Osawa T.** Formation of dopamine adducts derived from brain polyunsaturated fatty acids: mechanism for Parkinson disease. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008; 283 (50): 34887 - 34895. doi: 10.1074/jbc.M805682200.
- 19. Spillantini M.G., Goedert M.** Neurodegeneration and the ordered assembly of  $\alpha$ -synuclein. *Cell and Tissue Research*. 2018; 373 (1): 137 - 148. doi: 10.1007/s00441-017-2706-9
- 20. Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрин М.И., Бальева Г.Х., Загоровская Т.Б., Маркова Е.Д. и др.** Гетерогенность спорадической болезни Паркинсона: молекулярный подход к решению проблемы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2007; 1 (1): 23-31.

- M.I., Bagyeva G.Kh., T.B. Zagorovskaya, Markova E.D. Heterogeneity of sporadic Parkinson's disease: molecular approach to solving the problem. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2007; 1 (1): 23 – 31. (In Russian)
21. Lee Y., Dawson V.L., Dawson T.M. Animal models of Parkinson's disease: vertebrate genetics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012; 2 (10). pii: a009324. doi: 10.1101/cshperspect.a009324
22. Kamp F., Exner N., Lutz A.K., Wender N., Hegermann J., Brunner B. et al. Inhibition of mitochondrial fusion by alpha-synuclein is rescued by PINK1, Parkin and DJ-1. *The EMBO Journal*. 2010; 29 (20): 3571 – 3589. doi: 10.1038/emboj.2010.223
23. Bové J., Perier C. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2012; 211: 51 – 76. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011
24. Ungerstedt U., Arbuthnot G.W. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Research*. 1970; 24 (3): 485 – 493.
25. Ungerstedt U., Ljungberg T., Steg G. Behavioral, physiological, and neurochemical changes after 6-hydroxydopamine-induced degeneration of the nigro-striatal dopamine neurons. *Advances in neurology*. 1974; 5: 421 – 426.
26. Richardson J.R., Caudle W.M., Guillot T.S., Watson J.L., Nakamaru-Ogiso E., Seo B.B. et al. Obligatory role for complex I inhibition in the dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Toxicological Sciences*. 2007; 95 (1): 196 – 204. doi: 10.1093/toxsci/kf1133
27. Hoeglinger G.U., Feger J., Prigent A., Michel P.P., Parain K., Champy P. et al. Chronic systemic complex I inhibition induces a hypokinetic multisystem degeneration in rats. *Journal of Neurochemistry*. 2003; 84 (3): 491 – 502.
28. Shimoji M., Zhang L., Mandir A.S., Dawson V.L., Dawson T.M. Absence of inclusion body formation in the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 2005; 134 (1): 103 – 108. doi: 10.1016/j.molbrainres.2005.01.012
29. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M., Seo B.B., Richardson J.R., Kim J.H. et al. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience*. 2003; 23 (34): 10756 – 10764.
30. Inden M., Kitamura Y., Takeuchi H., Yanagida T., Takata K., Kobayashi Y. et al. Neurodegeneration of mouse nigrostriatal dopaminergic system induced by repeated oral administration of rotenone is prevented by 4-phenylbutyrate, a chemical chaperone. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 101 (6): 1491 – 1504. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.04440.x
31. Betarbet R., Sherer T.B., MacKenzie G., Garcia-Osuna M., Panov A.V., Greenamyre J.T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*. 2000; 3 (12): 1301 – 1306. doi: 10.1038/81834
32. Ferrante R.J., Schulz J.B., Kowall N.W., Beal M.F. Systemic administration of rotenone produces selective damage in the striatum and globus pallidus, but not in the substantia nigra. *Brain Research*. 1997; 753 (1): 157 – 162.
33. Day B.J., Patel M., Calavetta L., Chang L.Y., Stamler J.S. A mechanism of paraquat toxicity involving nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1999; 96 (22): 12760 – 12765.
34. Fukushima T., Yamada K., Hojo N., Isobe A., Shiwaku K., Yamane Y. Mechanism of cytotoxicity of paraquat III. The effects of acute paraquat exposure on the electron transport system in rat mitochondria. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 1994; 46 (6): 437 – 441. doi: 10.1016/S0940-2993(11)80056-4
35. Hosamani R., Muralidhara. Acute exposure of *Drosophila melanogaster* to paraquat causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2013; 83 (1): 25 – 40. doi: 10.1002/arch.21094
36. Djukic M., Jovanovic M.C., Ninkovic M., Vasiljevic I., Jovanovic M. The role of nitric oxide in paraquat-induced oxidative stress in rat striatum. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2007; 14 (2): 247 – 252.
37. Li X., Yin J., Cheng C.M., Sun J.L., Li Z., Wu Y.L. Paraquat induces selective dopaminergic nigrostriatal degeneration in aging C57BL/6 mice. *Chinese Medical Journal*. 2005; 118 (16): 1357 – 1361.
38. Uversky V.N., Li J., Fink A.L. Pesticides directly accelerate the rate of alpha-synuclein fibril formation: a possible factor in Parkinson's disease. *FEBS Letters*. 2001; 500 (3): 105 – 108.
39. Giordano G., Afsharinejad Z., Guizzetti M., Vitalone A., Kavanagh T.J., Costa L.G. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2007; 219 (2-3): 181 – 189. doi: 10.1016/j.taap.2006.09.016
40. Lopachev A.V., Lopacheva O.M., Abaimov D.A., Koroleva O.V., Vladychenskaya E.A., Erukhimovich A.A. et al. Neuroprotective Effect of Carnosine on Primary Culture of Rat Cerebellar Cells under Oxidative Stress. *Biochemistry (Moscow)*. 2016; 81 (5): 511 – 520. doi: 10.1134/S0006297916050084. (In Russian)
41. Fedorova T.N., Kulikova O.I., Stvolinsky S.L., Orlova V.S. The protective effect of (S)-Trolox-Carnosine on a Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cell Culture under the Impact of Heavy Metals. *Neurochemical Journal*. 2016; 10 (1): 53 – 58. doi: 10.7868/S1027813316010088. (In Russian)
42. Domico L.M., Zeevalk G.D., Bernard L.P., Cooper K.R. Acute neurotoxic effects of mancozeb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. *Neurotoxicology*. 2006; 27 (5): 816 – 825. doi: 10.1016/j.neuro.2006.07.009
43. Monnet-Tschudi F., Zurich M.G., Honegger P. Comparison of the developmental effects of two mercury compounds on glial cells and neurons in aggregate cultures of rat telencephalon. *Brain Reserch*. 1996; 741 (1-2): 52 – 59.
44. Kaidery A., Thomas N. Current perspective of mitochondrial biology in Parkinson's disease. *Neurochemistry International*. 2018; 117: 91 – 113. doi: 10.1016/j.neuint.2018.03.001
45. Haas R.H., Nasirani F., Nakano K., Ward D., Pay M., Hill R., Shults C.W. Low platelet mitochondrial complex I and complex II/III activity in early untreated Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. 1995; 37 (6): 714 – 722. doi: 10.1002/ana.410370604
46. Desplats P., Lee H.J., Bae E.J., Patrick C., Rockenstein E., Crews L. et al. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2009; 106 (31): 13010 – 13015. doi: 10.1073/pnas.0903691106
47. Hirsch E.C., Vyas S., Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2012; Suppl 1: S210 – S212. doi: 10.1016/S1353-8020(11)70065-7
48. Liu B., Hong J.S. Role of microglia in inflammation-mediated neurodegenerative diseases: mechanisms and strategies for therapeutic intervention. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003; 304 (1): 1 – 7. doi: 10.1124/jpet.102.035048
49. McGeer P.L., McGeer E.G. The alpha-synuclein burden hypothesis of Parkinson disease and its relationship to Alzheimer disease. *Experimental Neurology*. 2008; 212 (2): 235 – 238. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.04.008
50. Alekseeva N.S., Illarishkin S.N., Ponomareva T.A., Fedotova E.Yu., Ivanova-Smolenskaya I.A. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *Neurologicheskii zhurnal*. 2012; 1: 10 – 14. (In Russian)
51. Kostryukova E.S., Alifirova V.M., Zhukova N.G., Zhukova I.A., Izboldina O.P., Petrov V.A. et al. Olfactory dysfunction and modification in microbiota as early non-motor manifestations of Parkinson's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15 (5): 66 – 74. (In Russian)

O.I. Kulikova<sup>1,2</sup>, T.N. Fedorova<sup>2</sup>, V.S. Orlova<sup>1</sup>

## MODELING OF PARKINSON'S DISEASE USING ENVIRONMENTAL NEUROTOXINS (REVIEW)

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, 117198, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Center of Neurology, 125367, Moscow, Russian Federation

In recent years, there has been an increase in the prevalence of neurodegenerative diseases including Parkinson's disease (PD). It is characterized by progressive degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta, leading to disability of patients and large financial costs of the treatment and rehabilitation. In this regard, the understanding of the environmental factors causing this disease, the development of adequate experimental models for studying its pathogenesis, and the search for strategies to prevent its development, as well as possible neuroprotective drugs, have fundamental scientific value. Although some researchers believe that genetic mutations and aging of the population are the main factors for the development of PD, a lot of studies have shown that PD may be caused by exposure to a number of toxins which enter the body from the environment. This review discusses the main toxic substances that cause the development of PD and, therefore, are used to model this disease in animals and cell cultures, as well as the mechanisms of action of neurotoxins, and the advantages and disadvantages of specific models.

**Keywords:** Parkinson's disease, neurotoxins, pesticides, modeling, oxidative stress, environmental factors.

Переработанный материал поступил в редакцию 20.03.2019 г.

УДК 615.91 : 546.2

## ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГЕРМАНИЯ

А.В. Кадомцева, И.В. Жданович,  
М.С. Пискунова, А.Н. Линева,  
А.Н. Новикова, П.А. Логинов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ, 603950, ГСП-470, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

**В** настоящее время перспективным направлением является синтез биологически активных координационных соединений и создание на их основе эффективных фармакологических препаратов. В работе исследованы дигерман, а также его производные комплексы. Приведены токсикологические исследования синтезированных соединений. Следует отметить, что позитивные лекарственные свойства металлоорганических соединений германия подтверждены множеством исследований, дальнейшее изучение методов синтеза, физико-химических и фармакологических свойств этих соединений, является перспективной задачей.

**Ключевые слова:** токсикологические исследования, координационные соединения германия, металлоорганические, ферроценовые соединения, биологическое действие.

**Введение.** В настоящее время исследования в координационной химии являются приоритетными, что связано с необходимостью синтеза биологически активных координационных соединений и создания на их основе эффективных фармакологических препаратов, биоматериалов, модуляторов ферментов [1]. Известно, что введение в организм биометаллов в виде координационных соединений (экзогенных комплексов), может приводить к выполнению этими соединениями функций, присущих биокоординационным соединениям естественного происхождения (эндогенных комплексов). Поэтому такие экзогенные комплексы металлов всегда менее токсичны, чем их неорганические и органические соединения, а также они обладают рядом фармакологических эффектов: противосудорожное действие, противоопухолевая, противовирусная, нейротропная активность (седативное, анксиолитическое действие), церебропротекторная эффективность. В связи с этим актуально изучение лигандных свойств гидроксикарбоновых кислот по отношению к германию (IV).

Для установления особенностей структурообразования комплексных соединений германия (IV) в качестве лигандов, авторами [2] были выбраны лимонная, винная и ксиларовая кислоты,

которые снижают риск синтеза в организме канцерогенных нитрозаминов, а значит и риск развития онкологической патологии, очищают организм от вредных отравляющих веществ, выводят соли, шлаки, нормализуют деятельность психо-, нейро-, эндокринной и иммунной систем.

Авторами [3] предложен новый синтетический подход к выделению существующих в растворе гидроксикарбоксилатогерманатных комплексных анионов, базирующийся на использовании их способности выступать в роли конструктивных блоков – металлотеконов и образовывать ониевые соединения с органическими молекулами (экзо-лигандами), а также разнометалльные комплексы с ионами s-, d-, f-металлов за счет донорно-акцепторных, ион-ионных, ион-дипольных и комбинированных взаимодействий. Определены условия комплексообразования  $\text{GeO}_2$  и  $\text{GeCl}_4$  с лимонной, винной и ксиларовой кислотами с формированием моно-, ди- и полимерных комплексов.

Этапной следует считать работу [4], в которой рассматривалась проблема участия различных групп гидроксикислот в координации с ионами металлов в зависимости от кислотности среды. В других работах принималась точка зрения, согласно которой в кислой среде координация осу-

**Кадомцева Алёна Викторовна (Kadomtseva Alena Viktorovna)**, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры общей химии ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru

**Жданович Ирина Владимировна (Zhdanovich Irina Vladimirovna)**, доцент, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru

**Пискунова Марина Сергеевна (Piskunova Marina Sergeevna)**, доцент, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru

**Линева Альбина Николаевна (Lineva Al'bina Nikolaevna)**, доцент, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru

**Новикова Antonina Nikolaevna (Novikova Antonina Nikolaevna)**, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры общей химии ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru

**Логинов Петр Александрович (Loginov Petr Alexandrovich)**, младший научный сотрудник центра доклинических исследований ЦНИЛ ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ, rector@pimunn.ru



ществляется за счет карбоксильных групп, а гидроксильные группы координируются лишь в щелочной среде [5, 6].

Также привлекают к себе внимание в качестве биологически активных систем, металлоорганические соединения германия. Известно, что германий и его соединения способствуют индукции  $\gamma$ -интерферонов, которые подавляют процессы размножения быстро делящихся клеток, активируют специфические клетки (Т-киллеры), оказывают иммуномодулирующее, антибактериальное, фунгицидное, противовирусное, противоопухолевое, гипотензивное, кардио-, гепато-, мембранопротекторное и нейротропное действие. Описаны противосудорожные, седативные, миорелаксантные, ноотропные, адаптогенные свойства соединений германия, выраженный антигипоксический эффект. Известны их детоксикационные свойства при отравлении солями тяжелых металлов и некоторыми промышленными ядами, установлены антиоксидантные, радиозащитные, противовоспалительные эффекты. Соединения германия используют как стимуляторы эпителизации, а также как положительно влияющие на течение катаракты, остеопороза.

Следует отметить, что симметричные алифатические производные германия оказались малотоксичными, асимметричные - более токсичными. Наличие двойной связи резко повышало токсичность. При действии аллиловых соединений германия отмечены судороги. Насыщенные соединения вызывали падение мышечного тонуса, гипотермию, параличи. При отравлении хлорпроизводными развитию вялого паралича предшествовала стадия возбуждения, при действии йодпроизводными она отсутствовала, бромпроизводными - была стертой. Однако соединения триалкилгермания менее токсичны, чем аналогичные соединения свинца и олова [7].

Ранее в работах [8-10] был получен германий (IV) методом каталитического восстановления тетрахлорида германия (IV) водородом.

В работах [11-13] рассмотрен способ определения проявления побочных токсических эффектов химиопрепаратов, изучена динамика параметров ИК-спектров плазмы крови животных на фоне введения биологически активных добавок.

**Материалы и методы исследования.** Все операции [14-16] с легкоокисляющимися и быстрогидролизующимися веществами проводили в вакуумированных стеклянных приборах. Используемые растворители подвергали предварительной очистке. Для удаления следов влаги и перекисей ТГФ, эфир кипятили над натрием в присутствии бензофенона, после чего дегазировали путем многократного перемораживания жидким азотом в вакууме. Отгонку растворите-

лей проводили конденсацией в вакууме.

Изучение острой токсичности соединений проводилось на белых крысах, самцах, массой около 22 г., содержащихся в условиях вивария, которым внутримышечно однократно вводился препарат в виде раствора в ДМСО. Вещество вводилось в мышцу в возрастающих дозах от 10 до 160 мг/кг с интервалом доз в 30 мг/кг между каждой группой. Выбор такой шкалы доз производился на основании предварительной серии исследований по «нащупыванию» летальных доз на трех группах крыс с дозами 50, 150, 250 мг/кг; при этом от дозы 250 мг/кг крысы гибли почти сразу после введения раствора. Ограничились максимальной дозой в 160 мг/кг еще и потому, что необходимый для больших доз объем раствора  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  такой низкой концентрации (1%) был слишком велик для внутримышечного введения крысам.

Эксперименты были поставлены на 6 группах крыс. В каждом эксперименте была запланирована группа интактных крыс. Содержание экспериментальных животных соответствовало действующим Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

**Результаты и обсуждение.** При изучении физико-химических свойств  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  установлено, что соединение не растворяется в воде, практически не растворимо в персиковом масле, но умеренно растворимо в диметилсульфоксиде - часто применяемом при введении внутрь веществ, нерастворимых в физиологических жидкостях.

Вещество  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  вводилось в мышцу в возрастающих дозах от 10 до 160 мг/кг с интервалом доз в 30 мг/кг между каждой группой. Параллельно проводился контроль для изучения местного и возможного резорбтивного действия ДМСО на крыс при его внутримышечном введении в дозе 0.5 мг/кг.

Параметры летальных доз соединения  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  рассчитаны на % погибших животных по формуле Першина и на логарифмически-пробитной сетке по Миллеру. Среднесмертельная доза  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  при его внутримышечном введении в виде 1% раствора ДМСО составила 158 мг/кг для крыс: ЛД<sub>16</sub> - 110 мг/кг, ЛД<sub>50</sub> - 164 мг/кг; ЛД<sub>84</sub> - 206 мг/кг. При анализе летальности в каждой группе крыс (то есть с одинаковой дозой на кг веса) следует отметить, что первыми гибли крысы, которым вводился большой объем раствора комплекса  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$ , то есть крысы с большей массой тела.

Местные изменения после инъекции проявлялись сразу после введения в виде резкой отечности, посинения инъецированной лапки и даже хвоста, у некоторых крыс длительное время сохранялся парез этой лапки, что

говорит о наличии сильного раздражающего местного действия вводимого вещества. Среди факторов, оказывающих местное раздражающее действие можно исключить наркоз, так как предварительно до инъекции он не был сделан.

Резорбтивное действие после введения препарата  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  проявилось настороженностью и агрессивностью крыс. Отклонений в вегетативной сфере не выявлено. В группах крыс, получивших большие дозы комплекса  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  в первые трое суток изменилось поведение - крысы скучивались, отмечались явления выраженного угнетения, заторможенности, уменьшение пищевой активности, шерсть становилась взъерошенной и грязной, затем нарастала заторможенность, снижалась реакция на боль; смерть наступала в первые трое суток. Через сутки после введения малых доз комплекса  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$ , внешний вид и общее состояние крыс не отличалось от интактных животных.

В контрольных опытах при введении крысам одного растворителя ДМСО в дозе 0.5

мг/кг веса наблюдались агрессивность, болезненность после инъекции и местные изменения: отеки, цианоз лапки и хвоста, в разной степени выраженный парез лапки в зависимости от вводимого объема). К концу наблюдения все крысы были живы и находились в хорошем состоянии, отмечены нарастание массы тела и повышение пищевой активности.

Следовательно, в результате опытов установлено, что  $LD_{50}$  для 1% раствора  $(C_6F_5)_4Ge_2H_2$  в ДМСО при внутримышечном введении составила 158 мг/кг. Это позволяет отнести изучаемый препарат  $(Cr_2VS_2Ge_2(C_6F_5)_4)$  к умеренно токсичным веществам.

Также была изучена токсичность комплекса  $Cr_2VGe_2(C_6F_5)_4H$ . Опыты были поставлены на трех группах крыс по 4 в каждой. Суспензию (%) в ДМСО вводили внутривентрально в дозах 50, 100, 150 мг/кг.

В первой группе крыс (5 мг/кг) животные после инъекции оставались активными, физиологические отправления в норме. В течение двух недель гибели крыс в этой группе не

Таблица 1

**Результаты исследований летальных доз  $Cr_2VSe_2Ge_2(C_6F_5)_4$ , полученные методом Беренса**

	Доза	Фактический результат	Накопленные частоты	% смертности
Крысы-самцы	40	0/6	0/15	0
	80	1/5	1/9	10
	120	3/3	4/4	50
	160	5/1	9/1	90
	200	6/0	15/0	100
	d		40	
	A/B		80/120	
	a/b		10/50	
	$LD_{50}$		120	
Крысы-самки	40	0/6	0/15	0
	80	1/5	1/9	10
	120	3/3	4/4	50
	160	5/1	9/1	90
	200	6/0	15/0	100
	d		40	
	A/B		80/120	
	a/b		10/50	
	$LD_{50}$		120	

наблюдалось. Во второй и третьей группах (дозы 100 и 150 мг/кг) после инъекции у животных отмечали снижение двигательной и пищевой активности. Через три дня в обеих группах остались живы по одной крысе, которые быстро восстанавливались и через две недели не отличались от интактных.

Расчетная среднесмертельная доза 1% суспензии комплекса  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$  составила 75 мг/кг. Вскрытие брюшной полости крыс, погибших в день введения препарата, показало, что в брюшной полости выпота и гекоралий нет, петли кишок без изменений, среди них видны крупинки, частички единичного вещества. Печень без изменений. Легкие воздушные, розовые. При вскрытии брюшной полости крыс, погибших на второй день после инъекции, ни выпота, ни частичек препарата нет, печень без патологии. Обращают на себя внимание атоничные желтоватые петли некоторых кишок. В грудной полости - без патологии.

Была проведена вторая серия повторного токсикологического исследования 1% раствора соединения  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$  в ДМСО. В этой серии получен истинный раствор, который представляет собой гомогенную смесь, состоящую из частиц растворённого вещества, растворителя и продуктов их взаимодействия. Опыты поставлены на пяти группах белых крыс, которым внутривентриально вводились дозы производного  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$

соответственно 50, 100, 150 и 200 мг/кг, а в пятой группе, контрольной - чистый ДМСО в объеме максимальной дозы. В течение часа после инъекции крысы в первой группе были все живы, во второй - тоже, но половина крыс заторможена, неподвижна, реакции резко снижены; в третьей группе половина крыс сразу погибла; в четвертой и в контроле - 100% летальность. В течение двух недель наблюдения оставшиеся в живых крысы в первой и второй группах были активны, аппетит и физиологические отправления - в норме, шерсть чистая, общее состояние и поведение не отличалось от нормы.

Результаты в контрольной группе животных - быстрая 100% гибель при внутривентриальном введении чистого ДМСО - подтверждают его высокую токсичность, по-видимому, за счет угнетения центральной нервной системы, токсичность 1% раствора соединения  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$  обусловлена прежде всего растворителем. Чтобы уменьшить токсическое действие растворителя, поставлена третья серия опытов с более концентрированным (3%) раствором. Изменен и путь введения препарата - внутримышечно, так как объемы растворов в целом уменьшены втрое. Поставлена серия опытов на 6 группах животных, которым внутримышечно вводился 3% раствор в ДМСО в дозах соответственно по группам - 60, 90, 120, 150, 180 и 210 мг/кг. Параллельно проведены контрольные опы-

Таблица 2

**Результаты исследования «погибло/выжило» при введении  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$ , обработанные с помощью метода Кербера**

	Доза	40	80	120	160	200
Крысы-самцы	Выжило	6	5	3	1	0
	Погибло	0	1	3	5	6
	z		0,5	2	4	5,5
	d		40	40	40	40
	zd		20	80	160	220
	$\text{LD}_{50}$	120				
Крысы-самки	Доза	40	80	120	160	200
	Выжило	6	5	3	1	0
	Погибло	0	1	3	5	6
	z		0,5	2	4	5,5
	d		40	40	40	40
	zd		20	80	160	220
	$\text{LD}_{50}$	120				

ты с внутримышечным введением чистого ДМСО в дозах 0,6, 0,8 и 1,0 мг/кг.

После инъекции отмечалась агрессивность животных, визг от болезненного укола, как и прежде, степень беспокойства была в прямой зависимости от объема вещества. В дальнейшем в последних трех группах опытных крыс (150, 180 и 210 мг/кг) и в контрольных группах с ДМСО (0,6 мл) появилась отечность лапки, но каких-либо органических поражений не отмечалось, не было изъязвления в месте инъекции, хотя подвижность лапки была ограничена несколько дней.

Расчеты показали, что при внутримышечном введении 3% раствора комплекса ДМСО в дозах 0,6, 0,8 и 1,0 мг/кг  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$  в ДМСО среднесмертельная доза составила 165 мг/кг,  $\text{LD}_{50}$  - 103 мг/кг,  $\text{LD}_{84}$  - 225 мг/кг. Это позволяет отнести соединение  $\text{Cr}_2\text{VGe}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{H}$  к умеренно токсичным веществам  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$  разряда. При этом параметры токсичности этого соединения приближаются к таковым для  $(\text{C}_6\text{F}_5)_4\text{Ge}_2\text{H}_2$ .

Для предварительного изучения токсичности препарата  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$  в виде его раствора в ДМСО представлены эксперименты на 5 груп-

пах животных весом около 200 г в каждой группе. Препарат вводился внутримышечно в растворе ДМСО, в дозах 40 мг/кг, 80 мг/кг, 120 мг/кг, 160 мг/кг, 200 мг/кг. Летальные дозы, полученные методами Беренса и Кербера (табл.1, табл.2), составили,  $\text{LD}_{50}$  для самцов и самок крыс –  $120,00 \pm 11,958$  мг/кг,  $\text{LD}_{16}$  для самцов и самок крыс – 87,00 мг/кг,  $\text{LD}_{84}$  для самцов и самок крыс – 152,00 мг/кг.

Гибель животных наступала в первые сутки после инъекции на фоне общего угнетения (движений, рефлексов, дыхания), что позволяет отнести препарат  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$  к 4-й степени малотоксичных веществ по классификации Hodge и Sterner. Следует отметить, что замена серы на селен в халькогенидных комплексах  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$  и  $\text{Cr}_2\text{VSe}_2\text{Ge}_2(\text{C}_6\text{F}_5)_4$  ведет к значительному увеличению токсичности.

**Заключение.** На сегодняшний день позитивные лекарственные свойства металлоорганических соединений германия подтверждены множеством исследований, дальнейшее изучение методов синтеза, физико-химических и фармакологических свойств этих соединений, является перспективной задачей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кадомяцева А.В.* Фундаментальные аспекты разработки противоопухолевого препарата направленного действия. Всероссийский молодежный форум с международным участием «Неделя науки-2017», Ставрополь. 2017; 491-492.
2. *Кучеренко М.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев О.М.* Біохімія, Київ, 2002; 480.
3. *Сейфуллина И.И., Марцинко Е.Э.* Координационные соединения германия (IV) с анионами лимонной, винной и ксиларовой кислот. 2015; 148.
4. *Пятницкий И.В.* Комплексные соединения металлов с оксикислотами. 1963; 32(1): 93-119.
5. *Porlanova R., Lajunen L.H.J.* Critical evaluation of stability constants for  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid complexes with protons and metal ions and the accompanying enthalpy changes. Part II. Aliphatic 2-hydroxycarboxylic acids. *Pure Appl. Chem.* 2003; 75(4): 495-540.
6. *Назаренко В.А.* Аналитическая химия германия. Наука; 1973, 262с.
7. *Юшкова В.В., Вахрин А.С.* и др. Материалы по обоснованию ПДК тетрафторида германия в воздухе рабочей зоны. Ангарск, 2022с.
8. *Кадомяцева А.В., Об'едков А.М., Семенов Н.М., Каверин Б.С., Гусев С.А.* Получение и исследование влияния катализатора на основе зольных микросфер с покрытием из пиролитического вольфрама на процесс получения металлического германия. *Журнал прикладной химии.* 2016; 89(11): С. 1428-1437 (Kadomtseva A.V., Ob'edkov A.M., Semenov N.M., Kaverin B.S., Gusev S.A. Synthesis of Catalyst Based on Sol Microspheres Coated with Pyrolytic Tungsten and Study of Its Influence on Production of Metallic Germanium. *Russian Journal of Applied Chemistry.* 2016; 89(11): С. 1797-1800. DOI: 10.1134/S1070427216110100).
9. *Кадомяцева А.В., Об'едков А.М., Семенов Н.М., Каверин Б.С., Кремлев К.В., Гусев С.А., Юнин П.А.* Сравнительный анализ катализаторов реакции получения германия при восстановлении тетрахлорида германия водородом. *Неорганические материалы.* 2018; 54(10): 1027-1032 (Kadomtseva, A. V., Ob'edkov A.M., Semenov N.M., Kaverin B.S., Kremlev K.V., Gusev S.A., Yunin P.A. A Comparative Analysis of Catalysts for the Preparation of Germanium through Hydrogen Reduction of Germanium Tetrachloride. *Inorganic Materials.* 2018; 54(10): 971-976. DOI: 10.1134/S0020168518100084).
10. *Кадомяцева А.В., Об'едков А.М.* Восстановление  $\text{GeCl}_4$  в присутствии катализатора на основе модифицированного  $\text{NiCl}_2$ . *Неорганические материалы.* 2017; 53(12):1342-1350. DOI: 10.7868/S0020337X17120144 (Kadomtseva, A. V., Ob'edkov, A. M. Reduction of  $\text{GeCl}_4$  in the Presence of a Catalyst based on Modified  $\text{NiCl}_2$ . *Inorganic Materials.* 2017; 53(12):1312-1320. DOI: 10.1134/S0020168517120056).
11. *Красникова О.В., Гордеев А.С., Конторщикова К.Н., Крылов В.Н., Сазанов А.И.* Изменение параметров ИК-спектров биологических тканей животных-опухоленосителей на фоне совместного введения доксорубина и озона. *Современные технологии в медицине.* 2011; 3: 83-87.
12. *Красникова О.В., Гордеев А.С., Крылов В.Н.* Изменение ИК-спектров плазмы крови животных-опухоленосителей на фоне введения биологически активных добавок. *Современные технологии в медицине.* 2011; 4: 18-13. Красникова О.В., Гордеев А.С., Конторщикова К.Н., Крылов В.Н., Сазанов А.И. Изменение параметров ИК-спектров плазмы крови животных – опухоленосителей на фоне совместного введения доксорубина и озона. *Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.* 2011; 5(1):105-109.
13. *Zhanovich I.V., Lineva A.N., Lataeva V.N., Novotortsev V.M., Eremenko I.L., Struchkov YU.T.* Molecular structure and magnetic properties of the heteronuclear complex  $\text{CP2VTE2GE2(C6F5)4}$ , Russian journal of inorganic chemistry. 1999; 44(7): 1056-1059.
14. *Еременко И.Л., Стручков Ю.Т., Жданович И.В., Панкратов Л.В., Бочкарев М.Н., Латаева В.Н., Линева А.Н.* Молекулярная структура комплекса  $\text{CP2VSGE(C6F5)2SGE(C6F5)2}$ . *Журнал неорганической химии.* 1996; 41(6): 1028-1031.
15. *Кадомяцева А.В.* Fundamental aspects of the development of anticancer drugs with directed action. All-Russian youth forum with international participation "Week of science-2017", Stavropol, 2017, 491-492 (in Russian).
16. *Kucherenko M.Ye., Babenyuk Yu.D., Vasil'ev O.M.* Biokhimiya, Kiev, 2002, 480 (in Russian).
17. *Seifullina I.I., Martsinko E.E.* Coordination compounds of germanium (IV) with anions of citric, tartaric and xylar acids. 2015, 148 (in Russian).
18. *Pyatnitsky I.V.* Complex compounds of metals with oxy-acids. 1963, 32 (1), 93-119 (in Russian).
19. *Porlanova R., Lajunen L.H.J.* Critical evaluation of stability constants for  $\alpha$ -hydroxycarboxylic acid complexes with protons and metal ions and the accompanying enthalpy changes. Part II. Aliphatic 2-hydroxycarboxylic acids. *Pure Appl. Chem.* 2003, 75(4), 495-540.
20. *Nazarenko V.A.* Analytical chemistry of germanium, Science, 1973, 262 p (in Russian).
21. *Yushkov V.V., Vakhnin A.S.* etc. Materials to substantiate of the MAC of germanium tetrafluoride in the air of the working area. Angarsk, 2003, 22 p (in Russian).
22. *Kadomtseva A.V., Ob'edkov A.M., Semenov N.M., Kaverin B.S., Gusev S.A.* Preparation and study of influence of the catalyst based on ash microspheres coated with pyrolytic tungsten on the process of obtaining metallic germanium. *Journal of Applied Chemistry.* 2016, 89 (11), 1797-1805 (DOI: 10.1134/S1070427216110100).
23. *Kadomtseva A.V., Ob'edkov A.M., Semenov N.M., Kaverin B.S., Kremlev K.V., Gusev S.A., Yunin P.A.* Comparative analysis of catalysts for obtaining germanium by hydrogen reduction of the tetrachloride germanium. *Inorganic Materials.* 2018, 54 (10), 971-976 (DOI: 10.1134/S0020168518100084).

## REFERENCES:

- 10.** Kadomtseva A.V., Ob'edkov A.M. Reduction of germanium tetrachloride in the presence of a catalyst based on modified nickel chloride (II). *Inorganic Materials*. 2017, 53 (12), 1312-1318 (DOI: 10.1134/S0020168517120056).
- 11.** Krasnikova O.V., Gordetsov A.S., Kontorshchikova K.N., Krylov V.N., Sazanov A.I. Changes in the IR spectra of biological tissues of tumor-bearing animals under the joint introduction of doxorubicin and ozone. *Modern technologies in medicine*. 2011, 3, 83-87 (in Russian).
- 12.** Krasnikova O.V., Gordetsov A.S., Krylov V.N. Changes in the IR spectra of blood plasma of tumor-bearing animals under the introduction of biologically active additives. *Modern technologies in medicine*. 2011, 4, 18-21 (in Russian).
- 13.** Krasnikova O.V., Gordetsov A.S., Kontorshchikova K.N., Krylov V.N., Sazanov A.I. Changes in the IR spectra of biological tissues of tumor-bearing animals under the joint introduction of doxorubicin and ozone. *Bulletin of N.I. Lobachevsky Nizhny Novgorod State University*. 2011, 5 (1), 105-109 (in Russian).
- 14.** Zhdanovich I.V., Lineva A.N., Latyaeva V.N., Novotortsev V.M., Eremenko I.L., Struchkov Yu.T. Molecular structure and magnetic properties of heteronuclear complex  $CP_2VTE_2GE_2(C_6F_5)$  *Russian journal of inorganic chemistry*. 1999, 44 (7), 1056-1059 (in Russian).
- 15.** Eremenko I.L., Struchkov Yu.T., Zhdanovich I.V., Pankratov L.V., Bochkarev M.N., Latyaeva V.N., Lineva A.N. The molecular structure of the complex  $CP_2VSGE(C_6F_5)_2SGE(C_6F_5)$  *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 1996, 41 (6), 1028-1031 (in Russian).

*A.V. Kadomtseva, I.V. Zhdanovich, M.S. Piskunova, A.N. Lineva, A.N. Novikova, P.A. Loginov*

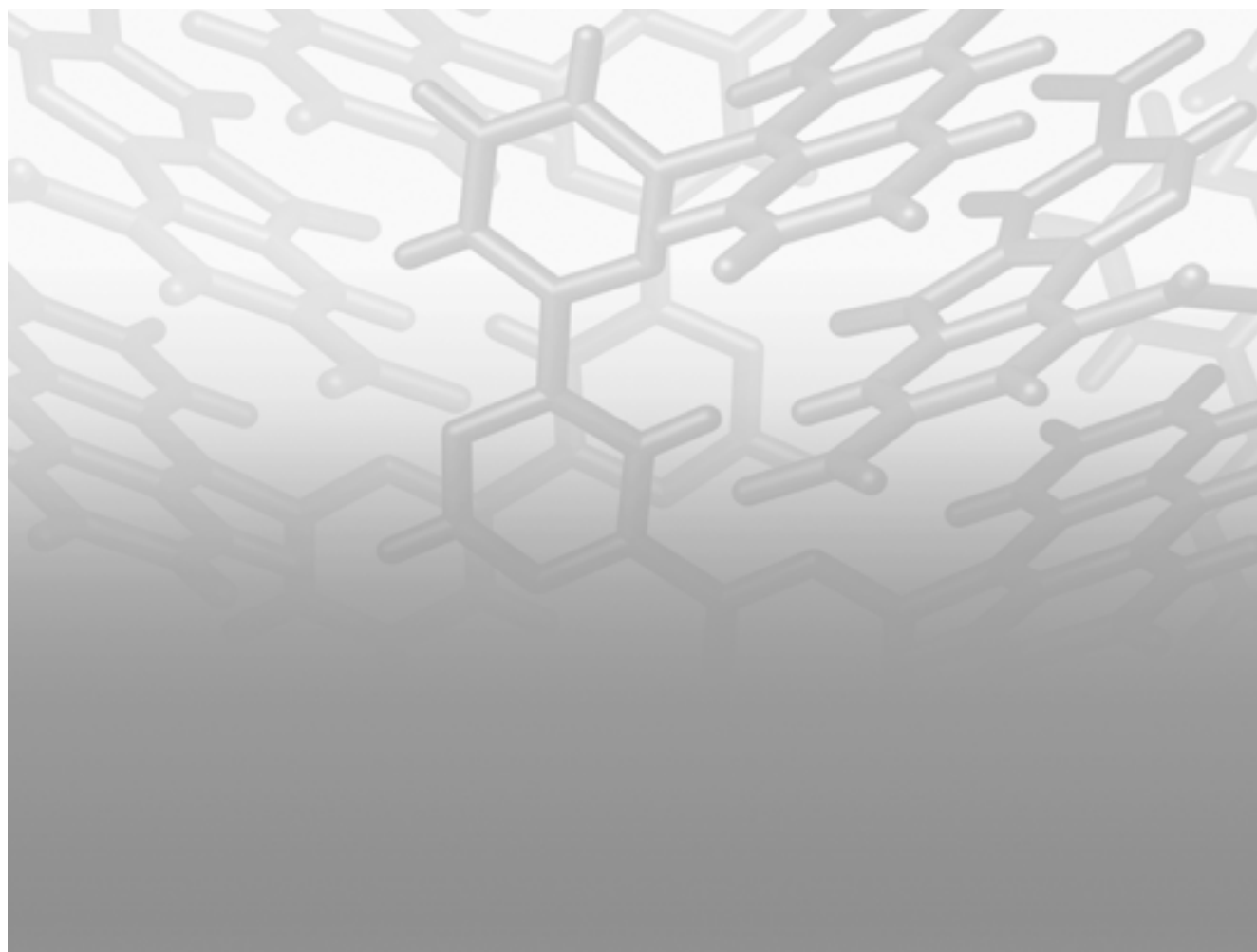
## ASSESSMENT OF TOXICITY OF GERMANIUM COORDINATION COMPOUNDS

Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation

The synthesis of biologically active coordination compounds and the design on their basis of effective pharmacological preparations is currently the promising area. This paper presents the results of the toxicological studies on digermanium and its complex derivatives. It should be noted that the positive medical properties of organometallic compounds of germanium are confirmed by numerous studies, therefore, the development of the methods of synthesis, as well as investigations of physicochemical and pharmacological properties of these compounds are at the center of attention.

**Keywords:** *toxicological studies, coordination compounds of germanium, organometallic, ferrocene compounds, biological action.*

Переработанный материал поступил в редакцию 12.03.2019 г.



УДК 547-30 : 615.27

# ВЛИЯНИЕ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КРОВИ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРИРОДНЫМИ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ

Е.С. Другова<sup>1</sup>, Н.Ф. Кушнерова<sup>1</sup>,  
С.Е. Фоменко<sup>1</sup>, В.Г. Спрыгин<sup>1</sup>,  
Л.Н. Лесникова<sup>1</sup>, В.Ю. Мерзляков<sup>1</sup>,  
Т.В. Момот<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, 690041, г. Владивосток, Российская Федерация

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, 690000, г. Владивосток, Российская Федерация

Показана возможность восстановления липидного обмена крови крыс после интоксикации четыреххлористым углеродом с помощью экстракта из калины «Калифен» и препарата сравнения «Легалон». Проведен эксперимент на белых крысах-самцах линии Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были разделены на 5 групп: 1-я группа - контроль; 2-я группа - введение четыреххлористого углерода в течение 4 суток; 3-я группа - введение четыреххлористого углерода в течение 4 суток, с последующей отменой в течение 7 суток; 4-я группа - введение четыреххлористого углерода в течение 4 суток, затем введение калифена в течение 7 суток; 5-я группа - введение четыреххлористого углерода в течение 4 суток, далее введение легалона в течение 7 суток. Установлено, что интоксикация четыреххлористым углеродом сопровождалась развитием выраженной гиперхолестеринемии, увеличением содержания суммарной фракции липопротеинов очень низкой и низкой плотности, при одновременном снижении концентрации липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови. Отмечалось снижение основных структурных фосфолипидов и метаболически активных фракций, увеличение количества триацилглицеринов, свободных жирных кислот, лизофосфолипидов. В период отмены четыреххлористого углерода в течение 7 суток показатели липидного обмена не восстановились, что свидетельствует о сохранении свободно-радикальных реакций даже в отсутствии токсиканта. Введение животным калифена и препарата сравнения легалона в условиях отмены токсического агента способствовало тенденции к восстановлению изученных показателей до контрольных значений, но наиболее выраженный эффект проявлялся у экстракта калины «Калифен».

**Ключевые слова:** четырёххлористый углерод, кровь, липопротеины, нейтральные липиды, фосфолипиды, легалон, калифен.

**Введение.** Четыреххлористый углерод (CCl<sub>4</sub>) широко используется в промышленности как растворитель масел, жиров, каучука, а также для чистки и обезжиривания одежды в быту и производственных условиях [1]. Из-за высокой токсичности его относят к промышленным ядам. Профессиональные отравления возможны при

поступлении паров CCl<sub>4</sub> через дыхательные пути, приеме внутрь или при длительном контакте с кожей. Интоксикация CCl<sub>4</sub> сопровождается выраженным гепатотоксическим действием. Механизм повреждающего действия основан на образовании активных радикалов (трихлорметил- и трихлорметилпероксилрадикал, супероксидани-

**Другова Елена Сергеевна (Drugova Elena Sergeevna)**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева, drug-2005.84@mail.ru

**Кушнерова Наталья Федоровна (Kushnerova Natalya Fedorovna)**, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, nkushnerova@poi.dvo.ru

**Фоменко Светлана Евгеньевна (Fomenko Svetlana Evgenievna)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, sfomenko@poi.dvo.ru

**Спрыгин Владимир Геннадьевич (Sprygin Vladimir Gennadievich)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, vsprygin@poi.dvo.ru

**Лесникова Лариса Николаевна (Lesnikova Larisa Nikolaevna)**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, lesnikova@poi.dvo.ru

**Мерзляков Валерий Юрьевич (Merzlyakov Valery Yurievich)**, научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН, vum77@mail.ru

**Момот Татьяна Викторовна (Momot Tatiana Viktorovna)**, кандидат медицинских наук, директор департамента биохимии и биофизики Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета, momot@dvfu.ru

он), которые возникают при его инактивации в системе цитохрома P450, развитием окислительного стресса [2]. Из-за подавления активности ферментов антиоксидантной защиты активируется перекисное окисление жирных кислот мембранных фосфолипидов, повышается проницаемость мембран и происходит выход ферментов из гепатоцитов в кровь [3]. Эффективным способом защиты организма от токсического действия является профилактическое использование растительных препаратов, содержащих комплексы полифенолов, обладающих способностью гасить свободнорадикальные реакции [4]. К таким препаратам относится экстракт «Калифен®» (свидетельство на товарный знак № 228327), выделенный из калины (*Viburnum sargentii* Koehne) и запатентованный как средство, обладающее антирадикальной активностью (патент № 2220614). В составе экстракта содержится широкий диапазон полифенольных соединений: флавонолы, катехины, лейкоантоцианы, олигомерные проантоцианидины, таннины, лигнин и др., которые составляют 65 % сухого остатка экстракта [5].

*Целью настоящей работы* явилось изучение влияния четыреххлористого углерода на показатели липидного обмена крови крыс и возможность их коррекции полифенольными соединениями из калины и легалона.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте использовали самцов белых крыс линии «Вистар» (питомник Столбовая, Московская область) с массой тела 180-200 г, содержащихся в условиях вивария на стандартном рационе питания, при естественном освещении и постоянной температуре воздуха 20-22°C. Экспериментальную модель интоксикации животных четыреххлористым углеродом воспроизводили согласно руководству [6]. Животным в дорсальную шейную складку вводили 50% раствор  $CCl_4$  на оливковом масле в дозе 2 мл/кг в течение 4 суток. Начиная с 5 суток эксперимента одной группе крыс внутрижелудочно через зонд в течение 7 суток вводили экстракт из калины калифен, а другой - коммерческий полифенольный гепатопротектор «Легалон®» (MADAUS AG, Германия) выделен из экстракта расторопши, принятый в качестве препарата сравнения. Препараты вводили в дозе 100 мг общих полифенолов/кг массы животного (в виде взвеси в 1% растворе крахмала), что соответствует известной терапевтической дозе для полифенольных гепатопротекторов [6]. Объем введенного препарата составлял 0,4 мл на одно животное. Животные были разделены на 5 групп по 10 крыс в каждой: 1 группа - контроль (интактные животные); 2 группа - введение  $CCl_4$  в течение 4 суток; 3 группа - введение  $CCl_4$  в течение 4 суток, затем 7 суток без токсиканта (отмена); 4 группа - введение  $CCl_4$  в течение 4 суток,

введение калифена в течение 7 суток; 5 группа - введение  $CCl_4$  в течение 4 суток, затем введение легалона в течение 7 суток. Крыс всех групп, кроме 2-й, служившей показателем эффективности модели токсического гепатита, выводили из эксперимента на 12-е сутки утром методом декапитации под лёгким эфирным наркозом с соблюдением «Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Исследование одобрено комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

Экстракты общих липидов из сыворотки крови готовили в соответствии с общепринятым методом [7]. Фракционное распределение фосфолипидов осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [8, 9], используя систему растворителей, предложенную G. Rouser et al., [10]. Разделение нейтральных липидов проводили методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [11]. Количественное содержание отдельных фракций выражали в процентах от их суммы. Суммарное содержание липопротеинов очень низкой и низкой плотности определяли турбидиметрическим методом, липопротеины высокой плотности - методом осаждения липопротеинов низкой плотности гепарином [12]. Количественные данные обрабатывали с использованием статистического пакета InStat 3,0 (GraphPad. Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение.** Введение четыреххлористого углерода в течение 4 суток сопровождалось рассогласованием компонентов липидной составляющей сыворотки крови крыс по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Отмечалось снижение количества общих фосфолипидов на 28% ( $p < 0,001$ ) и увеличение общего холестерина на 19% ( $p < 0,01$ ), что обусловило рост коэффициента ХС/ФЛ на 64% ( $p < 0,001$ ). Увеличение количества холестерина связано с активацией его биосинтеза из ацетил-КоА, образующегося при окислении жирных кислот в результате активации периферического липолиза в жировой ткани под действием химического стресса на фоне угнетения его митохондриального окисления [13]. Воздействие  $CCl_4$  вызывает сдвиги в липопротеиновом спектре сыворотки крови крыс, проявляющиеся в снижении уровня липопротеинов высокой плотности на 27% ( $p < 0,001$ ) при од-

Таблица 1

**Влияние интоксикации четырёххлористым углеродом на показатели липидного обмена крови крыс и его коррекция экстрактом «Калифен®» и препаратом сравнения «Легалон®»**

Показатели	1 группа Контроль	2 группа CCl <sub>4</sub>	3 группа Отмена CCl <sub>4</sub>	4 группа Отмена калифен	5 группа Отмена +легалон
Общие фосфолипиды (% от общих липидов)	15,35 ±0,38	11,12 ±0,56 <sup>3</sup>	10,94 ±0,51 <sup>3</sup>	14,77 ±0,52 <sup>б</sup>	13,07 ±0,41 <sup>1,6,*</sup>
Холестерин (% от общих липидов)	14,82 ±0,61	17,63 ±0,53 <sup>2</sup>	17,49 ±0,37 <sup>2</sup>	15,02 ±0,51 <sup>б</sup>	15,80 ±0,50
ХС/ФЛ	0,97 ±0,02	1,59 ±0,03 <sup>3</sup>	1,60 ±0,03 <sup>3</sup>	1,02 ±0,02 <sup>б</sup>	1,21 ±0,03 <sup>3,б</sup>
ЛПОНП+ЛПНП (г/л)	3,80 ±0,13	6,05 ±0,13 <sup>3</sup>	6,24 ±0,15 <sup>3</sup>	4,10 ±0,12 <sup>б</sup>	5,11 ±0,07 <sup>3,б,***</sup>
ЛПВП (г/л)	3,26 ±0,08	2,37 ±0,07 <sup>3</sup>	2,32 ±0,04 <sup>3</sup>	3,34 ±0,07 <sup>б</sup>	2,78 ±0,04 <sup>3,б,***</sup>

Примечание: здесь и в табл. 2 различия статистически значимы при: 1 -  $p < 0,05$ ; 2-  $p < 0,01$ ; 3-  $p < 0,001$  по сравнению с контролем. а -  $p < 0,05$ ; б -  $p < 0,01$ ; в -  $p < 0,001$  по сравнению с 3-й группой. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  по сравнению с 4-й группой. ЛПОНП - липопротеины очень низкой плотности; ЛПНП - липопротеины низкой плотности; ЛПВП - липопротеины высокой плотности. ХС - холестерин, ФЛ - фосфолипиды

новременном увеличении суммарной фракции липопротеинов очень низкой и низкой плотности на 59% ( $p < 0,001$ ). То есть, интоксикация CCl<sub>4</sub> формирует выраженную картину дислипидемии.

Одновременно отмечалось повышение уровня триацилглицеринов на 12% ( $p < 0,05$ ) и свободных жирных кислот на 26% ( $p < 0,001$ ) (табл. 2). Известно, что в результате активации периферического липолиза увеличивается поток жирных кислот и глицерина в печень с их последующим ресинтезом в ТАГ и формированием ЛПНП [14]. Кроме того, под действием ЧХУ происходит угнетение этерифицирующей функции печени, что подтверждается снижением количества эфиров холестерина на 17% ( $p < 0,001$ ) и эфиров жирных кислот на 18% ( $p < 0,001$ ), а также превращению триацилглицеринов в фосфолипиды.

Анализ фосфолипидного спектра сыворотки (табл. 2) показал увеличение лизофосфатидилхолина на 41% ( $p < 0,001$ ) и лизофосфатидилэтаноламина на 71% ( $p < 0,001$ ) при одновременном снижении основных структурных компонентов мембран - фосфатидилхолина на 5% ( $p < 0,05$ ) и фосфатидилэтаноламина на 24% ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует о высокой активности фосфолипаз. Также отмечалось снижение количества фосфатидилинозита на 72% ( $p < 0,001$ ) и фосфатидилсерина на 49% ( $p < 0,001$ ), которые имеют важное значение для функционирования мембраносвязанного фермента Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазы [15]. Следует отметить снижение количества дифос-

фатидилглицерина на 11% ( $p < 0,01$ ), необходимо для функционирования ферментов дыхательной цепи и транспортных АТФаз [16].

Обращает на себя внимание повышение количества сфингомиелина на 27% ( $p < 0,001$ ), что является компенсаторной реакцией на повышение проницаемости мембран [17].

В период отмены токсиканта (3 группа) исследуемые показатели к норме не возвращались. Так, оставался достоверно повышенный уровень общего холестерина (на 18% по сравнению с контролем,  $p < 0,01$ ), а также суммарной фракции липопротеинов низкой плотности (на 64%,  $p < 0,001$ ) и сниженный уровень липопротеинов высокой плотности (на 29%,  $p < 0,001$ ). В ряду нейтральных липидов отмечалось еще большее увеличение количества триацилглицеринов относительно контрольных величин (на 18%,  $p < 0,01$ ) и свободных жирных кислот (на 38%,  $p < 0,001$ ). Количество холестерина и фосфолипидных фракций сохранилось на уровне таковых показателей во 2-й группе, тогда как количество эфиров холестерина снизилось на 25% ( $p < 0,001$ ) относительно контроля.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в организме сохраняются свободнорадикальные процессы и активация фосфолипаз даже в отсутствие действия токсиканта.

Введение калифена и легалона (4 и 5 группы) сопровождалось тенденцией к восстановлению изученных показателей, но степень выраженности нормализующего эффекта в ряде случаев была



Таблица 2

**Влияние интоксикации четырёххлористым углеродом на нейтральные и фосфолипидные фракции сыворотки крови крыс и их коррекция экстрактом «Калифен» и препаратом сравнения «Легалон»**

Фракции липидов	1 группа Контроль	2 группа CCl <sub>4</sub>	3 группа Отмена CCl <sub>4</sub>	4 группа Отмена +калифен	5 группа Отмена +легалон
Нейтральные липиды					
Триацилглицерины	21,36 ±0,54	24,11 ±0,721	25,12 ±0,612	21,70 ±0,636	22,30 ±0,64в
Свободные жирные кислоты	6,53 ±0,25	8,24 ±0,303	9,00 ±0,163	6,62 ±0,17в	7,40 ±0,241,в,*
Эфиры жирных кислот	24,07 ±0,68	19,73 ±0,443	20,06 ±0,513	23,72 ±0,50в	22,62 ±0,46а
Холестерин	14,82 ±0,61	17,63 ±0,532	17,49 ±0,372	15,02 ±0,51а	15,80 ±0,50
Эфиры холестерина	24,15 ±0,48	20,02 ±0,613	18,43 ±0,523	23,80 ±0,47в	22,12 ±0,501,в,*
Остаточная фракция	9,07 ±0,44	10,27 ±0,51	9,90 ±0,60	9,14 ±0,48	9,76 ±0,50
Фосфолипиды					
Фосфатидилхолин	64,15 ±0,73	60,94 ±0,831	61,07 ±0,84	63,85 ±0,72	63,10 ±0,77
Лизофосфатидилхолин	8,17 ±0,31	11,55 ±0,403	12,00 ±0,473	9,00 ±0,386	9,69 ±0,282,а
Сфингомиелин	9,00 ±0,36	11,50 ±0,413	11,82 ±0,473	9,13 ±0,32в	9,46 ±0,31в
Фосфатидилэтаноламин	10,34 ±0,54	7,85 ±0,313	7,37 ±0,263	9,92 ±0,29в	9,70 ±0,27в
Лизофосфатидилэтаноламин	2,17 ±0,03	3,71 ±0,073	3,74 ±0,073	2,30 ±0,06в	2,40 ±0,12в
Фосфатидилинозит	3,44 ±0,06	2,48 ±0,143	2,42 ±0,043	3,38 ±0,06в	3,40 ±0,05в
Фосфатидилсерин	1,16 ±0,01	0,57 ±0,033	0,55 ±0,043	1,07 ±0,03в	0,86 ±0,033,в,***
Дифосфатидилглицерин	1,57 ±0,02	1,40 ±0,032	1,03 ±0,053	1,35 ±0,04в	1,39 ±0,023,в

различна. Наиболее выраженный эффект восстановления изученных биохимических показателей проявлялся при введении калифена, тогда как при введении легалона отмечались достоверные различия с контролем (табл. 1). Сохранялся низкий уровень общих фосфолипидов (на 15%,  $p < 0,05$ ) и липопротеинов высокой плотности (на 15%,  $p < 0,001$ ), а также повышенное значение коэффициента ХС/ФЛ (на 25%,  $p < 0,001$ ) и суммарной величины липопротеинов низкой плотности (на 34%,  $p < 0,001$ ). В то же время, сравнение исследуемых значений в 4-й и 5-й группах с таковыми

в 3-й группе (отмена CCl<sub>4</sub>) показало достоверные различия. Так, введение калифена и легалона сопровождалось ростом значений общих фосфолипидов и липопротеинов высокой плотности при одновременном снижении количества холестерина, коэффициента холестерин/фосфолипиды и суммарной фракции липопротеинов низкой плотности. При сравнении эффектов действия калифена и легалона (сравнение 4-й и 5-й групп) следует отметить более выраженный эффект у калифена, так как количество общих фосфолипидов в этой группе было выше таковой вели-

ны при введении легалона на 12% ( $p < 0,05$ ), липопротеинов высокой плотности – на 17% ( $p < 0,001$ ) и сниженное количество суммарной фракции липопротеинов низкой плотности на 25% ( $p < 0,001$ ). В ряду нейтральных липидов обращает на себя внимание более низкое значение свободных жирных кислот (на 12%,  $p < 0,05$ ), чем таковое при введении легалона и более высокий уровень эфиров холестерина (на 7%,  $p < 0,005$ ), что свидетельствует о восстановлении этерифицирующей функции печени. Среди фосфолипидных фракций следует отметить повышенный на 20% ( $p < 0,001$ ) уровень фосфатидилсерина, чем в 5-й группе, необходимый для функционирования мембраносвязанных ферментов.

На основании полученных результатов следует, что полифенольный экстракт «Калифен®» и препарат сравнения «Легалон®» способствуют восстановлению липидного обмена крови крыс после интоксикации четыреххлористым углеродом. Биохимический механизм обусловлен способностью растительных полифенолов улавливать свободные и кислородные радикалы, образуя при этом стабильные соединения, что в значительной степени сдерживает процессы перекисного окисления липидов и снимает состояние оксидативного стресса [18]. При анализе величин отклонений исследованных биохимических параметров при введении растительных препаратов от таковых величин при непосредственной интоксикации были выявлены наиболее значимые эффекты у экстракта «Калифен®». Следует отметить, что в составе экстракта «Калифен®» содержатся фенольные соединения с двумя ароматическими кольцами: кверцетин, кверцетин-3-О-рутинозид, кверцетин-3-О-гликозид, олигомерные проантоцианидины, обладающие высокой биодоступностью и антиради-

кальной активностью. В состав легалона входит активная группа изомерных флавоноидных соединений (силибинин, силикристин, силидианин), не образующих олигомерных форм. Меньшая эффективность легалона связана с очень низкой биодоступностью компонентов, входящих в его состав из-за ограниченной их растворимости в водной фазе [19] и, следовательно, низкой абсорбции в желудочно-кишечном тракте. Профилактический прием экстракта «Калифен®» возможно позволит эффективно бороться с последствиями комплексного воздействия химических веществ, что, безусловно, увеличит профессиональное и биологическое долголетие людей, проживающих и работающих в зонах техногенных катастроф и в экологически неблагоприятных регионах.

#### Выводы:

1. Токсическое действие СС14 сопровождается дислипидопроteinемией, гиперхолестеринемией, триглицеринемией, рассогласованием величин фракций нейтральных и фосфолипидов в сыворотке крови крыс.

2. В период отмены интоксикации СС14 в течение 7 суток исследуемые показатели к норме не возвращались: сохранялся повышенный уровень общего холестерина, суммарной фракции липопротеинов очень низкой и низкой плотности, триацилглицеринов, свободных жирных кислот и сниженный уровень эфиров холестерина, что определяет угнетение этерифицирующей функции печени.

3. Введение экстракта из калины «Калифен®» и препарата сравнения «Легалон®» сопровождалось восстановлением исследуемых биохимических параметров, но более выраженный эффект отмечался у калифена за счет присутствия в его составе олигомерных форм полифенолов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Занавескин Л.Н., Першикова Е.В., Конорев О.А. Переработка четыреххлористого углерода и содержащих его отходов в хлористый метил. Технология органических веществ. 2006; 12: 10-21.
2. Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Усакова М.А., Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., и др. Характеристика токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса. Токсикологический вестник. 2009; 1: 12-17.
3. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. Профилактика нарушений липидного обмена печени при интоксикации сероуглеродом. Тихоокеанский медицинский журнал. 2013; 2 (52): 57-59.
4. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. Влияние профилактического применения олигомерных проантоцианидинов на липидный обмен и антирадикальную активность печени крыс при поражении четыреххлористым углеродом. Сибирский медицинский журнал. 2013; 1: 60-63.
5. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф. Калина – новый нетрадиционный источник олигомерных проантоцианидинов. Химио – фармацевтический журнал. 2004; 38 (2): 41-45.
6. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств. Вед. фарм. ком. 1999; 2: 9-12.
7. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. 1957; 226: 497-509.
8. Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. J. Chromatography. 1972; 67 (2): 376-378.
9. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasenden I.M. A universal reagent for phospholipid analyses. J. Chromatography. 1975; 114: 129-141.
10. Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids. Lipid chromatography. Anal. N.Y.: Dekker. 1967; 1: 99-162.
11. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. J. Lipid Res. 1964; 5 (2): 270-272.
12. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. 2-е изд. Минск: Беларусь; 1982.
13. Boll M., Weber L.W., Becker E., Stampf A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. Z. Naturforsch C. 2001; 56 (7-8): 649-59.
14. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю. А. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе. Гигиена и санитария. 2016; 95 (7): 678-681.
15. Satoh T., Cohen H.T., Katz A.I. Intracellular signaling in the regulation of renal Na-K-ATP-ase. II. Role of eicosanoids. J. Clin. Invest. 1993; 91: 409-415.
16. Berson A., Fau D., Fornacciari R., Degove-Goddard P., Sutton A., Descatoire V., et al. Mechanisms for experimental buprenorphine hepatotoxicity: major role of mitochondrial dysfunction versus metabolic activation. Hepatology. 2001; 34 (2): 261-9.
17. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф. Экспериментальная оценка токсического влияния ацетона на метаболические реакции печени в условиях повышенной влажности воздуха. Токсикологический вестник. 2013; 2 (11): 9-14.
18. Gresele P., Cerletti C., Guglielmini G., Pignatelli P., de Gaetano G., Violi F. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. J. Nutr. Biochem. 2011; 22 (3): 201-211.
19. Kim M., Yang S.G., Kim J.M., Lee J.W., Kim Y.S., Lee J.I. Silymarin suppresses hepatic stellate cell activation in a dietary rat model of non-alcoholic steatohepatitis: analysis of isolated hepatic stellate cells. Int. J. Mol. Med. 2012; 30 (3): 473-479.

## REFERENCES:

- Zanaveskin L.N., Pershikova E.V., Konorev O.A. Processing of carbon tetrachloride and waste containing it into methyl chloride. Technology of organic substances. 2006; 12: 10-21 (in Russian).
- Kravchenko L.V., Trusov N.V., Usakova M.A., Aksenov I.V., Avren'yeva L.I., Guseva G.V., i dr. Characteristic of the toxic effect of carbon tetrachloride as a model of oxidative stress. Toksikologicheskii vestnik. 2009; 1: 12-17 (in Russian).
- Momot T.V., Kushnerova N.F., Fomenko S.Ye. Prevention of violations of lipid metabolism of the liver in case of intoxication with carbon disulphide. Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal. 2013; 2 (52): 57-59 (in Russian).
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.Ye. Influence of prophylactic use of oligomeric proanthocyanidins on lipid metabolism and antiradical activity of rat liver in case of damage by carbon tetrachloride. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2013; 1: 60-63 (in Russian).
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F. Kalina is a new unconventional source of oligomeric proanthocyanidins. Khimiko - farmatsevticheskii zhurnal. 2004; 38 (2): 41-45 (in Russian).
- Vengerovskiy A.I., Markova I.V., Saratikov A.S. Preclinical study of hepatoprotective agents. Ved. farm. kom. 1999; 2: 9-12 (in Russian).
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. 1957; 226: 497-509.
- Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. J. Chromatography. 1972; 67 (2): 376-378.
- Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasenden I.M. A universal reagent for phospholipid analyses. J. Chromatography. 1975; 114: 129-141.
- Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids. Lipid chromatography. Anal. N.Y.: Dekker. 1967; 1: 99-162.
- Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. J. Lipid Res. 1964; 5 (2): 270-272.
- Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. Handbook of Clinical Chemistry. 2 izd., Minsk: Belarus; 1982 (in Russian).
- Boll M., Weber L.W., Becker E., Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. Z. Naturforsch C. 2001; 56 (7-8): 649-59.
- Momot T.V., Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu. A. Prevention of the violation of biochemical parameters in the blood of rats with experimental stress. Gigiyena i sanitariya. 2016; 95 (7): 678-681 (in Russian).
- Satoh T., Cohen H.T., Katz A.I. Intracellular signaling in the regulation of renal Na-K-ATP-ase. II. Role of eicosanoids. J. Clin. Invest. 1993; 91: 409-415.
- Berson A., Fau D., Fornacciarri R., Degove-Goddard P., Sutton A., Descatoire V., et al. Mechanisms for experimental buprenorphine hepatotoxicity: major role of mitochondrial dysfunction versus metabolic activation. Hepatology. 2001; 34 (2): 261-9.
- Fomenko S.Ye., Kushnerova N.F. Experimental assessment of the toxic effect of acetone on the metabolic reactions of the liver in conditions of high humidity. Toksikologicheskii vestnik. 2013; 2 (11): 9-14 (in Russian).
- Gresele P., Cerletti C., Guglielmini G., Pignatelli P., de Gaetano G., Violi F. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. J. Nutr. Biochem. 2011; 22 (3): 201-211.
- Kim M., Yang S.G., Kim J.M., Lee J.W., Kim Y.S., Lee J.I. Silymarin suppresses hepatic stellate cell activation in a dietary rat model of non-alcoholic steatohepatitis: analysis of isolated hepatic stellate cells. Int. J. Mol. Med. 2012; 30 (3): 473-479.

*E.S. Drugova<sup>1</sup>, N.F. Kushnerova<sup>1</sup>, S.E. Fomenko<sup>1</sup>, V.G. Sprygin<sup>1</sup>, L.N. Lesnikova<sup>1</sup>, V.Yu. Merzlyakov<sup>1</sup>, T.V. Momot<sup>2</sup>*

### EFFECT OF CARBON TETRACHLORIDE ON THE LIPID COMPOSITION OF RAT'S BLOOD AND ITS CORRECTION BY NATURAL HERBAL POLYPHENOLS

<sup>1</sup>V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEBRAS, 690041, Vladivostok, Russian Federation

<sup>2</sup>Far Eastern Federal University, 690000, Vladivostok, Russian Federation

The possibility of blood lipid metabolism recovery in rats after intoxication with carbon tetrachloride using Kalifen<sup>®</sup> extract from viburnum and the comparison preparation Legalon<sup>®</sup> has been shown. The experiments were conducted on male white rats of the Wistar line in standard vivarium conditions. Animals were divided into 5 groups: 1<sup>st</sup> group - control; 2<sup>nd</sup> group - introduction of carbon tetrachloride for 4 days; 3<sup>rd</sup> - introduction of carbon tetrachloride for 4 days followed by cancellation within 7 days; 4<sup>th</sup> group - introduction of carbon tetrachloride for 4 days followed by introduction of Kalifen<sup>®</sup> for 7 days; 5<sup>th</sup> - introduction of carbon tetrachloride for 4 days followed by introduction of Legalon<sup>®</sup> for 7 days.

It has been found that intoxication with carbon tetrachloride was accompanied by the development of severe hypercholesterolemia, as well as the increase in the content of the total fraction of lipoproteins of very low density with reducing the concentration of high density lipoproteins in the serum. There were a decrease in the main structural phospholipids and metabolically active fractions, an increase in the number of triacylglycerols, free fatty acids, and lysophospholipids.

During the cancellation of carbon tetrachloride within 7 days lipid metabolism indicators did not recover, indicating that free-radical reactions occur even in the absence of the toxicant. The introduction of Kalifen<sup>®</sup> and Legalon<sup>®</sup> in animals under the conditions of the withdrawal of the toxicant contributed to the recovery of the studied parameters to control values, but the most pronounced effect has been manifested using Kalifen<sup>®</sup>.

**Keywords:** carbon tetrachloride, blood, lipoproteins, neutral lipids, phospholipids, Legalon<sup>®</sup>, Kalifen<sup>®</sup>.

Материал поступил в редакцию 10.12.2018 г.



УДК 615.256.52 : 615.099-055

# ВЛИЯНИЕ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ ГЕСТОБУТАНОИЛ ДЛЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕСТАГЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА РАЗВИТИЕ ПЛОДА И ПОТОМСТВА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

Н.И. Шеина<sup>1</sup>, В.А. Паршин<sup>1</sup>,  
Т.А. Федотчева<sup>1,2</sup>,  
Н.Л. Шимановский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», 117997, г. Москва, Российская Федерация  
<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», 117216, г. Москва, Российская Федерация

**П**роведено изучение эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в антенатальном и постнатальном периодах развития при внутрижелудочном введении нового лекарственного средства Гестобутаноил в 2-х дозах (в эквитерапевтической и 10 раз выше).

Установлено, что введение гестагена Гестобутаноил в 2-х дозах не оказывало влияния на массу тела беременных животных, которая продолжала прогрессивно увеличиваться в течение беременности. Выявлена дозовая зависимость в проявлении эмбриотропного эффекта гестагена. Введение гестагена в дозе 0.25 мг/кг (расчетная эквитерапевтическая доза) не оказывало неблагоприятного действия на развитие эмбриона и плода крыс. Воздействие гестагена в дозе 2.5 мг/кг (10 эквитерапевтических доз) оказывало негативное действие на течение беременности, которое проявлялось статистически значимым увеличением предимплантационной гибели и общей эмбриональной смертности, а также статистически значимым снижением количества плодов.

Показано, внутрижелудочное введение лекарственной формы Гестобутаноил в дозах 0.25 и 2.5 мг/кг самкам крыс с 6-го по 19-ый дни беременности не оказывало негативного влияния на раннее развитие потомства первого поколения (постнатальная смертность, динамика массы тела, развитие сенсорно-двигательных рефлексов крысят).

**Ключевые слова:** гестаген, Гестобутаноил, таблетки, крысы, беременность, эмбриотоксичность, потомство.

**Введение.** Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств в соответствии с современными требованиями к их безопасности, утвержденными Министерством здравоохранения РФ, предусматривает оценку репродуктивной токсичности на экспериментальных животных. В частности, для нового разрабатываемого средства, гестагена Гестобутаноила, предназначенного для гормональной заместительной терапии гестагенной недостаточности, особенно важно оценить его действие на развитие плода и потомства, так как лекарственное средство

планируется применять для женщин с целью сохранения беременности, лечения эндометриоза и контрацепции.

Несмотря на то, что ни одно из неклинических исследований, проведенных на различных видах млекопитающих (мыши, крысы, кролики, морские свинки, лошади, приматы), не гарантирует эквивалентности токсического действия на людях, оценка эмбриотоксичности и тератогенности новых лекарственных средств на самках крыс является обязательной, так как самки крыс являются наиболее чувствительной моделью живот-

**Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natalya Ivanovna)**, доктор биологических наук, профессор кафедры гигиены ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ni\_sheina@mail.ru

**Паршин Валерий Александрович (Parshin Valeri Alexandrovich)**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ молекулярной фармакологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, vparshin@mail.ru

**Федотчева Татьяна Александровна (Fedotcheva Tatiana Alexandrovna)**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник НИЛ молекулярной фармакологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, tfedotcheva@mail.ru

**Шимановский Николай Львович (Shimanovsky Nikolai Lvovich)**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, заведующий НИЛ молекулярной фармакологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, shimannn@yandex.ru

ных для изучения данных видов токсичности [1].

Большинство лекарственных средств в той или иной мере обладают эмбриотоксичностью. Согласно статистическим данным, включающим все разрешенные FDA препараты за 2016-2017 годы, более 89% новых лекарственных средств (не считая противоопухолевых), оказывают токсические эффекты на эмбриональное развитие и плод, выявленные в доклинических исследованиях в дозах, превышающих терапевтическую для человека даже менее чем в 25 раз [2].

Стероиды с гестагеной активностью нетоксичны. Для гестагенов мегестрола ацетата, медроксипрогестерона ацетата (МПА), терапевтическая доза может достигать несколько граммов в день на человека [3]. При этом некоторым гестагенам при определенных дозах свойственно эмбриотоксическое действие. Например, однократное внутримышечное введение крысам МПА в дозах 0,3, 10, или 30 мг/кг на 6-ой день беременности вызвало уменьшение в весе крысят в большой дозе и увеличение среднего количества резорбций в помёте во всех группах, приведшее к уменьшению количества живых крысят в помёте. Однако доказательств тератогенного эффекта у выживших крысят не получено. Введение препарата в дозах 10 и 30 мг/кг внутримышечно крольчихам на 6-й день беременности привело к дозо-зависимому увеличению числа мертвых и мацерированных крольчат и более низкому весу среди живых особей в помёте. В обеих группах с препаратом было отмечено значительное увеличение случаев «волчьей пасти» [4]. В настоящее время препарат МПА – Депопровера применяется в качестве контрацептивного средства как в США, так и в Европе [5].

При исследовании репродуктивной токсичности другого гестагена – гидроксипрогестерона капроата (ГПЦ) на крысах во время трех фаз развития эмбриона-плода: в течение периода развития яичника (RP1, дни 8, 14 и 20), после имплантации эмбриона (TP, дни 6 12 и 18), и, в соответствии с началом приема препарата на 16-й неделе или позже у людей, после формирования гонад, включая дифференцировку яичек (RP2, день 17) даже в максимальной дозе 150 мг/кг (в 30 раз превышающей терапевтическую) у потомства F (1) и F (2) не было выявлено каких-либо отклонений в поведенческих реакциях и в параметрах оценки развития. Это исследование подтверждает отсутствие репродуктивной токсичности и тератогенности ГПЦ [6].

Наиболее близкий по химической структуре к Гестобутаноилу гестаген мегестрола ацетат (МА) у крыс в дозе, 0,02-кратной от рекомендуемой клинической дозы (13,3 мг/ кг/сут) снижал репродуктивную способность самцов первого по-

мета, однако, данных об эмбриотоксическом действии на самок первого помета нет [3].

Гестаген номегестрол, активно использующийся в настоящее время в Европе и Австралии как в качестве контрацептивного средства, так и в гормонально-заместительной терапии в терапевтической дозе 2,5 мг/кг, также не вызывает токсического действия на животных и человека даже в дозе, в 40 раз превышающей эквивалентную терапевтическую дозу (ЭТД) [7]. Номегестрол не проявляет генотоксичности на животных [8].

Таким образом, сегодня имеются сведения об эмбриотоксическом действии некоторых гестагенов. Поэтому для вновь создаваемых гестагенов необходимо изучать возможность их эмбриотоксического действия. Разрабатываемый в ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова новый гестаген Гестобутаноил 0,002г в форме таблеток [9], относится к 4 классу малотоксичных веществ. DL<sub>50</sub> на крысах и мышах превышает 5 г/кг, при ЭТД равна 0,25 мг/кг.

*Цель исследования:* исследовать влияние препарата Гестобутаноил на развитие эмбриона, плода и потомства F<sub>1</sub> при введении крысам в течение беременности в рамках доклинического исследования инновационного лекарственного средства, разработанного в РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

**Материалы и методы исследования.** Дозы препарата Гестобутаноил для введения готовили посредством растирания таблеток 0,002 г активной субстанции в ступке. В качестве дисперсионной среды использовали 1% водный раствор карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) с добавлением Твин-80 в качестве эмульгатора. Приготовленную суспензию лекарственной формы (ЛФ) Гестобутаноил вводили животным внутривентриально с помощью шприца, снабженного металлическим атравматическим зондом. При этом готовили такую консистенцию суспензии, которая была бы проходима через желудочный зонд. Контролем служила суспензия вспомогательных веществ в дисперсионной среде в том же весовом соотношении, что и в готовой лекарственной форме. Общий объем суспензии составил от 1,0 до 2,0 мл на одно животное.

При выборе доз препарата руководствовались «Методическими рекомендациями по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств» [10]. Были выбраны 2 дозы по активному веществу: 0,25 мг/кг (расчетная эквитерапевтическая доза, РЭТД) и в 10 раз выше РЭТД – 2,5 мг/кг [11]. Эффекты эмбриотоксичности и эмбриоletalности оценивали после эвтаназии и вскрытия самок на 20-й день беременности.

Изучение влияния Гестобутаноила на развитие плода и потомства проходило в 2 этапа. При изучении эмбрио- и фетотоксического действия,

регистрируемого в антенатальном периоде развития, Гестобутаноил вводили внутривентрикулярно в дозах 0,25 мг/кг и 2,5 мг/кг самкам крыс в течение всей беременности (с 1-го по 19-й дни).

Показателями эмбрио- и фетотоксического действия служили предимплантационная и постимплантационная гибель, общая эмбриональная смертность, краниокаудальный размер плода и диаметр плаценты, аномалии развития плода.

На основании анализа эмбрионального материала были вычислены показатели предимплантационной, постимплантационной гибели и общей эмбриональной смертности [10].

После наружного осмотра одну группу плодов фиксировали в 96% спирте и после просветления раствором щелочи и промывания водой окрашивали ализарином. А после обезвоживания в смесях глицерина с 96% этиловым спиртом эта группа использовалась для изучения костного скелета по Dowson.

Другая группа плодов была зафиксирована в жидкости Буэна и использована для изучения развития внутренних органов на микроанатомических срезах по Wilson-Дыбану (на уровне вибрисс, глазных яблок, боковых и четвертого желудочков головного мозга, выше передних лап, ниже передних лап, на уровне сердца и легких, желудка, печени, почек). Исследовались также мочевой пузырь, мочеточники и органы репродуктивной системы. При осмотре плодов регистрировали патологические изменения (подкожные кровоизлияния и отек подкожной клетчатки, нарушения развития скелета и т.д.) [12-14].

При изучении эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемого в постнатальном периоде развития, препарат Гестобутаноил вводили внутривентрикулярно в дозах 0.25 мг/кг (РЭТД) и 2.5 мг/кг (в 10 раз выше РЭТД) самкам крыс в период органогенеза и фетогенеза (с 6 по 19 день беременности).

Регистрировали общее физическое состояние и поведение самок во время беременности, дату наступления родов и продолжительность беременности. За 3–4 дня до родов беременные самки были рассажены по одной в клетку и обеспечены подходящей подстилкой для устройства гнезда. Определяли количество плодов и общую массу тела новорожденных крысят в помете. В каждом помете оставляли по 6–8 новорожденных, на 30-й день после рождения крысят отсаживали от матерей. Были вычислены средняя масса крысят в течение первого месяца, коэффициент выживаемости и лактации [10].

Исследование крысят в постнатальном периоде развития включало следующие типы исследований: общие наблюдения за физическим развитием потомства, изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период

вскармливания самкой; изучение двигательной активности и эмоциональной реакции, способности к координации движений у потомства после окончания вскармливания. Были использованы тест «переворачивания на плоскости», тест «избегания обрыва» и тест «мышечной силы» на 8-ой день развития и поведение в «открытом поле» на 14-й и 28-ой дни развития

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с помощью программы Statistica 7.0. В случае нормального распределения данных вычисляли групповое среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартную ошибку среднего значения ( $m$ ), которые представлены в таблицах.

Для сравнения выборок при нормальном распределении совокупностей использовали параметрический  $t$ -критерий Стьюдента для парных выборок (для зависимых выборок) или непарных выборок (независимых). В случае значительных отклонений распределения признака от нормального закона, а также при малых объемах выборки применяли непараметрические критерии: для двух зависимых выборок – критерий Уилкоксона, в случае двух независимых выборок – критерий Манна-Уитни. Различия между группами считали статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  [17].

**Результаты и обсуждение.** Обнаружено, что введение Гестобутаноила в обеих дозах не оказывало существенного влияния на массу тела беременных животных, и она продолжала прогрессивно нарастать в период проведения эксперимента.

Однако, несмотря на то, что первоначальная масса животных при введении Гестобутаноила в дозе 2.5 мг/кг была несколько больше по сравнению с другими группами животных, можно отметить общую тенденцию снижения прироста массы крыс по триместрам беременности при введении гестагена в большой дозе (табл.1).

На 20-ый день беременности беременных крыс каждой группы подвергали некропии с дальнейшим анализом эмбрионального материала. В процессе анализа эмбрионального материала крыс, подвергшихся воздействию Гестобутаноила в течение всей беременности, было подсчитано количество желтых тел в яичниках, мест имплантаций, резорбций и плодов в полости матки. Определяли массу и кранио-каудальный размер плодов, диаметр и массу плаценты. Проводили выявление возможных кровоизлияний, отеков подкожной клетчатки и аномалий развития органов и скелета плодов. Вычисляли пред- и постимплантационную гибель и общую эмбриональную смертность по общей методике.

В таблице 2 приведены средние статистические данные анализа эмбрионального материала крыс после внутривентрикулярного введения Гестобута-

Таблица 1

**Динамика массы тела (г) беременных при внутрижелудочном введении Гестобутаноила по дням и триместрам беременности**

Группа животных	Дни беременности			
	1	7	14	20
контроль	206.4±5.1	233.1±6.4	268.5±4.9	316.4±4.2
0.25 мг/кг	207.6±4.6	233.3±3.3	261.1±5.1	308.6±5.1
2.5 мг/кг	213.5±5.6	237.9±3.6	266.8±8.0	309.1±9.3
	Триместры беременности, дни			
	1-7	8-14	15-20	1-20
контроль	26.7±2.1	36.6±3.7	46.1±3.9	110.2±5.5
0.25 мг/кг	24.5±2.3	27.8±1.8	47.5±2.0	101.0±4.8
2.5 мг/кг	24.4±4.1	28.9±4.1	42.3±3.7	93.8±5.4

ноил в течение беременности в дозах 0.25 мг/кг и 2.5 мг/кг.

Внутрижелудочное введение исследуемого гестагена в дозе 0.25 мг/кг не вызывало изменений таких показателей эмбриотоксического эффекта у крыс, как количество желтых тел беременности, мест имплантации, количества резорбций. Величина предимплантационной, постимплантационной гибели и общей эмбриональной смертности в этой группе не превышала аналогичных показателей контрольной группы. Масса тела и кранио-каудальный размер плодов, масса и диаметр плаценты, а также фето-плацентарный коэффициент были идентичны контрольным значениям этих показателей.

Иная картина наблюдалась при анализе показателей, характеризующих эмбриотоксичный эффект при введении гестагена в дозе 2.5 мг/кг. Выявлена устойчивая и последовательная тенденция снижения количества желтых тел беременности и мест имплантации, отмечено достоверно значимое увеличение предимплантационной гибели и общей эмбриональной смертности, снижение количества живых плодов, а также тенденция увеличения количества резорбций при введении гестагена в большой дозе. При введении Гестобутаноила в дозе 2.5 мг/кг значительно выросла общая эмбриональная смертность, в которую существенный вклад внесла предимплантационная гибель зародышей (табл. 2).

У отдельных крыс подопытной группы наблюдалась малоплодная беременность, и количество плодов колебалось от 5 до 2, что резко отличало этих крыс от контрольных особей, у которых количество плодов составляло от 10 до 13 (рис. 1).

Возможно, наблюдаемые изменения, в частности, снижение количества желтых тел, достоверное увеличение предимплантационной гибели и снижение количества плодов, подтверждают гипотезу об антиовуляторном эффекте больших доз Гестобутаноила, который обусловлен изменением гормонального баланса, с одной стороны, и иммунологическими механизмами, с другой.

Указанные эффекты могут быть вызваны уменьшением выработки лютеинизирующего гормона (ЛГ), стимулирующего созревание фолликула и овуляцию в течение менструального цикла. Так, структурный аналог Гестобутаноила (МПА) за рубежом используется в программах экстракорпорального оплодотворения для предотвращения выброса ЛГ и предотвращения овуляции с целью сохранения овуляторного резерва перед гиперстимуляцией [18]. Исследованием авторов статьи в эксперименте показано, что под действием Гестобутаноила тормозился фолликулогенез самок крыс [9]. Нарушение имплантации яйцеклетки в эндометрий происходит также за счет снижения уровня эстрогенов и уменьшения толщины эндометрия под действием Гестобутаноила, что является характерной чертой фармакодинамики гестагенов [19].

Кроме того, прогестерон и его аналоги оказывают влияние на иммунокомпетентные клетки, которые, как известно, регулируют течение беременности: в частности, натуральные киллеры играют ключевую роль в имплантации яйцеклеток. Они дифференцируются в децидуальные натуральные киллеры под действием IL-15 и секретуют цитокины и факторы роста, такие как TNF $\alpha$ , IL-10, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , TGF $\beta$ , INF $\gamma$  и другие. Под действием синтетических гестагенов меня-

**Анализ эмбрионального материала после внутрижелудочного введения Гестобутаноила самкам крыс в течение всей беременности**

Показатели	Контроль	0.25 мг/кг	2.5 мг/кг
Количество желтых тел	11.7±0.3	11.3±0.3	9.8±0.0.6
Количество мест имплантаций	11.4±0.3	10.7±0.3	7.8±0.6
Количество резорбций	0.6±0.4	0.4±0.2	1.3±0.3
Количество живых плодов	10.8±0.3	10.3±0.3	6.5±0.8 P<0.01
Количество мертвых плодов	0	0	0
Предимплантационная гибель, %	2.4±0.9	5.5±2.2	22.4±5.4 <sup>†</sup> P<0.01
Постимплантационная гибель, %	4.8±3.3	3.4±1.8	20.2±6.5
Общая эмбриональная смертность, %	6.4±3.3	8.8±1.8	34.3±8.6 <sup>†</sup> P<0.01
Масса плода, г	2.2±0.04	2.2±0.07	2.7±0.2
Кранио-каудальный размер, см	2.8±0.03	2.8±0.03	3.0±0.10
Масса плаценты, г	0.54±0.02	0.54±0.01	0.63±0.05
Диаметр плаценты, см	1.5±0.02	1.5±0.01	1.6±0.04
Фето-плацентарный коэффициент	0.22±0.01	0.22±0.01	0.24±0.02

ется иммуномодулирующий эффект эндогенного прогестерона. А так как они оказывают влияние на способность яйцеклетки к имплантации и слизистую матки в меньших концентрациях, чем прогестерон, то это может сопровождаться нарушением имплантации [20].

В качестве компенсаторного биологического механизма при малоплодной беременности наблюдалось небольшое увеличение массы плодов, как по абсолютному значению (до 3.92 г), так и по среднему значению (2.7 г в опыте против 2.2 г в контроле). Соответственно в определенной степени увеличены размер плодов (3.0 г против 2.8 г в контроле), масса плаценты (0.6 г против 0.5 г в контроле), диаметр плаценты (1.6 г против 1.5 г в контроле), а также фето-плацентарный коэффициент.

При анализе тотальных препаратов, фиксированных этиловым спиртом и окрашенных ализаринном (метод Dowson) для изучения развития костной системы плодов при введении гестагена в 2-х дозах в течение беременности не выявлено аномалий развития скелета. Задержка оксификации не определилась ни по одной из исследуемых точек скелета (табл. 3).

При макроскопическом осмотре и микроанатомическом исследовании (стандартные разрезы

по Wilson в модификации А.П. Дыбана) плодов крыс, подвергавшихся воздействию лекарственной формы Гестобутаноил в испытанных дозах в течение беременности, а также контрольных плодов не выявлено значимых аномалий развития внутренних органов, обусловленных действием гестагена. Как в контрольной, так и в подопытных группах в единичных случаях были отмечены кровоизлияния в брюшную полость и отек подкожной клетчатки у плодов.

Таким образом, изучение эмбрио- и фетотоксического эффекта гестагена Гестобутаноил в антенатальном периоде позволило выявить дозозависимость в проявлении эмбриотропного эффекта. Опираясь на полученные результаты исследования, полагаем, что доза гестагена 0.25 мг/кг (РЭТД) не оказывала неблагоприятного действия на развитие эмбриона и плода крыс.

Напротив, воздействие гестагена в дозе 2.5 мг/кг (10 РЭТД) оказывало выраженное негативное действие на ранние сроки беременности. Токсический эффект гестагена в первую очередь проявлялся с 1-го по 7-ой дни беременности, он тормозил процесс оплодотворения яйцеклетки, имплантацию ее в стенку матки, в конечном счете приводя к уменьшению количества эмбрионов и соответственно плодов.



Однако, воздействие гестагена в период органогенеза (7-14 дни) и дифференцировки органов и тканей (15-20 дни) не сопровождалось проявлением патологических изменений таких показателей как масса и кранио-каудальный размер плодов, масса и размер плаценты, величина фето-плацентарного коэффициента. Внешний осмотр плодов и количественные параметры исследования плодов методами Wilson в модификации Дыбана А. П. и Dowson не выявили тератогенного эффекта гестагена.

На основании этих данных можно полагать также, что Гестобутаноил не проникал непосредственно через плаценту и не оказывал на нее прямого действия. Наблюдаемый эмбриотоксический эффект в большой дозе обусловлен скорее всего его опосредованным гуморальным воздействием.

При исследовании эмбрио- и фетотоксического действия гестагена, регистрируемого в постнатальном периоде развития, Гестобутоноил вводили внутрижелудочно самкам крыс с 6-го по 19-й дни беременности, а затем были оставлены на роды.

На 20-ый день беременности они были отсажены в отдельные клетки до родов, которые

наступили в срок (на 22-23 день беременности). Продолжительность беременности и инстинкт материнства у подопытных самок, получавших гестаген, не отличались от аналогичных показателей у контрольных животных.

В течение первого месяца постнатального периода развития крысят было проведено изучение смертности, динамики массы тела, физического и эмоционально-двигательного развития потомства первого поколения.

Количество родившихся крысят на 1 крысу в экспериментальных группах, гибель их к 5 и 21 дню развития представлены в таблице 4. Достоверных изменений по изученным показателям не получено. Количество потомков первого поколения, способность матерей-самок к вскармливанию (коэффициент лактации) и выживаемость крысят подопытных животных, получавших гестагена в 2-х дозах, не отличались от соответствующих показателей в контрольной группе. Динамика массы тела крысят в контрольной и опытных группах в течение первого месяца жизни не выявила существенных отличий между собой (табл. 5).

Таблица 3

#### Оценка тератогенного эффекта гестагена Гестобутаноил при введении самкам крыс в течение беременности

Показатели		Контроль	0.25 мг/кг	2.5 мг/кг
Внешний осмотр плодов	Общее количество	108	103	65
	с гематомами	абс.	0	0
		%	0	0
Состояние внутренних органов	обследовано	58	53	33
	с нарушениями	абс.	3	4
		%	5.0	7.5
Состояние костного скелета	обследовано	50	50	32
	с нарушениями	абс.	0	0
		%	0	0

Таблица 4

#### Количество родившихся крысят, коэффициенты лактации и выживаемости после введения Гестобутоноила самкам крыс с 6-го по 19-й дни беременности (расчет на 1 самку)

Группа крыс	Количество родившихся крысят	Гибель крысят к 5 дню развития	Коэффициент лактации, %	Гибель крысят к 21 дню развития	Коэффициент выживаемости, %
Контроль	11.2±0.5	0.2±0.2	98.3±1.8	0.2±0.2	98.7±1.4
0.25 мг/кг	9.8±0.4	0	100±0	0	100±0
2.5 мг/кг	9.3±1.8	0.3±0.2	94.5±2.5	0.2±0.2	97.2±1.6

Физическое развитие крысят в течение 1-го месяца жизни (покрытие шерстью, появление резцов, открытие глаз, отлипание ушных раковин, открытие вагины, опускание яичек и т.д.) не отличалось от сроков, характерных для нормального физиологического развития животных этого вида.

Показатели скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов потомства, полученного от самок после введения Гестобутаноила в 2-х дозах, представлены в таблице 6. Достоверных изменений в тестах переворачивания на плоскости, избегание обрыва и измерения мышечной силы на 8-ой день развития контрольных и подопытных крысят не получено. Результаты исследования эмоционально-двигательного поведения крысят в «открытом поле» на 14-й день развития представлены также в таблице 6. Время ухода крысят из центра «открытого поля, количество перебежек и вставаний после введения гестагена в обеих дозах (0.25 и 2.5 мг/кг) не отличались от соответствующих значений контрольных животных.

Результаты исследования эмоционально-двигательного поведения крысят 1-го месяца развития

в «открытом поле» представлены в таблице 7. Все исследованные показатели самок и самцов  $F_1$  подопытных животных не различались от таковых контрольных животных.

Таким образом, исследование эмбрио- и фетотоксического действия гестагена, регистрируемого в постнатальном периоде развития, показало, что введение гестагена Гестобутаноила с 6-го по 19-ый дни беременности в дозах 0.25 и 2.5 мг/кг (РЭТД и 10РЭТД) не оказывало негативного влияния на развитие потомства первого поколения, не влияло на смертность, динамику массы тела, физического и эмоционально-двигательного развития потомства первого поколения.

#### Выводы.

1. Изучение влияния гестагена Гестобутаноила на эмбрио- и фетогенез позволило выявить дозовую зависимость в проявлении эмбриотропного эффекта. Введение гестагена в дозе 0.25 мг/кг (расчетная эквитерапевтическая доза) не оказывало неблагоприятного действия на развитие эмбриона и плода крыс. Воздействие гестагена в дозе 2.5 мг/кг (10 эквитерапевтических доз) оказывало негативное действие на течение беременности, которое проявлялось статистически

Таблица 5

#### Динамика массы (г) тела крыс первого поколения, полученных от самок после введения Гестобутаноила с 6-го по 19-й дни беременности (расчет на 1 самку)

Группа животных	Дни постнатального развития			
	4-й	7-ой	14-ый	28-ой
Контроль	10.5±0.6	16.8±0.6	34.4±1.4	53.7±7.8
0.25 мг/кг	10.6±0.6	17.2±0.9	34.8±3.4	52.2±4.4
2.5 мг/кг	10.7±0.6	17.9±0.5	32.2±3.0	49.1±6.3

Таблица 6

#### Оценка показателей нервной системы потомства на 8-ой день и на 14-й день развития, полученных от самок, которым с 6-го по 19-ый дни беременности вводили Гестобутаноил

Исследуемые тесты	Контроль	0.25 мг/кг	2.5 мг/кг
8-ой день развития			
Переворачивание, %	100	100	100
Избегание обрыва, с	6.3±1.0	7.4±1.4	8.4±1.4
Мышечная сила, с	7.1±0.6	9.0±1.2	8.7±1.2
Тест «открытое поле», 14 день развития:			
Уход из центра, с	10.3±1.7	9.8±0.9	11.6±1.7
Количество перебежек	21.8±1.8	23.2±1.6	18.7±1.6
Количество стоек	11.2±1.3	8.3±1.3	8.1±1.3

Таблица 7

**Состояние нервной системы крыс первого поколения в возрасте 1 месяца по показателям в «открытом поле» после введения Гестобутаноила самкам с 6-го по 19-ый дни беременности, самки и самцы**

Группа животных	Уход из центра, с	Количество пересеченных квадратов	Количество вставаний	Количество умываний
Самки				
Контроль	1.5±0.7	26.2±3.0	8.2±1.2	2.5±0.5
0.25 мг/кг	1.8±0.4	25.8±2.5	8.8±0.9	2.3±0.4
2.5 мг/кг	4.0±0.5	23.7±5.8	8.7±1.4	1.7±0.2
Самцы				
Контроль	1.5±0.4	26.5±4.0	12.3±2.6	1.8±1.2
0.25 мг/кг	4.2±1.1	22.2±4.4	7.0±0.7	2.2±0.5
2.5 мг/кг	4.7±1.1	20.3±1.1	7.0±0.9	1.8±0.4

значимым увеличением общей эмбриональной смертности за счет увеличения предимплантационной гибели, а также статистически значимым снижением количества плодов.

2. Продолжительность беременности и инстинкт материнства у подопытных самок, получавших Гестобутаноил в 2-х дозах в течение беременности и с 6-го по 19-ый дни беременности, не отличались от аналогичных показателей у контрольных животных.

3. Внутривентрикулярное введение лекарственной формы Гестобутаноил в дозах 0.25 и 2.5 мг/кг самкам крыс с 6-го по 19-ый дни беременности не оказывало негативного влияния на раннее развитие потомства первого поколения (постнатальная смертность, динамика массы тела, развитие сенсорно-двигательных рефлексов крысят).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ N 19-015-00195\19.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Christian M. S., Brent R. L., Calda P. Embryo-fetal toxicity signals for 17alpha-hydroxyprogesterone caproate in high-risk pregnancies: a review of the non-clinical literature for embryo-fetal toxicity with progestins. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007, 20(2):89-112.
- Barrow P. Review of embryo-fetal developmental toxicity studies performed for pharmaceuticals approved by FDA in 2016 and 2017. *Reprod Toxicol.* 2018, 80:117-125. doi: 10.1016/j.reprotox.2018.04.008.
- FDA database (2018). Available at [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\_docs/label/2014/021778s018lbl.pdf].
- Jordan A. Toxicology of depot medroxyprogesterone acetate. *Contraception.* 1994, 49: 189-201.
- Heffron R., Achilles S. L., Dorfinger L. J., Haggood J. P., Kiarie J., Polis C. B., Steyn P. S. Pharmacokinetic, biologic, and epidemiologic differences in MPA- and NET-based progestin-only injectable contraceptives relative to the potential impact on HIV acquisition in women. *Contraception.* 2018. pii: S0010-7824(18)30524-9. doi: 10.1016/j.contraception.2018.12.001.
- Schardein J. L., Birch R., Hesley R., Thorsrud B. A. Multigeneration reproductive study of hydroxyprogesterone caproate (HPC) in the rat: laboratory results and clinical significance. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2012, 95(2):160-174. doi: 10.1002/bdrb.21000.
- van Diepen H. A. Preclinical pharmacological profile of nomegestrol acetate, a synthetic 19-nor-progesterone derivative. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012 8;10:85. doi: 10.1186/1477-7827-10-85
- Merck Sharp and Dohme Limited Summary of Product Characteristics: Zoely 2.5 mg/ 1.5 mg film-coated tablets. Electronic Medicines Compendium (eMC) 2011. Available from: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/27581/SPC/>
- Шейна Н. И., Паршин В. А., Рыбаков Ю. Л., Гукасов В. М., Костяева М. Г., Семейкин А. В., Самойликов П. В., Федотчева Т. А., Шимановский Н. Л. Оценка токсичности нового гестагена гестобутаноила в эксперименте на крысах и мышях. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2018. 81(11). 18-25. Sheina N.I., Parshin V.A., Rybakov U.L., Gukasov V.M., Kostiaeva M.G., Semeikin A.V., Fedotcheva T.A., Shimanovsky N.L. Evaluation of the toxicity of new progestogen gestobutanoil in an experiment on rats and mice. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2018. 81(11): 18-25.
- Методические рекомендации по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств. Составители: Дурнев А.Д., Смольникова Н. М., Скосырева А. М. и др. / В «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под редакцией А.Н. Миронова и др. - М., 2012. - Ч.1. - С.80-94
- Гуськова Т. А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их доклинического исследования. 2010 // *Токсикологический вестник.* - 2010. - №5. - С.2-6
- Дыбан А. П. Раннее развитие млекопитающих. - Л.: Наука, 1988. - 228 с.
- Кириющенков Л. П., Тараховский М. Л. Влияние лекарственных средств на плод. М.: 1990. - 286 с.
- Amann R. P. Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction. // *Fundam. Appl. Toxicol.* - 1982. - № 2. - P.13-16
- Menegola E., Broccia M. L., Giavini E. Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. // *Teratology.* - 2001. - № 64(3). - P.125-133.
- Neubert D. Reproductive toxicology: the science today. // *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis.* - 2002. - № 22. - P. 159-174.
- Бейли Н. Статистические методы в биологии. М.: Мир, 1963. - 271 с.
- Kuang Y, Chen Q, Fu Y, Wang Y, Hong Q, Liu Q, Ai A, Shoham Z. // Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2015. - №104(1).P.62-70. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.022.
- Федотчева Т. А., Шимановский Н. Л. Роль гестагенов в лечении эндометриоза. // *Проблемы эндокринологии.* - 2018. - №64(1). - С.54-61. doi: 10.14341/probi201864154-61.
- Polikarpova AV, Levina IS, Sigai NV, Zavarzin IV, Morozov IA, Rubtsov PM, Guseva AA, Smirnova OV, Shchelkunova T.A.. Immunomodulatory effects of progesterone and selective ligands of membrane progesterone receptors. // *Steroids.* - 2019 - №145. - P.5-18. doi: 10.1016/j.steroids.2019.02.009

## REFERENCES:

1. Christian M.S., Brent R.L., Calda P. Embryo-fetal toxicity signals for 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate in high-risk pregnancies: a review of the non-clinical literature for embryo-fetal toxicity with progestins. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007, 20(2), 89-112.
2. Barrow P. Review of embryo-fetal developmental toxicity studies performed for pharmaceuticals approved by FDA in 2016 and 2017. *Reprod Toxicol.* 2018, 80, 117-125 (DOI: 10.1016/j.reprotox.2018.04.008).
3. FDA database (2018). [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2014/021778s0181bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/021778s0181bl.pdf).
4. Jordan A. Toxicology of depot medroxyprogesterone acetate. *Contraception.* 1994, 49, 189-201.
5. Heffron R., Achilles S.L., Dorflinger L.J., Hapgood J.P., Kiarie J., Polis C.B., Steyn P.S. Pharmacokinetic, biologic, and epidemiologic differences in MPA- and NET-based progestin-only injectable contraceptives relative to the potential impact on HIV acquisition in women. *Contraception.* 2018. pii: S0010-7824(18)30524-9 (DOI: 10.1016/j.contraception.2018.12.001).
6. Schardein J.L., Birch R., Hesley R., Thorsrud B.A. Multigeneration reproductive study of hydroxyprogesterone caproate (HPC) in the rat: laboratory results and clinical significance. *Birth Defects Res B Dev. Reprod. Toxicol.* 2012, 95(2), 160-174 (DOI: 10.1002/bdrb.21000).
7. Van Diepen H.A. Preclinical pharmacological profile of nomegestrol acetate, a synthetic 19-nor-progesterone derivative. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012, 8, 10, 85 (DOI: 10.1186/1477-7827-10-85).
8. Merck Sharp and Dohme Limited Summary of Product Characteristics: Zoely 2.5 mg/1.5 mg film-coated tablets. *Electronic Medicines Compendium (eMC)* 2011. Available from: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/27581/SPC/>.
9. Sheina N.I., Parshin V.A., Rybakov U.L., Gukasov V.M., Kostiaeva M.G., Semeikin A.V., Fedotcheva T.A., Shimanovsky N.L. Evaluation of the toxicity of new progestogen gestobutanoil in an experiment on rats and mice. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2018, 81(11), 18-25 (in Russian).
10. Guidelines for the study of reproductive toxicity of drugs. Compilers: Durnev A.D., Smol'nikova N.M., Skosyeva A.M. etc. / in the «Guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals» edited by Mironov A.N. etc. - M., 2012, 1, 80-94 (in Russian).
11. Gus'kova T.A. Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of safety of their preclinical study. *Toxicological Bulletin.* 2010, 5, 2-6 (in Russian).
12. Dyban A.P. Early development of mammals. L., Science, 1988, 228 p (in Russian).
13. Kiryuschenkov L.P., Tarakhovskiy M.L. Influence of drugs on the fetus. M., 1990, 286 p (in Russian).
14. Amann R.P. Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1982, 2, 13-16.
15. Menegola E., Broccia M.L., Giavini E. Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratology.* 2001, 64(3), 125-133.
16. Neubert D. Reproductive toxicology: the science today. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis.* 2002, 22, 159-174.
17. Bailey N. Statistical methods in biology. M., Mir, 1963, 271 p (in Russian).
18. Kuang Y., Chen Q., Fu Y., Wang Y., Hong Q., Lyu Q., Ai A., Shoham Z. Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2015, 104(1), 62-70 (DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.022).
19. Fedotcheva T.A., Shimanovsky N.L. The role of gestagens in the treatment of endometriosis. *Problems of endocrinology.* 2018, 64(1), 54-61 (in Russian). (DOI: 10.14341/probl201864154-61).
20. Polikarpova A.V., Levina I.S., Sigai N.V., Zavarzin I.V., Morozov I.A., Rubtsov P.M., Guseva A.A., Smirnova O.V., Shchelkunova T.A. Immunomodulatory effects of progesterone and selective ligands of membrane progesterone receptors. *Steroids.* 2019, 145, 5-18 (DOI: 10.1016/j.steroids.2019.02.009).

N.I. Sheina<sup>1</sup>, V.A. Parshin<sup>1</sup>, T.A. Fedotcheva<sup>1,2</sup>, N.L. Shimanovsky<sup>1</sup>

## EFFECT OF THE NEW STEROID DRUG GESTOBUTANOIL FOR HORMONE REPLACEMENT THERAPY OF GESTAGENOUS INSUFFICIENCY ON THE DEVELOPMENT OF FETUS AND OFFSPRING IN EXPERIMENTS ON RATS

<sup>1</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 119997, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 117216, Moscow, Russian Federation

A study of the embryo- and fetotoxic effects registered in the antenatal and postnatal periods of development after the intragastric administration of Gestobutanoil in two doses (equitherapeutic and 10 times higher) has been performed.

It has been found that the introduction of gestagen Gestobutanoil in both doses did not affect the body weight of pregnant animals, which continued to increase progressively during pregnancy. The embryotropic effect of gestagen was revealed to be dose-dependent. The introduction of gestagen in a dose of 0.25 mg / kg (calculated equitherapeutic dose) had no adverse effect on the development of the embryo and fetus of rats. The gestagen in a dose of 2.5 mg / kg (10 equitherapeutic dose) had a negative effect on the course of pregnancy, which has been manifested by a statistically significant increase in preimplantation death and total fetal mortality, as well as a statistically significant decrease in the number of fetuses.

It has been shown that intragastric administration of Gestobutanoil in doses of 0.25 and 2.5 mg / kg to female rats from the 6<sup>th</sup> to the 19<sup>th</sup> days of pregnancy did not adversely affect the early development of the first generation offspring (postnatal mortality, body mass dynamics, and development of rats' sensory-motor reflexes).

**Keywords:** gestagen, Gestobutanoil, tablets, rats' pregnancy, embryotoxicity, offspring.

Переработанный материал поступил в редакцию 03.03.2019 г.



УДК 615.254.4 : 59.089

# МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАННЕМУ ВЫЯВЛЕНИЮ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ТОКСИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА НА ОСНОВЕ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ БИОМАРКЕРОВ

К.В. Сивак<sup>1</sup>, Т.Н. Саватеева-Любимова<sup>1</sup>,  
Т.А. Гуськова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России), 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Центр трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского, 150010, г. Ярославль, Российская Федерация

**В** статье представлены результаты экспериментального токсикологического исследования при отравлении крыс уранил ацетатом дигидратом (300 мг/кг массы тела). Целью данного исследования являлась разработка методических подходов к раннему выявлению острого повреждения почек токсического генеза на основе динамики ряда биомаркеров на 1, 3 и 7 сутки после введения нефротоксина. Для почечных биомаркеров, отражающих величину скорости клубочковой фильтрации (креатинин в крови, cutoff 112,77 мкмоль/л), механизм гибели клеток (ТРА в моче, cutoff 5,28 мЕ/мл), дистрофические изменения и регенерацию (КИМ-1 в моче, cutoff 0,28 нг/мл; значения выше 8,2 нг/мл имели прогностическое в отношении летального эффекта значение), воспалительную инфильтрацию и индукцию репарации ткани (MCP-1 в моче, cutoff 11,70 пг/мл и TGF-β1 в моче, cutoff 34,33 пг/мл) определены чувствительность и специфичность. По последовательности увеличения уровня в моче изученные биомаркеры можно расположить в следующий ряд: ранняя стадия – ТРА; стадия нарастания некроза и лейкоцитарной инфильтрации – КИМ-1, MCP-1, креатинин; стадия глубоких некротических изменений – TGF-β1. Изученные маркеры представляют интерес для использования в качестве диагностических средств при определении стадии патологии почек при отравлении нефротоксичными веществами.

**Ключевые слова:** острое повреждение почек, уран, биомаркеры, крысы, моча, креатинин, ТРА, КИМ-1, MCP-1, TGF-β1.

**Введение.** Острое повреждение почек (ОПП), описываемое как острое снижение почечных функций и проявляющееся изменениями диуреза и биохимических параметров крови, в соответствии с критериями RIFLE/AKIN имеет тяжелые клинические последствия, однако случаи ОПП при отравлениях или передозировке лекарственных препаратов не были включены в анализ KDIGO [1]. В тоже время острые отравления, как заболевания, вызванные внешними причинами, наряду с травмами, вносят существенный вклад в структуру общей заболеваемости населения Российской Федерации. Ренальную форму ОПП вызывают прямые нефротоксины и, по частоте возникновения, этот вариант патологии

встречается в 25-40% всех случаев острой почечной недостаточности (ОПН). Морфологически поражение почек при ренальной ОПН выражается в виде острого канальцевого некроза (ОКН), часто диффузного в обеих почках. ОКН многократно увеличивает смертность, как в терапевтической, так и хирургической клинике [2]. Нарастание креатинина, применяемого в критериях RIFLE/AKIN, происходит при снижении СКФ более чем на 50%, то есть по этому показателю можно судить о развитии ОПП на стадии, когда функции почек нарушены из-за грубых патоморфологических изменений. В связи с этим поиск, отбор и активная клиническая апробация новых высокочувствительных и специфичных для по-

**Сивак Константин Владимирович (Sivak Konstantin Vladimirovich)**, кандидат биологических наук, заведующий отделом доклинических исследований ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, kvsivak@gmail.com

**Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна (Savateeva-Lyubimova Tatiana Nikolaevna)**, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, drugs\_safety@mail.ru

**Гуськова Татьяна Анатольевна (Gus'kova Tatyana Anatolevna)**, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель Председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий имени М. В. Дорогова, tagus@rambler.ru

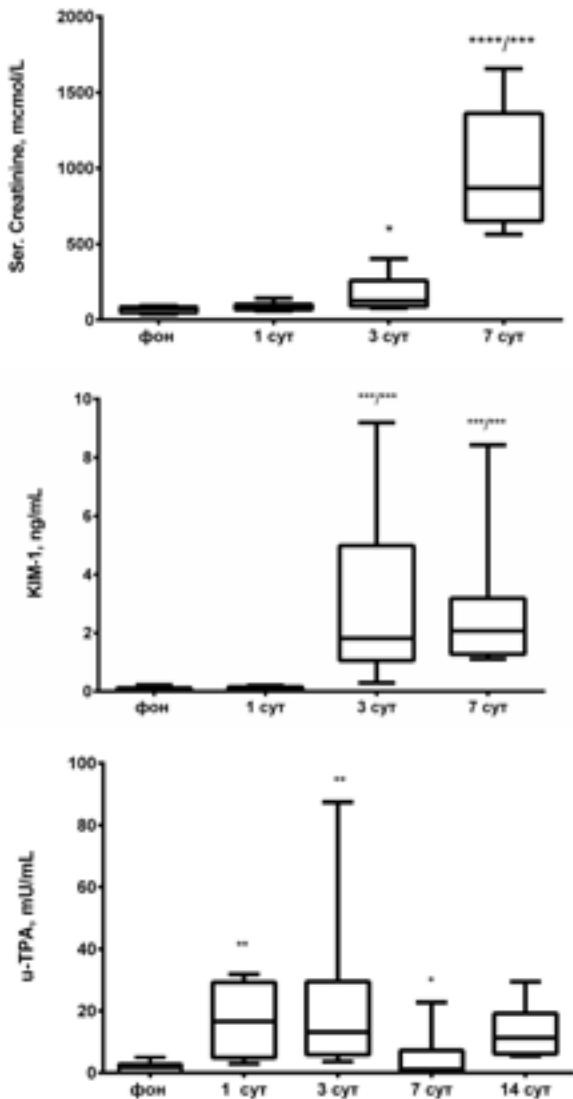
ражения почек биомаркеров являются актуальными задачами здравоохранения [3 - 7].

*Целью данного исследования* являлась разработка методических подходов к раннему выявлению ОПП токсического генеза на основе кинетики некоторых биомаркеров. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи: провести анализ потенциальных почечных биомаркеров по базе данных PubMed; смоделировать острое отравление нефротоксичным веществом на лабораторных животных; провести забор биологического материала и анализ уровня биомаркеров; оценить чувствительность и специфичность биомаркеров в динамике; оценить морфологические изменения в почках.

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент выполнен на 48 особях самок крыс Sprague-Dawley с массой тела 175-199 г, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино». Экспериментальное исследование проведено в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными и регулирующими актами, категория боли: D – боль и страдания, облегчаемые надлежащим способом (применялся ксилазин и золетил) [8]. Крысы были разделены на 2 группы: 1 группа – интактные животные (12 особей), 2 группа – животные с индуцированным ОПП (36 особей). Для моделирования ОПП животных за 10 ч лишали корма и вводили однократно через атравматический зонд в желудок раствор дигидрата ацетата уранила в дозе 300 мг/кг ( $1,5 \times LD_{50}$ ). Уран – типичный нефротоксин, ингибирующий натрий-зависимый транспорт глюкозы и неорганического фосфата, АТФ-азы, гексокиназу в клетках нефротелия. В результате поражения почечных канальцев нефронов развивается ОПП [9]. Для сбора мочи животных помещали на 16 часов в метаболические клетки Tecniplast Gazzada (Италия) при свободном доступе к воде. Мочу крыс собирали с добавлением консерванта ProClin-300 (Sigma-Aldrich) 5 мкл на 10 мл для предотвращения протеолиза и бактериального роста, центрифугировали 5 минут при скорости  $400 \times g$ , в супернатанте определяли уровень креатинина, белка и мочевых маркеров методом иммуноферментного анализа ELISA: тканевого полипептидного антигена (ТРА, фирма Cusabio), молекулы повреждения почек (KIM-1, фирма BioAssay Works), моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1, фирма Cusabio) и трансформирующего ростового фактора бета (TGF-beta1, фирма Cusabio). С целью проведения биохимических исследований у этих же животных отбирали образцы крови из хвостовой вены. В сыворотке крови показатели определяли энзиматическим методом с помощью наборов Fluitest UREA фирмы Analyticon и Креатинин-ПАП-Ново Вектор-Бест на автоматиче-

ском биохимическом анализаторе Keylab (BPC BioSed srl). Эвтаназию проводили путем одномоментной декапитации под легким наркозом (применялся ксилазин и золетил). При вскрытии тел погибших или выведенных из эксперимента после запланированной эвтаназии крыс почки извлекали из забрюшинного пространства, осматривали макроскопически, фотографировали, взвешивали и фиксировали в 10% нейтральном забуференном растворе формалина для последующего гистопатологического изучения по стандартной методике. Гистологические срезы почек толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, заключали под покровное стекло и изучали на светооптическом микроскопе Leica DM1000. Обработка данных выполнялась с использованием пакета статистических программ GraphPadPrism 6.0 (США). Для регистрируемых количественных переменных рассчитывали параметры описательной статистики, проводили анализ классификаций с построением ROC-кривых и расчетом площади под кривыми (AUC) и дискриминационного уровня cutoff. Данные представлены в виде среднего (M) и его ошибки ( $\pm SEM$ ), 95% доверительного интервала. Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрических критериев Краскела-Уоллиса и Данна (при неравных выборках) и считали значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Анализ новых научных публикаций по ранней диагностике нефротоксичности химических веществ и лекарственных препаратов показал перспективность ряда биомаркеров, проходящих апробацию в мировой клинической практике: креатинин («золотой стандарт»), KIM-1, MCP-1, TGF и ТРА. Применение консерванта ProClin-300 во время сбора суточной мочи существенно сохраняло пептидные биомаркеры от их ферментативной деградации под действием микробной обсемененности при отсутствии влияния на методику анализа (пре- и аналитические факторы). Аналитические параметры методик для оцениваемых биомаркеров были приемлемыми за счет использования видоспецифичных моноклональных антител и составили: ТРА – определяемый диапазон 0,78-50,00 мЕ/мл, чувствительность 0,195 мЕ/мл, специфичность – цитокератина 8,18 и 19 крыс, прецизионность внутрисерийная менее 8%, межсерийная – менее 10%; KIM-1 – диапазон 0,15-20,00 нг/мл, чувствительность 80 пг/мл, специфичность – трансмембранный структурный гликопротеин проксимальный канальцев нефрона почки крыс, прецизионность внутрисерийная менее 15%; MCP-1 – диапазон 3,12-200,00 пг/мл, чувствительность 0,78 пг/мл, специфичность – моноцитарный хемоаттрактантный белок и активирующий фактор MCP-1/MCAF кры-



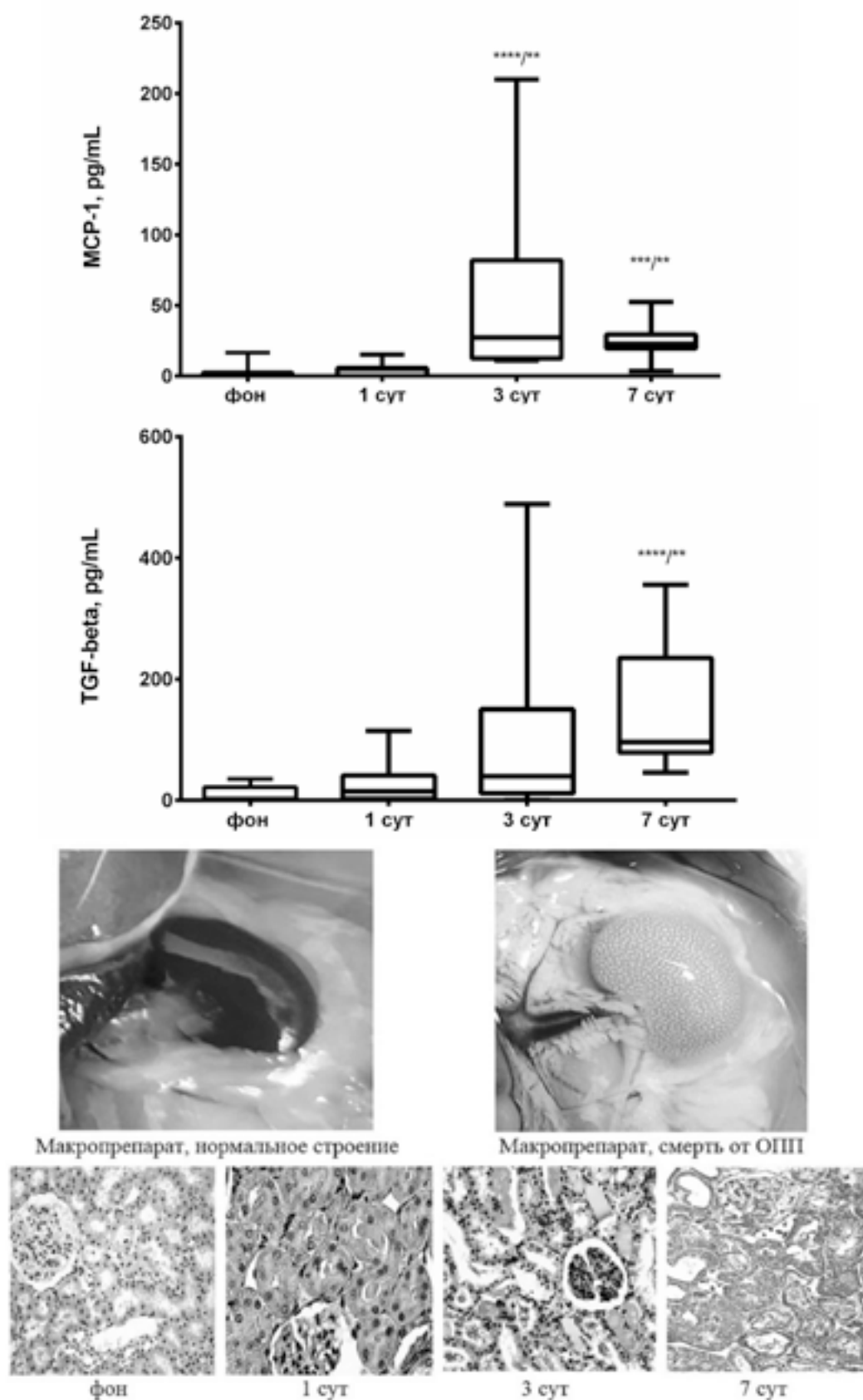
**Рис. 1.** Динамика сывороточного креатинина, уровня молекулы повреждения почек KIM-1 и тканевого полипептидного антигена TPA в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза

сы, прецизионность внутрисерийная менее 8%, межсерийная – менее 10%; TGF- $\beta$ 1 – диапазон 6,25-400,00 пг/мл, чувствительность 1,56 пг/мл, специфичность – трансформирующий ростовой фактор бета-1 крысы, прецизионность внутрисерийная менее 8%, межсерийная – менее 10%.

Полученные данные представлены на рисунках 1 и 2. Анализ совокупности клинических признаков (снижение массы тела, потребления корма, двигательной активности) свидетельствовал о развитии у животных, получавших раствор уранил ацетата дигидрата, выраженной интоксикации. На фоне необратимого повреждения почек наблюдали симметричный кортикальный некроз

(почечный вариант танатогенеза) на 10 сутки у 3 из 12 крыс: на вскрытии околопочечная жировая клетчатка была в стадии лизиса, пространство между капсулой и тканью почек с аутолитическими изменениями заполнено приблизительно 2-2,5 мл жидкости (транссудат), микроскопически – коагуляционный некроз всех элементов коркового слоя обеих почек.

Для классификации образцов на «здоровые» и «больные» был вычислен дискриминационный уровень cutoff, выше значения которого расположены все образцы с явной патологией, а ниже – здоровые. По результатам анализа ROC-кривых отбирали только достоверные значения с AUC выше 0,5, характеризующие высокий уровень чувствительности и специфичности. Исследование динамики уровня мочевых маркеров показало, что TPA существенно увеличивался уже в первые сутки после отравления ураном и статистически значимо отличался от фоновых значений у интактных крыс на 1, 3 и 7 сутки после введения нефротоксина. Экспериментально установленный cutoff TPA составил 5,28 мЕ/мл. Количество животных с уровнем TPA выше cutoff – 9 из 12 на 1 и 3 сутки, 4 из 12 на 7 сутки и 8 из 12 на 14 сутки. Анализ ROC-кривых показал, что площадь AUC на 1 сутки – 0,96 ( $p=0,000111$ ), чувствительность 70,4%, специфичность 82,9%, на 3 сутки – 0,97 ( $p<0,0001$ ), чувствительность 70,8%, специфичность 83,3%. Уровень KIM-1 существенно увеличивался только на 3 сутки ОПП токсического генеза и статистически значимо отличался от фоновых значений у интактных крыс на 3 и 7 сутки эксперимента. Экспериментально установленный cutoff KIM-1 – 0,28 нг/мл. Количество животных с уровнем KIM-1 выше cutoff – 12 из 12 на 3 и 7 сутки, при этом значения выше 8,2 нг/мл на 7 сутки имели прогностическое в отношении летального эффекта значение. Площадь AUC ROC-кривых на 3 сутки – 0,99 ( $p<0,0001$ ), чувствительность 71,0%, специфичность 87,7%, на 7 сутки – 0,99 ( $p<0,0001$ ), чувствительность 71,1%, специфичность 87,7%. Несмотря на описываемое в литературе раннее появление KIM-1 в моче, статистически достоверного увеличения его концентрации в первые сутки после отравления отмечено не было. Мочевая экскреция MCP-1 характеризовалась статистически достоверным увеличением концентрации на 3 и 7 сутки эксперимента. Экспериментально установленный cutoff MCP-1 – 11,70 пг/мл. Количество животных с уровнем MCP-1 выше cutoff – 1 из 12 на 1 сутки, 11 из 12 на 3 сутки и 10 из 12 на 7 сутки после введения нефротоксина. Площадь AUC ROC-кривых на 3 сутки – 0,96 ( $p=0,000111$ ), чувствительность 60,5%, специфичность 93,9%, на 7 сутки – 0,99 ( $p<0,0001$ ), чувствительность 62,1%, специфичность 95,6%. Экскреция TGF- $\beta$ 1 харак-



**Рис. 2.** Динамика уровня моноцитарного хемоаттрактантного белка MCP-1 и трансформирующего ростового фактора TGF-β1 в моче крыс с острым повреждением почек токсического генеза. Динамика морфологических изменений в почках (внизу). Окраска Гематоксилином и эозином. Увеличение x 200



теризовалась статистически достоверным увеличением концентрации на 3 и 7 сутки эксперимента. Экспериментально установленный cutoff TGF- $\beta$ 1 – 34,33 пг/мл. Количество животных с уровнем TGF- $\beta$ 1 выше cutoff – 3 из 12 на 1 сутки, 6 из 12 на 3 сутки и 12 из 12 на 7 сутки после введения нефротоксина. Анализ ROC-кривых показал, что площадь AUC на 3 сутки – 0,81 ( $p=0,0111$ ), чувствительность 60,2%, специфичность 76,4%, на 7 сутки – 0,99 ( $p<0,0001$ ), чувствительность 69,4%, специфичность 90,3%. Анализ динамики сывороточного креатинина у этих же животных показал, что статистически значимое увеличение его уровня отмечено только на 3 сутки после введения нефротоксина. Экспериментально установленный cutoff креатинина – 112,77 мкмоль/л. Количество животных с уровнем креатинина выше cutoff – 2 из 12 на 1 сутки, 7 из 12 на 3 сутки и 9 из 12 на 7 сутки после введения нефротоксина. Анализ ROC-кривых показал, что площадь AUC на 3 сутки – 0,92 ( $p=0,00054$ ), чувствительность 69,6%, специфичность 71,8%, на 7 сутки – 0,99 ( $p=0,00012$ ), чувствительность 78,9%, специфичность 71,5%.

При гистологическом изучении препаратов почек крыс на 1 сутки отмечали диффузное набухание в корковом слое и дистрофическую вакуолизацию цитоплазмы нефротелиоцитов проксимальных канальцев, а также венозную гиперемия. На 3 сутки в почках гемодинамические нарушения микрососудистого русла нарастали, развивался некроз канальцевого эпителия менее чем на 1/3 площади продольного среза и воспалительные изменения в виде лейкоцитарной и лимфогистиоцитарной инфильтрации интерстициальной ткани до 1/3 площади среза. На 7 сутки от 1/2 до 2/3 площади коркового слоя на продольном срезе почки находилось в состоянии коагуляционного некроза (эпителий канальцев в виде гомогенных безъядерных клеточных масс) (рис. 2).

Анализируя полученные результаты, патогенез ОПП токсического генеза может иметь следующую последовательность развития: воздействие токсиканта на нефротелиальные клетки почки, которое приводит к их гибели по пути, как некроза, так и апоптоза, и сопровождается выраженными нарушениями внутрпочечной гемодинамики. В апоптотических клетках цитокератины 8, 18 и 19 образуются путем расщепления каспазой-9, генерируя растворимые фрагменты, обнаруживаемые в моче как ТРА. Анализ динамики этого маркера показывает его раннее статистически значимое увеличение уже в первые 24 ч после воздействия. При микроскопии мочевых осадков через 24 часа было отмечено наличие до 30% живых нефротелиоцитов, наряду с погибшими клетками. Нарастание степени некротической гибели клеток почек и одновременно их

регенерации сопровождается сверхэкспрессией трансмембранного структурного гликопротеина 1 типа КИМ-1, однако максимума этот показатель достигает не ранее 3 суток. В очаги некротической гибели интенсивно поступают моноциты, трансформирующиеся в макрофаги и активирующие фибробласты, что сопровождается массивной продукцией MCP-1 и, позже, TGF- $\beta$ 1, участвующих в иммунологической фазе повреждения и репарации ткани почек.

**Заключение.** На основании поиска биомаркеров нефротоксичности по базе данных PubMed отобраны следующие: сывороточный креатинин, тканевой полипептидный антиген (ТРА), молекула повреждения почки (КИМ-1), моноцитарный хемоаттрактантный белок (MCP-1), трансформирующий ростовой фактор (TGF- $\beta$ 1). На модели острого повреждения почечноксического генеза показана динамика изменения клинико-биохимических показателей и морфологии почек. В эксперименте для отобранных 5 почечных биомаркеров, отражающих величину скорости клубочковой фильтрации (креатинин в крови, cutoff 112,77 мкмоль/л), механизм гибели клеток (ТРА в моче, cutoff 5,28 мЕ/мл), дистрофические изменения и регенерацию (КИМ-1 в моче, cutoff 0,28 нг/мл), воспалительную инфильтрацию и индукцию репарации ткани (MCP-1 в моче, cutoff 11,70 пг/мл и TGF- $\beta$ 1 в моче, cutoff 34,33 пг/мл) определены чувствительность и специфичность на различных сроках острого повреждения почек токсического генеза. Наибольшей чувствительностью обладал ТРА как ранний маркер токсического повреждения почек (70,4% в 1 и 70,8% на 3 сутки), КИМ-1 (на 3 и 7 сутки – 71%), затем, MCP-1 (60,5% в 1 и 62,1% на 3 сутки) и сывороточный креатинин (69,6% на 3 и 79% на 7 сутки), TGF- $\beta$ 1 в моче – на 7 сутки (69%). Наименьшей специфичностью обладал сывороточный креатинин (72% на 3 и 71% на 7 сутки). Самая высокая специфичность была установлена для MCP-1 в моче (94% на 3 и 96% на 7 сутки), затем у КИМ-1 (88% на 3 и 7 сутки), ТРА (82,9% на 1 и 83,3% на 3 сутки), для TGF- $\beta$ 1 специфичность составила 76,4% на 3 и 90,3% на 7 сутки. Сопоставление данных уровня биомаркеров и патоморфологических изменений в ткани почек показало, что для ранней стадии почечного повреждения характерна гибель нефротелиоцитов, как в виде некроза, так и апоптоза, что сопровождается ростом тканевого полипептидного антигена и, затем, КИМ-1 в моче (значения выше 8,2 нг/мл на 7 сутки имели прогностическое в отношении летального эффекта значение). Начиная с 3 суток отравления отмечается инфильтрация почек лейкоцитами, продукция моноцитарного хемоаттрактантного белка, которое сопровождается повышением его уровня в моче, а также повышается уровень креати-

нина в крови. По последовательности увеличения уровня в моче изученные биомаркеры можно расположить в следующий ряд: ранняя стадия дистрофических и некробиотических изменений – ТРА, стадия нарастания некроза канальцевого эпителия и лейкоцитарной инфильтрации – КИМ-1, MCP-1, стадия глубоких некротических изменений – TGF- $\beta$ 1. Изученные маркеры представляют

интерес для использования в качестве диагностических средств при определении стадии патологии почек при отравлении нефротоксичными веществами. Кроме того, эти маркеры могут быть использованы в экспериментальных исследованиях механизмов нефротоксичности при изучении новых веществ и лекарственных препаратов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International supplements* Volume 2/issue 1/ March 2012.
2. Ермоленко В.М., Николаев А.Ю. Острая почечная недостаточность: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.
3. Slater M.B., Gruneir A., Rochon P.A., Howard A.W., Koren G., Parshuram C.S. *Pediatr Drugs* (2017) 19: 59. <https://doi.org/10.1007/s40272-016-0205-1>.
4. Kari J.A., Shalaby M.A., Sofyani K., Sanad A.S., Ossra A.F, Halabi R.S., et al. *World J Pediatr* (2018) 14: 134. <https://doi.org/10.1007/s12519-017-0110-x>.
5. Ostermann M., McCullough P.A., Forni L.G., et al. Kinetics of Urinary Cell Cycle Arrest Markers for Acute Kidney Injury Following Exposure to Potential Renal Insults. *Crit Care Med.* 2018; 46(3):375-383.
6. Connolly M., Kinnin M., McEneaney D., Menown I., Kurth M., Lamont J., et al. Prediction of contrast induced acute kidney injury using novel biomarkers following contrast coronary angiography. *QJM.* 2018 Feb 1;111(2):103-110. doi: 10.1093/qjmed/hcx201.
7. Gerlach C.V., Derzi M., Ramaiah S.K., Vaidya V.S. Industry Perspective on Biomarker Development and Qualification. *ClinPharmacolTher.* 2018 Jan;103(1):27-31. doi: 10.1002/cpt.919. Epub 2017 Nov 16.
8. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. *Rus-LASA.* СПб. 2012; 48 с.
9. Сивак К.В., Стосман К.И., Саватеева-Любимова Т.Н. Функциональное состояние почек и иммунологические нарушения при остром комбинированном воздействии обедненным ураном. *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях.* 2017; 2: 93-98. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-93-98

## REFERENCES:

1. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International supplements* Volume 2/issue 1/ March 2012.
2. Yermolenko V.M., Nikolaev A.D. *Acute renal failure.* - Moscow: GEOTAR-Media, 2010. - 240 p. (in Russian)
3. Slater M.B., Gruneir A., Rochon P.A., Howard A.W., Koren G., Parshuram C.S. *Pediatr Drugs* (2017) 19: 59. <https://doi.org/10.1007/s40272-016-0205-1>.
4. Kari J.A., Shalaby M.A., Sofyani K., Sanad A.S., Ossra A.F, Halabi R.S., et al. *World J Pediatr* (2018) 14: 134. <https://doi.org/10.1007/s-0110-017-12519x>.
5. Ostermann M., McCullough P.A., Forni L.G., et al. Kinetics of Urinary Cell Cycle Arrest Markers for Acute Kidney Injury Following Exposure to Potential Renal Insults. *Crit Care Med.* 2018; 46(3):375-383.
6. Connolly M., Kinnin M., McEneaney D., Menown I., Kurth M., Lamont J., et al. Prediction of contrast induced acute kidney injury using novel biomarkers following contrast coronary angiography. *QJM.* 2018 Feb 1;111(2):103-110. doi: 10.1093/qjmed/hcx201.
7. Gerlach C.V., Derzi M., Ramaiah S.K., Vaidya V.S. Industry Perspective on Biomarker Development and Qualification. *ClinPharmacolTher.* 2018 Jan;103(1):27-31. doi: 10.1002/cpt.919. Epub 2017 Nov 16.
8. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and the European Union Council for the Protection of Animals used for scientific purposes. *Rus-LASA.* SPb. 2012; 48 s. (in Russian)
9. Sivak K.V., Stosman K.I., Savateeva-Ljubimova T.N. Functional state of kidneys and immunological disorders associated with acute combined exposure to depleted uranium. *Medical-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations.* 2017; 2: 93-98. DOI 10.25016/2541-7487-2017-0-2-93-98. (in Russian)

*K.V. Sivak<sup>1</sup>, T.N. Savateeva-Ljubimova<sup>1</sup>, T.A. Gus'kova<sup>2</sup>*

## METHODOLOGICAL APPROACHES TO EARLY DETECTION OF TOXIC ACUTE KIDNEY INJURY BASED ON DYNAMICS OF SOME BIOMARKERS

<sup>1</sup>A.A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, RF Ministry of Healthcare, 197376, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>M.V. Dorogov Yaroslavl Center for the Transfer of Pharmaceutical Technologies, K.D. Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University, 150010, Yaroslavl, Russian Federation

The article presents the results of the experimental toxicological study of rats poisoned with uranyl acetate dihydrate (300 mg / kg body weight). The aim of this study was to develop methodological approaches to the early detection of acute toxic kidney damage on the basis of the dynamics of some biomarkers on 1, 3 and 7 days after nephrotoxin administration. For renal biomarkers reflecting the value of glomerular filtration rate (creatinine in the blood, cutoff 112,77  $\mu$ mol/l) the mechanism of cell death (TPA in urine, cutoff of 5.28 IU/ml), degenerative changes and regeneration (KIM-1 in urine, cutoff of 0.28 ng/ml; at values above 8,2 ng/ml the lethal effect can be expected), the inflammatory infiltration and the induction of tissue reparation (MCP-1 in urine, cutoff 11,70 pg/ml, TGF- $\beta$ 1 in the urine, cutoff 34,33 pg/ml), the sensitivity and specificity have been determined. According to the sequence of urine level increase, the studied biomarkers can be arranged in the following series: early stage – TPA; stage of necrosis growth and leukocyte infiltration – KIM-1, MCP-1, creatinine; stage of deep necrotic changes – TGF- $\beta$ 1. The studied markers are of interest for use as diagnostic tools in determining the stage of kidney disease in nephrotoxic poisoning.

**Keywords:** acute kidney damage, uranium, biomarkers, rats, urine, creatinine, TPA, KIM-1, MCP-1, TGF- $\beta$ 1.

Материал поступил в редакцию 23.01.2019 г.

УДК 59.089 : 543.3 : 628.1/3

# ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ И ТОКСИКОКИНЕТИКА МЫШЬЯКА И СУРЬМЫ ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ

А.В. Бевзюк<sup>1</sup>, С.А. Недовесова<sup>2</sup>,  
В.В. Турбинский<sup>1,3</sup>, А.С. Огудов<sup>4</sup>,  
С.Б. Бортникова<sup>5</sup>, Н.Г. Никифорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 630091, г. Новосибирск, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Минобрнауки России, 630126, г. Новосибирск, Российская Федерация

<sup>3</sup>Управление Роспотребнадзора по Смоленской области, 214018, г. Смоленск, Российская Федерация

<sup>4</sup>ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, 630108, г. Новосибирск, Российская Федерация

<sup>5</sup>ФГБУН «Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А.Трофимука» СО РАН, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация

Создаваемая в районе разработки месторождений сульфидных руд биогеохимическая провинция сурьмы и мышьяка формирует и отличный от обычных условий уровень их обмена в биосфере. Эти элементы наряду с рядом общих свойств элементов полуметаллов, обладают существенными особенностями биологического действия. Целью исследования послужила оценка изменчивости элементного состава тканей печени белых крыс при пероральном поступлении сточных вод хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской с повышенным содержанием сурьмы и мышьяка. Объектами исследования служили: сточная вода шламохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области; ткани печени белых крыс линии Вистар, кровь цельная, моча, кал. Было исследовано содержание – серы, хлора, калия, кальция, титана, марганца, хрома, железа, никеля, меди, цинка, селена, брома, рубидия, стронция, молибдена, мышьяка, ртути, свинца, сурьмы в тканях печени, крови, моче, кале до затравки, через 3 недели затравки и через 1, 2 и 4 недели в период восстановления после затравки. Установлено, что комбинированное пероральное 3-х недельное поступление в организм белых крыс самцов линии Вистар мышьяка в дозах: 10,0-15,1 мкг/кг/сут и сурьмы – в дозах: 4,2-6,1 мкг/кг/сут сопровождается их накоплением в печени и крови и выведением из организма с мочой и калом, параметры токсикокинетики мышьяка свидетельствуют о его абсорбции и элиминации из крови примерно с одинаковой скоростью, тогда как в печени, скорость элиминации мышьяка несколько больше, чем абсорбции, (соответственно:  $t_{1/2}$  - 38 и 49 суток, а константы элиминации и абсорбции - 0,018 и 0,014). Для сурьмы в крови установлено преобладание процессов элиминации над абсорбцией (соответственно:  $t_{1/2}$  - 12 и 22 дня, при константах элиминации и абсорбции – 0,058 и 0,032).

**Ключевые слова:** мышьяк, сурьма, сточные воды шламохранилища, белые крысы, константа абсорбции, константа элиминации.

**Бевзюк Арина Вячеславовна (Bevzyuk Arina Vyacheslavovna)**, студент федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Российская Федерация, arinabevzyuk@yandex.ru  
**Недовесова Светлана Анатольевна (Nedovesova Svetalana Anatol'evna)**, аспирант кафедр анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности, Новосибирского государственного педагогического университета, Россия, nedovesovasweta@mail.ru

**Турбинский Виктор Владиславович (Turbinskij Viktor Vladislavovich)**, доктор медицинских наук, доцент, главный специалист-эксперт Управления Роспотребнадзора по Смоленской области, профессор кафедры гигиены и экологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, vturbinski@mail.ru

**Огудов Александр Степанович (Ogudov Aleksandr Stepanovich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, 630108, г.Новосибирск, Российская Федерация, ogudov.tox@yandex.ru

**Бортникова Светлана Борисовна (Bortnikova Svetlana Borisovna)**, доктор геолого-минералогических наук, профессор, заведующая лабораторией геоэлектробиологии федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А.Трофимука» Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация, BortnikovaSB@ipgg.sbras.ru

**Никифорова Наталья Германовна (Nikiforova Natal'ya Germanovna)**, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой гигиены и экологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, Российская Федерация, natnik@ngs.ru

**Введение.** Анализ особенностей адаптационной изменчивости систем организма в условиях геохимических аномалий среды обитания человека является важной задачей геохимической экологии [5]. Сформулированные В.И.Вернадским, А.П. Виноградовым, В.В. Ковальским [3, 10, 8] основы выявления закономерностей химического взаимодействия живых организмов со средой своего обитания и диапазона оптимальных значений служат научно-методической базой разработки профилактических мероприятий [7, 4, 13]. Металлы и металлоиды обладают общей способностью взаимодействовать с сульфгидрильными группами биологических молекул, содержащими SH-группы, участвующих в проведении нервных импульсов, процессах тканевого дыхания, мышечного сокращения, проницаемости клеточных мембран и т.д. [11]. Взаимодействие ионов металлов и металлоидов с SH-группами приводит к образованию соединений – меркаптид и нарушению течения биохимических процессов, сопровождаемых отравление [1, 17].

*Цель данного исследования* заключалась в оценке изменчивости элементного состава тканей печени белых крыс при пероральном поступлении сточных вод хвостохранилища с повышенным содержанием сурьмы и мышьяка.

Задачами исследования служили: характеристика опасности перорального воздействия сточной воды хвостохранилища золотоизвлекательного рудника на теплокровный организм на примере рудника Комсомольский Кемеровской области; оценка элементного состава тканей печени, цельной крови, мочи, кала самцов белых крыс линии Вистар в контрольной и опытной группах – до воздействия (фон), после 3-х недель воздействия сточной воды, в период восстановления после воздействия через одну, две и 4-е недели; определение химических элементов-маркёров экспозиции и ответа организма, расчёт параметров токсикокинетики мышьяка и сурьмы при пероральном поступлении.

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследования служили: сточная вода хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области; образцы печени, цельной крови, мочи, кала самцов белых крыс линии Вистар с массой тела 250-290 грамм. Материалами исследований служили результаты анализа состава сточных вод хвостохранилища, результаты определения содержания химических элементов - S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr, Mo, As, Hg, Pb, Sb в тканях печени, цельной крови, моче, кале экспериментальных животных. Для проведения эксперимента опытная группа животных сначала в течении 3-х недель из поилок получали для питья сточную воду хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсо-

вольский Кемеровской области с ежедневным учётом объёма выпитой воды группой животных, а в период восстановления водопроводную питьевую воду, что и контроль. Контрольные группы животных запаивались из поилок питьевой водой городского водопровода г.Новосибирска. Отбор образцов органов и тканей проводили после вскрытия животных предварительно наркотизированных крыс внутрибрюшинным введением нембутала в дозе 4 мг/100 г массы тела. Сбор мочи проводили с помощью обменных клеток, в которые животных помещали с утра на 4-4,5 часа.

Определение содержания элементов: S, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr, Mo, As, Hg, Pb, Sb в органах лабораторных животных проводили после предварительной сушки при комнатной температуре. Анализ элементного состава отобранных образцов осуществлялся в лаборатории института ядерной физики СО РАН (Новосибирск) с помощью нейтронно-активационного и атомно-абсорбционного методов. Инструментальный нейтронно-активационный анализ (ИНАА) осуществлялся на исследовательском реакторе ИЯФ СО РАН. Образцы массой 30 - 100 мг облучались в вертикальных экспериментальных каналах реактора в потоке нейтронов 0,98 - 1,0·10<sup>13</sup>нейтрон/см<sup>2</sup>сек в течение 15-20 часов. Наведенная активность измерялась с помощью детектора GEM 25185 фирмы «Ortec» с энергетическим разрешением 1,85 кэВ по линии 1332 кэВ Со60.

Атомно-абсорбционный анализ осуществлялся с помощью атомно-абсорбционного спектрометра «Квант-2А» (Москва, КОРТЭК), укомплектованного дейтериевым корректором неселективного поглощения и соответствующими лампами полого катода, определение тяжелых металлов в образцах проводили в соответствии с требованиями стандартизованных методик. Определение Pb проводили в пламени «пропан-воздух». В качестве образцов сравнения в обоих методах анализа применялись стандартные образцы состава IAEA-SOIL-7, IAEA-336 (Lichen), SRM 1572 (Citrus Leaves), SRM 1575 (Pine Needles).

Расчёт индексов опасности производили в соответствии с [14].

Токсикокинетику сурьмы и мышьяка определяли по параметрам [15]:

константы скорости абсорбции (Ka), элиминации (Kel):

$$\frac{dC}{dt} / C_t = -Ka,el;$$

объём распределения вещества, Vd

$$Vd = \frac{D}{C_0}$$

период полувыведения (t1/2) – время уменьшения (увеличения) концентрации вдвое:

$$t1/2 = \ln 2 / Ka,el = 0,693 / Ka,el$$

Статистическая обработка результатов определения элементного состава внутренних органов экспериментальных животных включала расчет средних величин и статистической значимости различий средних. Статистически значимыми принимались различия средних с достоверностью  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Анализ химического состава сточной воды хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области и расчёты индекса опасности перорального воздействия показали, что из химических элементов состава сточных вод только содержание сурьмы и мышьяка являются опасными для здоровья человека (табл. 1). Критическими органами и системами организма на которые в основном направлено действие сурьмы и мышьяка при пероральном поступлении являются: гормональная, биохимические параметры крови (глюкоза, холестерин), желудочно-кишечный тракт, центральная нервная система, иммунная система, сердечно-сосудистая система.

В ходе эксперимента установлено, что животные контрольной группы ежедневно с питьевой водой получали дозы сурьмы и мышьяка – 0,03 мкг/кг/сут и 0,07 мкг/кг/сут соответственно, тогда

как животные экспериментальных групп – 4,2-6,1 мкг/кг/сут сурьмы и 10,0-15,1 мкг/кг/сут мышьяка, т.е. в 150-200 раз большие. Например, по данным [12, 19] в Кадамджайской (Республика Киргизия) и Ферганской (Республика Узбекистан) сурьмяных провинции суточное поступление сурьмы в организм человека в 7 – 15 раз превышает обычный уровень.

Как было отмечено ранее [18], суточное поступление мышьяка в организм человека составило около 1 мкг/кг, т.е. испытанная доза на порядок выше обычного поступления. Токсичными для эндокринной системы являются концентрации As в питьевой воде выше 200-500 мкг/л [20]. Следовательно испытанная концентрация мышьяка – 0,21 мг/дм<sup>3</sup> относится к диапазону токсичных.

Токсическая доза сурьмы составляет – 100 мг [6] или 1,5 мг/кг, что значительно превосходит испытанные 4,2-6,1 мкг/кг/сут, тогда как среднесуточное поступление сурьмы в организм человека с водой и пищей 50 мкг [2] или 0,7 мкг/кг/сут, соответствует уровню контроля. Сурьма по своим свойствам близка к мышьяку, установлено угнетающее влияние сурьмы на ферменты, участвующие в углеводном, жировом и белковом обмене. Как и мышьяк, сурьма, вызывает иммунодефи-

Таблица 1

**Содержание мышьяка и сурьмы в пробах воды Комсомольского хвостохранилища (Кемеровская область), питьевой воды (г.Новосибирск)**

Элементы	Сточная вода хвостохранилища		Питьевая водопроводная вода г.Новосибирск	
	Концентрация, мг/дм <sup>3</sup>	Индекс опасности	Концентрация, мг/дм <sup>3</sup>	Индекс опасности
S	97	0,22	6,6	0,014
Cl	5,8	0,023	11,2	0,042
K	3,1	0,089	1,3	0,034
Ca	86	0,065	45,1	0,031
Ti	0,0053	0,000003	0,002	0,000001
Cr	0,0012	0,0017	<0,001	0,001
Mn	0,02	0,0010	0,006	0,0003
Fe	0,35	0,0084	0,10	0,002
Ni	0,0012	0,0002	0,001	0,0002
Cu	0,07	0,13	0,01	0,017
Zn	0,042	0,0050	0,034	0,004
Rb	0,0021	0,0054	0,001	0,002
Sr	0,31	0,011	0,29	0,010
Mo	0,0016	0,0037	0,001	0,002
As	0,21	50,3	<0,01	0,21
Pb	0,0011	0,0045	<0,001	0,002
Sb	0,850	15,2	<0,008	0,066

цит [9], нарушает функции различных органов – сердце, почки, ЦНС, печень, легкие, кишечник, лимфатическую систему и др. [16].

Анализ содержания химических элементов в тканях печени самцов белых крыс линии Вистра до и после затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский, а также в восстановительном периоде через 1, 2 и 4 недели показал, что у животных опытных групп статистически достоверные ( $p < 0,05$ ) изменения содержания в тканях органа по сравнению с контролем отмечены для – калия, хлора, кальция, железа, свинца, мышьяка, хрома (табл. 2).

По характеру изменений содержания химических элементов в ткани печени можно отметить следующее:

- после 3-х недель затравки содержание всех отмеченных элементов возрастает;
- увеличенное содержание после затравки сохраняется в течении 4-х недель восстановительного периода – калий;
- увеличенное содержание после затравки в восстановительном периоде нормализуется – хлор, кальций, мышьяк;
- увеличенное содержание после затравки в восстановительном периоде снижается ниже уровня контроля – свинец, хром;
- снижено содержания в восстановительном периоде – железо.

Такое изменение элементного состава тканей печени может свидетельствовать о формировании реакции хронического стресса, повышения глюкокортикоидной активности надпочечников, белок синтетической функции печени в конце затравки и начале восстановительного периода. Снижение же содержания свинца, хрома после 2-ой и 4-ой недели, железа после 4-ой недели восстановительного периода у животных опытных групп ниже уровня контроля, по-видимому, характеризует истощение процессов образования молекул с их участием, что тоже может быть обусловлено уменьшением белоксинтетической активности печени.

По данным таблицы 3 содержание элементов в цельной крови самцов белых крыс линии Вистар после 3-х недельной пероральной затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области и в восстановительном периоде существенно отличалось от контроля по калию, хлору, кальцию, мышьяку, титану, марганцу, меди, хрому, железу, молибдену, никелю, свинцу, ртути, олову, сурьме.

Увеличение концентрации в крови животных опытной группы после 3-х недельной затравки было отмечено для хлора, кальция, мышьяка, сурьмы. Концентрации же титана, марганца, хрома, железа, молибдена, никеля, свинца было снижено в этот период эксперимента.

В восстановительном периоде содержание хлора, мышьяка у животных опытной группы оставаясь повышенным после 1-ой недели, но ко второй и четвертой недели нормализовалось. Содержание сурьмы также нормализовалось только к четвертой недели восстановительного периода. Содержание калия в крови животных опытной группы, напротив, в восстановительном периоде после 2-ой и 4-ой недели увеличивалось.

Повышенное содержание кальция в крови животных опытной группы в начале восстановительного периода к концу 4-ой недели сменилось снижением ниже уровня контроля. Также повышение содержания в 1-ю неделю восстановительного периода меди и хрома в дальнейшем сменилось нормализацией содержания меди и снижением ниже уровня контроля у хрома. Содержание молибдена и никеля, ртути и олова в крови животных опытной группы в течении восстановительного периода то снижалось ниже уровня контроля, то нормализовалось, то превышало его. В результате через 4 недели восстановительного периода у животных опытной группы отмечалось повышенное содержание в крови калия, ртути и олова, и пониженное – кальция, титана и хрома.

Таким образом, подострое пероральное поступление повышенных доз сурьмы и мышьяка в организм белых крыс самцов линии Вистар сопровождалось увеличением их концентрации в печени и крови с последующей нормализацией в восстановительном периоде через 2 недели мышьяка и через 4 недели сурьмы. Вместе с этим, в организме экспериментальных животных опытной группы наблюдался дисбаланс содержания калия, хлора и кальция – гормонально регулируемых элементов, а также элементов входящих в состав окислительно-восстановительных ферментных систем – титан, марганец, медь, хром, молибден, никель, и элементов из группы «тиоловых ядов» - свинец, ртуть, олово.

Можно отметить несколько видов изменений содержания элементов в тканях печени и крови, когда изменения происходили:

- только в сторону увеличения и нормализации, как в печени, так и в крови – калий, хлор, хром, мышьяк, сурьма; только в крови – медь и олово;
- только в сторону уменьшения и нормализации в крови – титан, марганец, молибден, никель, свинец;
- как в сторону уменьшения, так и увеличения и в крови и в печени – хром, только в крови – кальций, только в печени – свинец.

Обращает на себя внимание динамика изменений элементного состава:

- после затравки на фоне повышенного уровня сурьмы и мышьяка в тканях печени и крови в печени - повышено содержание калия, хлоридов, хрома и свинца; в крови – повышено содержание

Таблица 2

**Содержание элементов в тканях печени самцов белых крыс линии Вистар до и после 3-х недельной пероральной затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области (мкг/г сухой массы)**

Элементы	фон	3 недели затравки		1 неделя восстановления		2 недели восстановления		4 недели восстановления	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
S	2772,5	3042,6	3312,8	3457,7	3872,8	3359,1	3260,5	2922,9	2486,8
K	1373,5	3530,9	5688,3*	4703,2	5875,5*	7996,7	11290,3*	11439,4	14882,0*
Cl	377,5	612,8	848,0*	777,1	941,5*	814,1	851,0	852,5	891,0
Fe	300,2	295,2	290,3	313,4	331,5	303,6	293,8	276,2	248,8*
Ca	147,3	217,3	287,3*	263,0	308,8	297,4	331,8	258,4	219,5
Zn	84,3	85,5	86,8	103,0	120,5	99,9	96,8	98,1	96,3
Br	31,7	36,6	41,4	38,6	40,7	41,2	43,9	47,4	53,6
Rb	18,9	21,8	24,8	23,1	24,3	24,0	25,0	27,0	29,9
Cu	13,4	12,2	10,9	13,0	13,9	13,5	13,9	13,1	12,8
Mn	5,59	5,83	6,06	5,37	4,92	5,11	4,85	4,73	4,34
Se	2,70	2,60	2,50	3,10	3,61	3,13	3,15	2,98	2,83
Mo	2,57	2,65	2,74	2,78	2,92	2,90	3,01	3,00	3,11
Ni	0,64	0,75	0,87	0,77	0,80	0,74	0,72	0,65	0,56
Pb	0,59	0,95	1,30*	1,16	1,37	1,20	1,25	1,01	0,81*
As	0,37	0,38	0,54*	0,39	0,42	0,39	0,39	0,37	0,36
Cr	0,26	0,40	0,53*	0,56	0,72*	0,44	0,32*		
Sr	0,11	0,20	0,30	0,24	0,29	0,29	0,34		

Примечание: \* - достоверность различия средних  $p < 0,05$

хлоридов и кальция и снижено содержание – марганца, хрома, железа, молибдена, никеля, свинца, т.е. можно сказать, что биологически активные молекулы, содержащие эти элементы, перераспределились в организме из кровяного русла в ткани органов.

- в период восстановления, после первой недели в печени – на фоне нормализации содержания мышьяка, остаётся повышенное содержание калия, хлора и хрома, а также добавляется повышенное содержание кальция; в крови же на фоне повышенного содержания мышьяка и сурьмы – сохраняется повышенное содержание хлора и кальция, а также добавляется повышенное содержание меди, и сохраняется пониженное содержание только молибдена, а содержание хрома напротив, превысило уровень контроля, тогда как марганца, никеля и свинца – нормализовалось. Следовательно, можно отметить увеличение активности хром- и медьсодержащих ферментов как проявление активности восстановительных процессов в организме.

- после 2-ой недели восстановительного периода в печени – на фоне нормализации содержания мышьяка, остается повышенным только содержание калия и пониженное содержание хрома; в крови на фоне нормализации содержания мышьяка и повышенного уровня сурьмы – повышается только уровень калия, кроме того, возвращаются пониженные уровни марганца, хрома, молибдена, никеля, а также ртути и возрастает содержание олова. Следовательно, проявляется цикличность в реакции организма на токсическое воздействие.

- после 4-х недель восстановительного периода на фоне нормализации содержания мышьяка и сурьмы в тканях организма экспериментальных животных в печени сохраняется повышенный уровень калия и при нормализации содержания остальных элементов, пониженный уровень содержания свинца; в крови также сохранялся повышенный уровень калия, сопровождаемый повышенным содержанием ртути и олова на фоне снижения концентрации кальция, титана и хрома.

**Содержание элементов в цельной крови самцов белых крыс линии Вистар до и после 3-х недельной пероральной затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области (мкг/г сухой массы)**

Элементы	фон	3 недели затравки		1 неделя восстановления		2 недели восстановления		4 недели восстановления	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
K	7639	7127	6614	6312	5497	8715	11118*	12324	15934*
S	4808	4546	4283	4717	4888	4333	3949	3968	3603
Fe	2362	2005	1648*	1708	1411*	1547	1387	1514	1481
Cl	1229	1915	2601*	2728	3541*	2867	3006	2619	2371
Ca	146,7	185,8	225,0*	291,2	396,5*	252,2	213,3	215,7	179,3*
Br	96,3	94,2	92,0	102,3	110,5	105,8	109,3	106,3	106,8
Zn	31,5	31,2	30,9	29,6	28,0	28,8	27,9	29,3	29,8
Rb	9,90	10,6	11,30	10,1	9,62	10,6	11,01	11,7	12,93
As	9,52	10,6	15,60*	10,7	12,80*	10,2	11,78	11,7	11,08
Ti	5,77	4,87	3,97*	5,63	6,39	5,58	5,52	4,46	3,35*
Mn	5,26	4,16	3,07*	4,35	4,54	3,64	2,92*	3,42	3,21
Cu	3,92	3,42	2,93	4,40	5,37*	4,27	4,14	3,71	3,16
Se	1,88	1,86	1,83	2,15	2,45	2,14	2,12	2,01	1,88
Cr	1,67	1,31	0,96*	1,74	2,17*	1,18	0,61*	0,92	0,67*
Mo	1,32	0,83	0,34*	0,54	0,26*	0,37	0,19*		
Ni	1,21	0,87	0,54*	0,78	0,69	0,61	0,44*	0,62	0,64
Pb	1,15	0,94	0,74*	0,99	1,03	0,92	0,85	0,94	0,97
Hg	0,26	0,25	0,25	0,25	0,25	0,17	0,08*	0,24	0,32*
Sn	0,23	0,25	0,26	0,22	0,19	0,32	0,42*	0,39	0,47*
Sr	0,22	0,11		0,20	0,30	0,22	0,23		
Cd	0,11	0,10	0,09	0,11	0,12	0,11	0,11	0,11	0,10
Sb	0,05	0,07	0,21*	0,08	0,14*	0,07	0,09*	0,07	0,08

Таким образом, подострое пероральное комбинированное воздействие в течении 3-х недель мышьяка и сурьмы в дозах соответственно – 10,0-15,1 мкг/кг/сут и 4,2-6,1 мкг/кг/сут вызывает в печени и крови экспериментальных животных белых крыс самцов линии Вистар сразу после воздействия и в период восстановления перераспределение из кровяного русла в ткани органов – марганца, хрома, молибдена, никеля, свинца, повышением содержания калия, кальция и хлоридов, что может характеризовать состояние стресса.

Анализ элементного состава кала экспериментальных животных (табл. 4) показал, что сразу после перорального воздействия сточных вод хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский существенных изменений

в организме экспериментальных животных установлено.

Однако в период восстановления, через 1-у, 2-е недели и особенно через 4-е недели элементный состав кала экспериментальных групп животных существенно отличался от контроля. Эти изменения заключались в том, что в каловых массах снижалось после 4-х недель восстановления содержание кальция, что указывает на его более интенсивное усвоение организмом. Фазовый характер носило содержание в кале калия, молибдена – снижение после 1-ой недели восстановления и увеличение после 4-ой недели восстановления. Также пониженное по сравнению с контролем после 4-ой недели восстановления отмечено содержание в кале железа и марганца, селена. Аналогично калию отмечена динамика



Таблица 4

**Содержание элементов в кале самцов белых крыс линии Вистар до и после 3-х недельной пероральной затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области (мкг/г сухой массы)**

Элементы	фон	3 недели затравки		1 неделя восстановления		2 неделя восстановления		4 недели восстановления	
		Контроль	опыт	Контроль	опыт	Контроль	опыт	Контроль	опыт
Ca	18489	19615	20740	22386	25157	19285	16184	22808	18489*
K	6488	6443	6397	4726	3010*	4280	3834	3675	6488*
S	2445	2604	2764	2469	2334	2333	2197	2743	2445
Fe	833	863	894	984	1104	985	987	1027	833*
Zn	757	820	882	887	955	834	780	867	757
Mn	563	600	637	701	803	726	751	761	563*
Cl	144	162	181	108	53*	82	56*	107	144*
Sr	84,6	90,4	96,3	102,7	115,0	97,5	92,4	103,4	84,6
Cu	81,1	79,8	78,5	93,7	107,5	86,2	78,8	85,7	81,1
Ti	34,6	30,9	27,1	33,6	36,4	33,8	34,1	37,5	34,6
Br	19,7	19,8	20,0	16,9	13,9	17,0	17,1	16,2	19,7
Ni	5,16	5,8	6,39	5,9	6,00	6,1	6,24	6,5	5,16
Rb	4,18	4,7	5,31	4,2	3,57	4,7	5,29	4,4	4,18
Cr	3,51	3,3	3,08	4,2	5,17*	5,4	6,55*	4,6	3,51*
Mo	2,64	2,8	2,91	2,3	1,92*	2,6	2,76	2,2	2,64*
Pb	1,66	1,5	1,28	1,1	0,67*	1,4	1,69*	1,3	1,66*
Se	0,70	0,9	1,03	1,0	1,14	1,2	1,41	1,1	0,70*
As	0,54	0,4	0,29	0,4	0,40	0,4	0,34	0,4	0,54*

содержания в кале хлора – пониженное после 1-й и 2-ой недель восстановления и повышенное после 4-ой недели. Тогда как содержание хрома наоборот, после 1-ой и 2-ой недель восстановления было повышенным, в после 4-ой недели – пониженным. Важным можно считать увеличение содержания мышьяка в кале животных после 4-ой недели восстановления.

Таким образом, анализ кала на содержание элементов свидетельствует, что под влиянием перорального поступления мышьяка и сурьмы в опасных концентрациях в организме задерживаются кальций, железо, марганец, хром и селен. И, напротив, усиливается выведение – калия, хлора, молибдена, свинца и мышьяка.

Анализ содержания химических элементов в сухом остатке мочи экспериментальных животных (табл. 5) показал, что у животных опытной группы по сравнению с контролем через 3 недели затравки в моче повышено содержание серы, кальция, марганца, свинца, мышьяка, хрома и снижено содержание никеля.

После 1-ой недели восстановления в моче животных опытной группы сохранялось повышенное содержание серы, кальция, марганца, меди, свинца, а также добавилось повышенное содержание хлора, титана, меди, селена, молибдена и пониженное ртути, свинца. После 2-ой недели восстановления содержание половины элементов нормализовалось, но повышенные уровни сохранились у серы, хлора, титана, марганца, свинца, появился повышенный уровень у калия и сменился пониженный уровень после 1-ой недели на повышенный после второй. После 4-ой недели восстановления в моче животных опытной группы отмечались превышения уровня контроля по содержанию калия, серы, железа, меди, хрома, никеля и свинца и пониженный уровень содержания хлора.

Таким образом, повышенное поступление мышьяка в течение трёх недель в сопровождалось увеличением его содержания в моче только сразу после периода затравки, в восстановительном же периоде уже через одну неделю его уровень сравнялся с контролем. Но изменения содержания

Таблица 5

**Содержание элементов в сухом остатке мочи самцов белых крыс линии Вистар до и после 3-х недельной пероральной затравки сточной водой хвостохранилища золотоизвлекательного рудника Комсомольский Кемеровской области (мкг/г сухой массы)**

Элементы	фон	3 недели затравки		1 неделя восстановления		2 недели восстановления		4 недели восстановления	
		Конт-роль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
K	19902	20453	21005	18114	17455	25011	35307*	35369	50600*
S	5633	7513	9392*	7795	10718*	7161	8661*	6558	7900*
Cl	2493	2808	3123	3999	4251	4203	3609	3840	2846*
Ca	612	814	1016*	1275	1790*	1104	962	945	809
Br	95	85	75	92	90	95	89	96	87
Rb	41,9	35,8	29,7	34,2	25,3*	35,7	29,0	39,7	34,0
Fe	42	51,3	60,7	43,7	51,9*	39,6	51,0*	38,8	54,5*
Zn	27,9	30,1	32,3	28,6	29,3	27,8	29,2	28,3	31,2
Sr	7,16	8,07	8,98	14,73		15,62			
Mn	1,27	3,26	5,25*	3,41	7,77*	2,85	5,01*	2,68	5,50*
Se	5,04	5,45	5,86	6,32	7,85*	6,28	6,79	5,90	6,03
Mo	6,54	6,11	5,69	6,39	8,41*	5,34	5,42	5,03	5,95
Cu	4,02	4,14	4,25	5,31	7,80*	5,15	6,01	4,48	4,59
Ti	2,91	3,02	3,13	3,49	5,05*	3,46	4,36*	2,77	2,65
Pb	0,28	1,09	1,90*	1,14	2,67*	1,06	2,19*	1,09	2,51*
Ni	1,36	1,12	0,87*	0,99	1,10	0,77	0,70	0,79	1,02*
As	0,14	0,19	0,25*	0,19	0,20	0,19	0,18	0,18	0,17
Cr	0,25	0,51	0,78*	0,68	1,76*	0,46	0,50	0,36	0,55*
Hg	0,16	0,16	0,16	0,14	0,11*	0,21	0,26*	0,26	0,29

других элементов в восстановительном периоде не только сохранялись (сера, марганец, хром, свинец), но и развивались (калий, железо, хлор, титан, медь, селен, молибден, никель, ртуть) то появлялись и исчезали, то меняли направленность с нормального на пониженный (хлор) или пониженного на повышенный (ртуть) уровень, что согласуется с данными полученными на моделях культур клеток животных, в которых показано, что низкие концентрации  $iAs (+3)$  (0,1-0,7 мкМ) стимулируют гормон-индуцируемую транскрипцию, а более высокие нецитотоксические уровни мышьяка (1-3 мкМ) ингибируют транскрипцию [21].

Сопоставляя полученные результаты содержания мышьяка и сурьмы в тканях печени, крови, мочи и кала установлено, что комбинированное пероральное 3-х недельное воздействие в организм белых крыс самцов линии Вистар мышьяка и сурьмы, соответственно в дозах: 10,0-15,1 мкг/кг/сут и 4,2-6,1 мкг/кг/сут сопровождается их накоплением в печени и крови и выведением из организма с мочой и калом. При этом, с мочой выведение мышьяка происходит в течении затравки, а с калом в восстановительном периоде, что подтверждает крити-

ческое значение органов пищеварения в накоплении мышьяка. Установление более длительного периода по сравнению с мышьяком повышенных концентраций сурьмы в цельной крови, как сразу после 3-х недель затравки, так и на протяжении более 2-х недель восстановительного периода, несмотря на меньшие, чем у мышьяка, дозы воздействия свидетельствует о более тесном сопряжении его с молекулярными системами крови. В подтверждение можно отметить снижение концентраций в крови элементов входящих в состав ферментных систем крови – железо, хром, молибден, никель, сопровождаемое в тоже время увеличением их концентрации в моче и кале.

Расчёты параметров токсикокинетики мышьяка и сурьмы в печени и крови самцов белых крыс линии Вистар (табл. 6) показал, что при пероральном поступлении в организм мышьяк поступает и выводится из крови примерно с одинаковой скоростью ( $t_{1/2}$  соответственно 45 и 47 суток, константы абсорбции и элиминации по 0,015). В печени же, скорость элиминации несколько больше, чем абсорбции ( $t_{1/2}$  соответственно - 38 и 49 суток, а константы элиминации и абсорбции - 0,018

**Параметры токсикокинетики мышьяка и сурьмы при подостром пероральном поступлении в организм самцов белых крыс линии Вистар**

Параметры	Печень, Мышьяк		Кровь			
			Мышьяк		Сурьма	
	Абсорбция	Элиминация	Абсорбция	Элиминация	Абсорбция	Элиминация
D	15,1	15	15,1	15	6,1	6
Co	0,38	0,54	10,6	15,6	0,07	0,21
dC	0,16	0,18	5	4,52	0,14	0,13
dt	21	28	21	28	21	28
Ct	0,54	0,36	15,6	11,08	0,21	0,08
Vd	39,7	27,7	1,4	0,96	87,1	28,6
KE(A)	0,014	0,018	0,015	0,015	0,032	0,058
Cl	0,560	0,496	0,022	0,014	2,8	1,7
t1/2	49	38	45	47	22	12

и 0,014). Для сурьмы в крови установлено преобладание процессов элиминации над абсорбцией (t1/2 соответственно - 12 и 22 дня, при константах элиминации и абсорбции – 0,058 и 0,032).

#### Выводы:

1. Под влиянием перорального комбинированного воздействия мышьяка и сурьмы в дозах соответственно – 10,0-15,1 мкг/кг/сут и 4,2-6,1 мкг/кг/сут в печени и крови экспериментальных животных белых крыс самцов линии Вистар сразу после воздействия и в период восстановления происходит: а) перераспределение из кровяного русла в ткани печени – марганца, хрома, молибдена, никеля, свинца; б) повышение содержания калия, кальция и хлоридов; в) задерживание в тканях организма - кальция, железа, марганца, хрома и селен; г) усиление выведения – калия, хлора, молибдена, свинца и мышьяка.

2. Подострое пероральное поступление в организм мышьяк в дозах 10-15,1 мкг/кг/сут сопровождается: а) равновесием его абсорбции и элиминации кровью (t1/2 соответственно 45 и 47 суток,

константы абсорбции и элиминации по 0,015); в печени – преобладанием элиминации над абсорбцией (t1/2 соответственно - 38 и 49 суток, а константы элиминации и абсорбции - 0,018 и 0,014)% а сурьмы в дозах 4,2-6,1 мкг/кг/сут – преобладанием процессов элиминации над абсорбцией в крови (t1/2 соответственно - 12 и 22 дня, при константах элиминации и абсорбции – 0,058 и 0,032).

3. Маркёрами экспозиции перорального поступления в теплокровный организм соединений мышьяка и сурьмы являются увеличение их количества в тканях органов, крови, мочи и кала при воздействии и в восстановительном периоде.

4. Химическими элементами- маркёрами ответа организма на пероральное поступление соединений мышьяка и сурьмы служат: в крови - калий, хлор, кальций, железо, марганец, медь, хром, молибден, никель; в тканях печени – калий, хлор, хром, свинец; в моче – сера, железо, марганец, хром, свинец; в кале – хлор, хром и свинец.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-05-00056).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М., 1991, 496 с.
2. Биохимия и токсикология соединений мышьяка, сурьмы и висмута - [электронный ресурс] - URL: [https://otherreferats.allbest.ru/chemistry/00131620\\_0.html](https://otherreferats.allbest.ru/chemistry/00131620_0.html) [дата обращения - 22.04.2018].
3. Виноградов, А.П. Поиски рудных месторождений по растениям и почвам. Труды Биохимической лаборатории АН СССР. М.: Изд-во АН СССР, 19Вып. С. 3-27.
4. Гурвич В.Б., Плотно Э.Г., Кузмин С.В., Селянина К.П., Рыжов В.В., Макаренко Н.П., Надеенко В.Г. Актуальные проблемы профилактической медицины в Уральском регионе. Сборник научных трудов и научно-практических работ, посвященный 80-летию госсанэпидслужбы России – Екатеринбург.-2002.-с. 76- 81.
5. Ермаков В. В. Геохимическая экология и биогеохимические критерии оценки экологического состояния таксонов биосферы. ГЕОХИМИЯ, 2015, № 3, с. 203-221.
6. Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М.: Медицина, 1989
7. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю. Медико-профилактические технологии для задач управления риском нарушений здоровья населения, ассоциированных с воздействием факторов среды обитания. Фундаментальные исследования. – 20– № 10– С. 665-670;
8. Ковалевский А.Л. Биогеохимические поиски рудных месторождений. 2-е изд., перераб. и доп. М. Недра. – 19– 172 с. ил. 21 с.
9. Макдермотт М, ред. Секреты эндокринологии. Пер. с англ. М-СПб: Бином, Невский диалект, 20464 с.
10. Малюга, Д.П. Биогеохимический метод поисков рудных месторождений - М.: Изд-во АН СССР, 19264 с.
11. Нестерова, Е.Н. Основы токсикологии. Учебное пособие для студентов. - Брянск: Издательство Брянской государственной инженерно-технологической академии, 20-51 с. - <http://davaiknam.ru/text/6-osnovi-toksikokinetiki>
12. Посыланов Г.С., Долгодворов В.Е., Жеруков Б.Х. и др. Растениеводство. Под ред. Г.С. Посыланова.М.:Колос, 2006г. 612с.
13. Рихванов Л.П., Барановская Н.В., Игнатова Т.Н., Судыко А.Ф., Сандимирова Г.П., Пахомова Н.Н. Химический элементный состав органов и тканей человека и его экологическое значение. Геохимия. 20– № С.779-784.
14. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. Руководство. Р 2.1.10.1920-04\* (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 05.03.2004).
15. Современное представление о токсикодинамике и токсикокинетике - <http://myzooplanet.ru/farmakologiya-toksikologiya-veterinaromaya/sovremennoe-predstavlenie-toksikodinamike-15583.html> - [дата обращения 22.12.2018]
16. Сурьма «Рвотный камень» - [электронный ресурс] - URL: <http://pharmacognosy.com.ua/index.php/makro-i-mikro-chudesasurma-ivotniy-kamen> - [Дата обращения - 21.12.2017].
17. Тиоловые яды, механизм действия - [электронный ресурс] - <https://studopedia.org/5-77519.html>
18. Турбинский В.В., Бортникова С.Б. О соотношении мышьяка и сурьмы в биогеохимических провинциях как факторов

риска здоровью. Анализ риска здоровью. - 20- № – С. 136–143.  
 19. Эндемия сурьмы – [электронный ресурс] - URL: <http://belki.com.ua/minerali-entemia.html> (Дата обращения -

27.02.2018  
 20. Del Razo L.M., Garcia-Vargas G.G., Valenzuela O.L., Castellanos E.H., Sánchez-Peña L.C., Currier J.M. et al. Exposure to arsenic in drinking water is associated with

increased prevalence of diabetes: a cross-sectional study in the Zimapán and Lagunera regions in Mexico. *Environ. Health.* 2011; 10: 73-80.  
 21. Gosse JA1, Taylor VF, Jackson BP,

Hamilton JW, Bodwell JE. Monomethylated trivalent arsenic species of disrupt steroid receptor interactions with non-cytotoxic cellular concentrations // *J Appl Toxicol.* 2014 May; 34 (5): 498-5doi: 10.1002 / jat.2898.

## REFERENCES:

1. Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S. Human microelementoses: etiology, classification, organopathology. - M., 1991, 496 p. (in Russian)
2. Biochemistry and toxicology of arsenic, antimony and bismuth compounds - [electronic resource] - URL: [https://otherferats.allbest.ru/chemistry/00131620\\_0.html](https://otherferats.allbest.ru/chemistry/00131620_0.html) (circulation date - 04.22.2018). (in Russian)
3. Vinogradov, A.P. The search for ore deposits in plants and soils. Proceedings of the Biogeochemical Laboratory of the USSR Academy of Sciences. M.: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 19Vol. P. 3-27. (in Russian)
4. Gurvich V.B., Plotko E.G., Kuzmin S.V., Selyankina K.P., Ryzhov V.V., Makarenko N.P., Nadeenko V.G. Actual problems of preventive medicine in the Ural region. Collection of scientific papers and scientific and practical works dedicated to the 80th anniversary of the State Sanitary and Epidemiological Service of Russia - Ekaterinburg.- 20- p. 76-81. (in Russian)
5. Ermakov V.V. Geochemical ecology and biogeochemical criteria for assessing the ecological status of taxons of the biosphere. *GEOCHEMISTRY*, 2015, No. 3, p. 203-221. (in Russian)
6. Ershov Yu.A., Pleteneva T.V. Mechanisms of toxic action of inorganic compounds. M.: Medicine, 1989 (in Russian)
7. Zaitseva N.V., Ustinova O. Yu. Medical and preventive technologies for the tasks of managing the risk of impairment of public health associated with exposure to environmental factors. *Basic research.* - 20- № 10– p. 665-670; (in Russian)
8. Kovalevsky A.L. Biogeochemical search for ore deposits. 2nd ed., Pererab. and add. M. Nedra. - 19- 172 s. silt 21 s (in Russian)
9. McDermott M, ed. *Secrets of endocrinology.* Per. from English M-SPb: Binom, Nevsky dialect, 20464 p. (in Russian)
10. Malyuga, D.P. Biogeochemical method of prospecting for ore deposits - M.: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 19264 p. (in Russian)
11. Nesterova, E.N. *Fundamentals of toxicology.* Textbook for students. - Bryansk: Publishing house of the Bryansk State Academy of Engineering and Technology, 20- 51 p. - <http://davaiknam.ru/text/6-osnovi-toksikokinetiki> (in Russian)
12. Posypanov G.S., Dolgodvorov V.E., Zherukov B.Kh. and other. *Crop. Ed. G.S. Posypanova.M.: Kolos, 20612s.* (in Russian)
13. Rikhvanov L.P., Baranovskaya N.V., Ignatova T.N., Sudyko A.F., Sandimirova G.P., Pakhomova N.N. The chemical elemental composition of human organs and tissues and its ecological significance. *Geochemistry.* 20- № C.779-784. (in Russian)
14. Guidelines for assessing the risk to public health when exposed to chemicals that pollute the environment. Manual. R 2.1.10.1920-04 "(approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on March 5, 2004). (in Russian)
15. Modern understanding of toxicodynamics and toxicokinetics - <http://myzooplanet.ru/farmakologiya-toksikologiya-veterinarnaya/sovremennoe-predstavlenie-toksikodinamike-15583.html> - [appeal date 12/22/2018]
16. Antimony «Gnarly stone» - [electronic resource] - URL: <http://pharmacognosy.com.ua/index.php/makro-i-mikro-chudesa/sumarnotniy-kamen> - (Circulation date - 21.12.2017).
17. Thiol poisons, mechanism of action - [electronic resource] - <https://studopedia.org/5-77519.html>
18. Turbinsky V.V., Bortnikova S.B. On the ratio of arsenic and antimony in biogeochemical provinces as health risk factors. *Health risk analysis.* - 20- № - p. 136-143.
19. Antimony endemia - [electronic resource] - URL: <http://belki.com.ua/minerali-entemia.html> (Address - 27.02.2018)
20. Del Razo L.M., Garcia-Vargas G.G., Valenzuela O.L., Castellanos E.H., Sánchez-Peña L.C., Currier J.M. et al. Exposure to arsenic in diabetes: a cross-sectional study in Zimapán and Lagunera regions in Mexico. *Environ. Health.* 2011; 10: 73-80.
21. Gosse JA1, Taylor VF, Jackson BP, Hamilton JW, Bodwell JE. Monomethylated trivalent species of disrupt steroid receptor interactions with non-cytotoxic cellular concentrations // *J Appl Toxicol.* 2014 May; 34 (5): 498-5doi: 10.1002 / jat.2898.

A.V. Bevzyuk<sup>1</sup>, S.A. Nedovesova<sup>2</sup>, V.V. Turbinskiy<sup>1,3</sup>, A.S. Ogudov<sup>4</sup>, S.B. Bortnikova<sup>5</sup>, N.G. Nikiforova<sup>1</sup>

## ELEMENTAL COMPOSITION OF TISSUES AND TOXICOKINETICS OF ARSENIC AND ANTIMONY ON INTAKE IN MALE WHITE RATS OF THE WISTAR LINE WITH DRINKING WATER

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of the Russia Federation, 630091, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Novosibirsk State Pedagogical University, Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 630126, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>3</sup>Management of Rospotrebnadzor in the Smolensk region, 214018, Smolensk, Russian Federation

<sup>4</sup>Novosibirsk Scientific Research Institute of Hygiene of Rospotrebnadzor, 630108, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>5</sup>A.A. Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics, SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russian Federation

The biogeochemical province of antimony and arsenic created in the area of massive sulphide deposits forms a level of their exchange in the biosphere that is different from the usual conditions. These elements along with a number of common properties of the semi-metals have significant features of biological action. The aim of the study was to assess the variability of the elemental composition of the liver tissues of white rats with oral intake of wastewater from the tailings of Komsomolsk gold mine (Kemerovo region) with a high content of antimony and arsenic. The objects of the study were wastewater from the slurry pits of Komsomolsk gold mine (Kemerovo region); liver tissue of white rats of the Wistar line, whole blood, urine, excrements. The contents of sulfur, chlorine, potassium, calcium, titanium, manganese, chromium, iron, nickel, copper, zinc, selenium, bromine, rubidium, strontium, molybdenum, arsenic, mercury, lead, antimony in the tissues of the liver, blood, urine, excrements before priming, after 3 weeks of priming and after 1, 2 and 4 weeks during the recovery period after priming have been determined. It has been established that combined oral 3 weeks intake of arsenic in a dose of 10,0-15,1  $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{day}$  and antimony in a dose of 4,2-6,1  $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{day}$  in male white rats of the Wistar line is accompanied by their accumulation in the liver and blood and the excretion with urine and excrements, the parameters of the toxicokinetics of arsenic indicate its absorption and elimination from the blood about the same rate, whereas in liver, the rate of elimination of arsenic is somewhat higher than the rate of absorption ( $t_{1/2}$  - 38 and 49 days and constants of elimination and absorption - 0.018 and 0.014, respectively). The predominance of elimination processes over absorption for antimony in the blood ( $t_{1/2}$  - 12 and 22 days, constants of elimination and absorption – 0.058 and 0.032, respectively) has been established.

**Keywords:** arsenic, antimony, slurry pits wastewaters, white rats, absorption constant, elimination constant.

Материал поступил в редакцию 28.02.2019 г.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 574.64:597.556.33(470.12)

## СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЕЧНОГО ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS* (L.)) КРУПНЫХ ВОДОЕМОВ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.Ю. Тропин<sup>1</sup>, М.Я. Борисов<sup>1</sup>, Е.В. Угрюмова<sup>1</sup>,  
А.С. Комарова<sup>1</sup>, Е.С. Иванова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Вологодский филиал ФГБНУ «ВНИРО» (Вологодский филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»), 160012, г. Вологда, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «ЧГУ» (Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Череповецкий государственный университет»), 162600, г. Череповец, Российская Федерация

Представлены данные по содержанию ртути в мышцах речного окуня *Perca fluviatilis* (L.) четырех крупных водоемов Вологодской области (оз. Кубенское и Воже, речная и озерная (оз. Белое) части Шекснинского водохранилища), собранные за период 2007–2018 гг. Концентрация металла варьировала в широких пределах: от 0,01 мг/кг у окуня из оз. Воже до 1,51 мг/кг у такового из оз. Кубенское. Наиболее высокая доля рыб с содержанием ртути, превышающем установленные СанПиН 2.3.2.1078-01 нормы (29,4%), зафиксирована у окуня из оз. Кубенское, в то время как наименьшая – у рыб из оз. Воже (5,4%). В рыбах из Шекснинского водохранилища содержание токсиканта в мышцах не выходило за рамки норм, принятых СанПиН 2.3.2.1078-01. По всем выборкам окуня установлена статистически значимая положительная корреляция между содержанием ртути и линейно-весовыми характеристиками, а также возрастом рыб.

**Ключевые слова:** речной окунь, ртуть, аккумуляция, Вологодская область.

**Введение.** В условиях многофакторного антропогенного воздействия на водные экосистемы, особую актуальность представляют исследования, направленные на выявление ранних и отдаленных последствий токсического воздействия на структурно-функциональные параметры как отдельных гидробионтов, так и их сообществ в целом [1,2,3]. Среди разнообразных токсических веществ наибольшую опасность представляет ртуть, которая при поступлении в водную среду переходит в метильную форму, интенсивно накапливается по трофической цепи и относительно

медленно выводится из организма [4,5,6]. В этом отношении рыбы являются наиболее удобными и адекватными биоиндикаторами ртутного загрязнения, занимая верхний трофический уровень и активно аккумулируя токсикант в органах и тканях [7, 8]. Кроме того, интенсивное накопление металла в мышцах рыб создает потенциальную угрозу поступления метилртути с рыбной продукцией в организм человека, особенно в условиях потребления в пищу наиболее массовых видов. К таковым относится речной окунь (*Perca fluviatilis*, Linnaeus, 1758), который встречается в

**Тропин Николай Юрьевич (Tropin Nikolay Yur'evich)**, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ «ВНИРО», nikolay-tropin1@yandex.ru  
**Борисов Михаил Янович (Borisov Mikhail Yanovich)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ «ВНИРО»,  
myaborisov@mail.ru

**Угрюмова Елена Васильевна (Ugryumova Elena Vasil'evna)**, младший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ «ВНИРО», uev259@yandex.ru  
**Комарова Александра Сергеевна (Komarova Aleksandra Sergeevna)**, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ «ВНИРО»,  
komarowa.aleks@yandex.ru

**Иванова Елена Сергеевна (Ivanova Elena Sergeevna)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель эколого-аналитической лаборатории кафедры биологии ФГБОУ ВО «ЧГУ», stepinaelena@yandex.ru

Морфометрические показатели крупных водоемов Вологодской области

Водоемы	Площадь водного зеркала, км <sup>2</sup> *	Объем водной массы, км <sup>3</sup> *	Длина, км*	Наибольшая ширина, км*	Средняя глубина, м*	S водосбора, км <sup>2</sup> **	Заболоченность водосбора, %**
озерная часть Шекснинского водохранилища (оз. Белое)	1284	5,247	46	33	4,1	13720	22
Речная часть Шекснинского водохранилища	381	1,247	120	18	3,3	5049	20
оз. Воже	418	0,599	64	16	1,8	6206	27
оз. Кубенское	417	1,2	54	10	2,9	14620	15

Примечание: \* – показатели приведены по литературным данным [Веселова, 1977, 1979; Литвинов, 2002];

\*\* – показатели рассчитаны с использованием лицензионного программного продукта ArcGIS

разнотипных водных объектах Европейской части РФ, включая Вологодскую область. Данный вид занимает весомую долю в структуре промышленных уловов и является излюбленным объектом спортивного и любительского рыболовства на крупных водоемах региона: оз. Кубенское и Воже, озерная (оз. Белое) и речная часть Шекснинского водохранилища [9]. Кроме того, в результате предыдущих исследований водоемов Вологодской области (оз. Кубенское и озера Дарвинского заповедника) установлено, что среди рыб наиболее высокие концентрации токсиканта обнаруживаются в мышечной ткани хищных видов, особенно у окуня [10]. Поэтому целью настоящей работы является исследование содержания ртути в мышечной ткани речного окуня крупных рыбохозяйственных водоемов Вологодской области.

**Материалы и методы исследований.** Сбор полевого ихтиологического материала для определения содержания ртути в мышечной ткани окуня проводился в 2007–2018 гг. на основных рыбохозяйственных водоемах Вологодской области. Среди них к наиболее крупным по площади относится Шекснинское водохранилище,

созданное в 1963–1964 годах как часть глубоководного Волго-Балтийского водного пути. Водоем разделяется на озерную (оз. Белое) и речную части, существенно различающиеся по совокупности гидролого-гидрохимических характеристик (табл. 1). Шекснинское водохранилище характеризуется большим объемом водной массы, высокой площадью водосбора, а также незначительной изрезанностью береговой линии. Так, суммарная площадь Шекснинского водохранилища составляет около 1665 км<sup>2</sup>, а объем – 6,52 км<sup>3</sup> [11]. Озера Кубенское и Воже имеют примерно одинаковую площадь водного зеркала, сходные значения средней глубины, высокую степень изрезанности береговой линии, однако площадь водосбора оз. Кубенское в два раза превышает таковую оз. Воже (табл. 1). Кубенское озеро входит в состав Северо-Двинского водного пути, а оз. Воже относится к бассейну р. Онега, которая впадает в Белое море [12; 13]. Таким образом, рассматриваемые крупные водоемы обладают как общими, так и специфическими характеристиками, которые влияют на условия накопления ртути в мышцах рыб, в том числе и речного окуня.

Таблица 2

**Содержание ртути (мг/кг сырой массы) в мышцах окуня крупных водоемов Вологодской области (2007–2018 гг.)**

Водоемы	Н, экз.	Hg, мг/кг $\bar{x} \pm SE$ min-max	Длина тела, см $\bar{x} \pm SE$ min-max	Масса, г $\bar{x} \pm SE$ min-max
озерная часть Шекснинского водохранилища (оз. Белое)	39	$0,17 \pm 0,007$ 0,08-0,29	$26,28 \pm 0,643$ 17-33	$412,82 \pm 27,102$ 100-820
Речная часть Шекснинского водохранилища	21	$0,22 \pm 0,025$ 0,01-0,51	$20,29 \pm 1,119$ 14-32	$184,38 \pm 34,547$ 44-604
оз. Воже	93	$0,29 \pm 0,016$ 0,01-0,75	$20,47 \pm 0,439$ 14-31	$197,34 \pm 12,871$ 60-612
оз. Кубенское	153	$0,51 \pm 0,017$ 0,16-1,51	$22,46 \pm 0,279$ 15-36	$221,40 \pm 9,515$ 54-730
Всего	306	$0,38 \pm 0,012$ 0,01-1,51	$22,19 \pm 0,245$ 14-36	$235,94 \pm 8,384$ 44-820

Примечание. В числителе приведены средние значения и их ошибки ( $\bar{x} \pm SE$ ), в знаменателе – минимальные и максимальные значения показателя.

Отлов рыб осуществлялся с использованием жаберных ставных сетей ячеей 20–70 мм, неводом, а также тралом. Всего было поймано и изучено 306 экз. разноразмерного окуня. Все рыбы были подвергнуты полному биологическому анализу по общепринятым ихтиологическим методикам [14]. Возраст окуня определялся по чешуе и спицам плавников [15]. От каждого экземпляра рыб был взят образец мышечной ткани, который помещался в индивидуальный этикетированный полиэтиленовый пакет и хранился до начала камеральной обработки при температуре  $-4 \dots -16^\circ\text{C}$ . Камеральные работы были выполнены на базе лаборатории физиологии и токсикологии водных животных Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (ИБВВ РАН, пос. Борок), а также в эколого-аналитической лаборатории кафедры биологии ФГБОУ ВО «Череповецкого государственного университета». Содержание ртути в мышечной ткани рыб определяли на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (Люэмэкс) атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки. Точность аналитических методов измерения контролировали с использованием

сертифицированного биологического материала DORM-2 и DOLM-2 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада). Диапазон измерений составлял более трёх порядков [16]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с применением непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ( $\bar{x} \pm SE$ ). Для определения корреляционных связей между количеством токсиканта и длиной тела, массой рыб, а также возрастными группами использовали непараметрический коэффициент Спирмена ( $r_s$ ,  $p < 0,05$ ). Статистическая обработка и анализ данных проводили с использованием программ STATGRAPHICS Plus 2.1, STATISTICA Release 7. Площадь водосбора и его заболоченность рассчитаны с использованием лицензионного программного продукта ArcGIS на основе электронных векторных слоев.

**Результаты и обсуждение.** Содержание ртути в мышцах рыб в целом варьировало в довольно широких пределах. Так, минимальными значениями (0,01 мг/кг сырой массы) характеризовался окунь оз. Воже, а максимальными (1,51 мг/кг сырой мас-

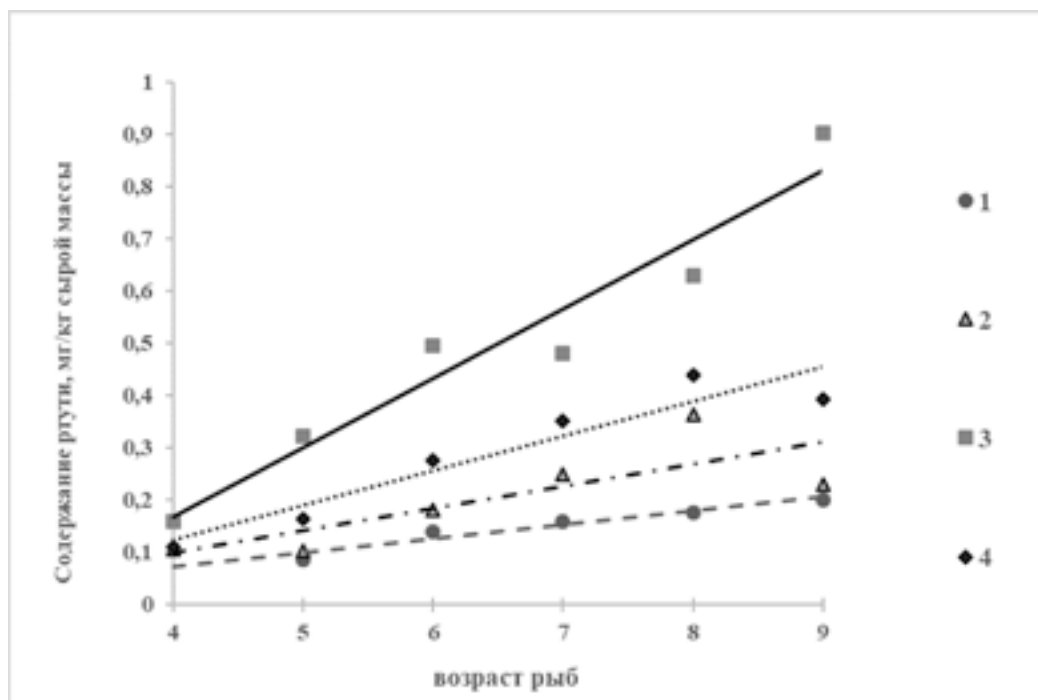
сы) таковой из оз. Кубенское (табл. 2). Такой значительный размах содержания металла в мышцах рыб маркирует как разноразмерность исследованных экземпляров окуня, а также свидетельствует о различных уровнях накопления ртути в мышцах рыб в каждом из рассматриваемых водоемов.

Сравнительный анализ средних значений содержания металла с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) позволил выявить статистически значимые отличия выборки окуня оз. Кубенское от всех остальных (при уровне значимости  $p < 0,05$ ). В этом водоеме среднее содержание ртути в мышцах составило  $0,51 \pm 0,017$  мг/кг сырой массы при том, что согласно норм СанПиН 2.3.2.1078-01, установленных для хищных рыб, в том числе и для речного окуня допустимое значение токсиканта – 0,6 мг/кг сырой массы [17]. Кроме того, для окуня оз. Кубенское характерна высокая доля экземпляров (29,4% от всех изученных рыб), в мышцах которых регистрировались превышающие нормы концентрации металла. Необходимо отметить, что у одного экземпляра окуня, выловленного в районе устья р. Уфтюга (приток оз. Кубенское) зафиксировано содержание ртути равное 1,51 мг/кг сырой массы, что превышает установленную норму СанПиН 2.3.2.1078-01 в 2,5 раза.

Содержание ртути в выборке окуней оз. Воже составляет в среднем  $0,29 \pm 0,016$  мг/кг сырой массы и статистически значимо отличается от такового у рыб оз. Кубенское и Белое (при уровне зна-

чимости  $p < 0,05$ ). Доля рыб с содержанием ртути выше установленных норм СанПиН 2.3.2.1078-01 составляет 5,4% при наибольшей концентрации металла в мышцах равной 0,75 мг/кг сырой массы. Средние концентрация металла в мышцах окуня речной ( $0,22 \pm 0,025$  мг/кг сырой массы) и озерной (оз. Белое) частей Шекснинского водохранилища ( $0,17 \pm 0,007$  мг/кг сырой массы) находятся примерно на одном уровне и является наиболее низкими среди всех изученных выборок. Следует отметить, что статистически значимые различия в содержании ртути между речной частью Шекснинского водохранилища и другими водоемами, за исключением оз. Кубенское не установлены. Кроме того, в выборках рыб, взятых из речной и озерной частей Шекснинского водохранилища, не регистрировались окуни с содержанием ртути в мышцах, превышающее 0,6 мг/кг сырой массы.

Исследование содержания ртути в мышцах окуня в зависимости от длины и массы тела изучаемых рыб подтвердило проявление общих закономерностей аккумуляции токсиканта в органах и тканях [18]. По всем выборкам речного окуня без исключения установлена достоверная положительная зависимость между содержанием ртути в мышцах рыб и их массой ( $r_s = 0,44-0,78$ ,  $p < 0,05$ ), а также длиной тела ( $r_s = 0,42-0,84$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 2). При этом в наибольшей степени корреляция проявляется у выборок из оз. Воже и речной части Шекснинского водохранилища и в меньшей степени для окуня оз. Кубенское.



**Рис.** Возрастная динамика содержания ртути в мышечной ткани окуня крупных водоемов Вологодской области (2007–2018 гг.). Цифрами на рисунке обозначены: 1 – озерная часть Шекснинского водохранилища (оз. Белое); 2 – речная часть Шекснинского водохранилища; 3 – оз. Кубенское; 4 – оз. Воже



Возрастная динамика содержания ртути в мышечной ткани окуня показала закономерное увеличение анализируемого показателя с возрастом рыб всех исследованных выборок (рис.). Наиболее высокий рост концентрации металла регистрировался у окуня оз. Кубенское, а наименьший – для рыб из Шекснинского водохранилища.

Выявленное в ходе проведенных исследований содержание ртути в мышцах окуня крупных водоемов региона в целом сопоставимо с результатами ранее проведенных исследований крупных и малых озер Северо-Запада России, в том числе и расположенных на территории Вологодской области [10; 18]. Так, концентрация токсиканта в рыбах варьировала в пределах от 0,02 до 1,11 мг/кг сырой массы. Максимальные уровни содержания ртути (0,29-0,36 мг/кг) были зарегистрированы в окуне из оз. Ильмень, Кубенское, Полисто и Суоярви, а минимальные (меньше 0,1 мг/кг) – в оз. Онежское, Неро и Чухломское [10].

В ходе изучения выборок окуня из малых озер установлено, что эти водоемы отличались от крупных как уровнями накопления ртути в мышечной ткани, так и зависимостью этого процесса от физико-химических параметров системы «озеро-водосборный бассейн». Так, в светловодных озерах содержание металла составило в среднем 0,23 мг/кг, а в темноводных – 0,14 мг/кг сырой массы [18].

**Заключение.** В условиях речной и озерной частей Шекснинского водохранилища популяция окуня испытывает минимальное воздействие ртутного загрязнения при относительно невысоком содержании токсиканта в мышцах (оз. Белое – 0,17±0,007 мг/кг, речная часть Шекснинского водохранилища. – 0,22±0,025 мг/кг сырой массы), причем вариабельность значений анализируемого показателя также не превышала допустимые значения норм СанПиН 2.3.2.1078-01, установленных для хищных видов рыб (0,6 мг/кг). Активное

перемешивание водной массы в сочетании с широким распространением песчаных донных отложений определяют низкие значения депонирующейся метилртути.

Несколько иная картина прослеживается при анализе содержания ртути в окуне оз. Воже. Значительная площадь водосбора в сочетании с высокой заболоченностью территории, а также преимущественно илистыми грунтами в условиях ускоренного эвтрофирования водоема создает предпосылки для увеличения темпов аккумуляции ртути. В ходе проведенных исследований выявлено, что по сравнению с Шекснинским водохранилищем в данном водоеме концентрация металла в мышечной ткани окуня выше и составляет в среднем 0,29±0,016 мг/кг сырой массы. При этом 5,4% особей окуня имели концентрации, превышающие установленную СанПиН 2.3.2.1078-01 норму.

В условиях экосистемы оз. Кубенское и его водосбора создаются благоприятные факторы (значительная площадь водосбора, высокая его заболоченность, развитая гидрологическая сеть), которые способствуют поступлению ртути в водный объект и ее последующему накоплению в мирных и хищных рыбах, в том числе и в окуне. Проведенные исследования установили, что средняя концентрация ртути в мышцах окуня составляет 0,51±0,017 мг/кг сырой массы. В целом содержание ртути в мышечной ткани окуня варьировало в значительных пределах: от 0,16 до 1,51 мг/кг сырой массы. Причем доля экземпляров рыб, в мышцах которых регистрировались превышающие норму концентрации металла, составляла 29,4% от всех изученных рыб.

Благодарности. Авторы выражают большую признательность коллективу Вологодского филиала ФГБНУ «ВНИРО» за неоценимую помощь в сборе и обработке ихтиологического материала.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Мещерякова О.В., Комов В.Т. Ртуть в рыбах: биохимическая индикация. Биосфера. 2014; 6 (2): 176–186.
2. Lacerda L.D., Malm O. Mercury Contamination in Aquatic Ecosystems: an Analysis of the Critical Areas. Estudos avançados. 2008; 22 (63): 173–190.
3. Кремлева Т.А. Геохимические факторы устойчивости водных систем к антропогенным нагрузкам: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. М.; 2015.
4. Казначеев С.В. Воздействие ртути и ее соединений на организм человека в экологических ситуациях. В кн.: Поведение ртути и других тяжелых металлов в экосистемах. Аналитический обзор. Новосибирск: ГПНТБ СО АН СССР; 1989: С. 122–146.
5. Wiener J.G., Spry D.J., Beyer W.N., Heinz G.H., Redmon-Norwood A.W. Toxicological significance of mercury in freshwater fish, in Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations. Boca Raton, FL: Lewis Publ; 1996.
6. Комов В.Т., Степанова И.К., Гремячих В.А. Содержание ртути в мышцах рыб из водоемов Северо-Запада России: причины интенсивного накопления и оценка негативного эффекта на состояние здоровья людей. Актуальные проблемы водной токсикологии: сб. ст. Борок, 2004; 99–123.
7. Гремячих В.А. Закономерности накопления ртути и биологические последствия действия её сублетальных доз для гидробионтов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок; 2009–123.
8. Моисеенко Т.И., Гашкина Н.А. Биоаккумуляция ртути в рыбах как биоиндикатор уровня загрязнения вод. Геохимия. 2016; 6: 495–504.
9. Тропин Н.Ю. Окунь в крупных водоемах Вологодской области. Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2008; 10: 29–31.
10. Комов В.Т. Содержание ртути в органах и тканях рыб, птиц и млекопитающих Европейской части России. В кн.: Ртуть в биосфере: эколого-геохимические аспекты. М.: ГЕОХИ РАН; 2010; 14–19.
11. Литвинов А.С. Гидрологические особенности Шекснинского водохранилища. В кн.: Современное состояние экосистемы Шекснинского водохранилища. Ярославль: 2002; 5–9.
12. Веселова М.Ф. Природные условия бассейна оз. Кубенского. В кн.: Озеро Кубенское. Ч. Л.: Наука; 1977; 5–15.
13. Веселова М.Ф. Природные условия бассейна озер. В кн.: Гидрология озер Воже и Лача. Л.: Наука; 1979; 5–17.
14. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М.: Пищ. пром-сть; 1966.
15. Чугунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М.: 1956.
16. Лапердина Т.Г. Определение ртути в природных водах. Новосибирск: Наука; 2000.
17. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 14.11.2001 № 36 (ред. от 06.07.2011) «О введении в действие Санитарных правил» (вместе с «СанПиН 2.3.2.1078-2.3. Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы», утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 06.11.2001) (Зарегистрировано в Минюсте РФ 22.03.2002 № 3326).
18. Степанова И. К., Комов В. Т. Накопление ртути в рыбе из водоемов Вологодской области. Экология. 1997; 4: 295–299.

## REFERENCES:

1. Nemova N.N., Lysenko L.A., Meshcheryakova O.V., Komov V.T. Mercury in fish: biochemical indication. *Biosfera*. 2014; 6 (2): 176–186 (in Russian).
2. Lacerda L.D., Malm O. Mercury Contamination in Aquatic Ecosystems: an Analysis of the Critical Areas. *Estudos avançados*. 2008; 22 (63): 173–190.
3. Kremleva T.A. Geochemical factors of resistance of water systems to anthropogenic loads: Avtoref. dis. ... dokt. him. nauk. Moscow; 2015 (in Russian).
4. Kaznacheev S.V. The effects of mercury and its compounds on the human body in environmental situations. In: Behavior of mercury and other heavy metals in ecosystems. Analytical review. Novosibirsk: GPNTB SO AN SSSR, 1989: 122–146 (in Russian).
5. Wiener J. G., Spry D. J., Beyer W. N., Heinz G. H., Redmon-Norwood A.W. Toxicological significance of mercury in freshwater fish, in Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations. Boca Raton, FL: Lewis Publ; 1996.
6. Komov V.T., Stepanova I.K., Gremyachikh V.A. Mercury content in muscles of fish from North-West Russia: causes of intensive accumulation and assessment of negative effect on human health. In: Actual problems of aquatic toxicology: collected papers. Borok, 2004; 99–123 (in Russian).
7. Gremyachikh V.A. Patterns of mercury bioaccumulation and biological effects of its sublethal doses for aquatic organisms: Avtoref. dis. ... kand.biol. nauk. Borok; 2007 (in Russian).
8. Moiseenko T.I., Gashkina N.A. Bioaccumulation of mercury in fish as indicator of water pollution. *Geokhimiya*. 2016; 6: 495–504 (in Russian).
9. Tropin N.Yu. Perch in large reservoirs of the Vologda region. *Rybovodstvo i rybnoe khozajstvo*. 2008; 10: 29–31 (in Russian).
10. Komov V.T. The content of mercury in the organs and tissues of fish, birds and mammals of the European part of Russia. In: Mercury in the biosphere: ecological and geochemical aspects. Moscow, 2010; 14–19 (in Russian).
11. Litvinov A.S. Hydrological features of the Sheksninsky reservoir. In: The current state of the ecosystem of the Sheksninsky reservoir. Leningrad: Nauka, 2002; 5–9 (in Russian).
12. Veselova M.F. Natural conditions of the Kubenskoe lake basin. In: Lake Kubenskoe. Part Leningrad: Nauka, 1977; 5–15 (in Russian).
13. Veselova M.F. Natural conditions of the lakes basin. In: Hydrology of the lakes Vozhe and Lacha. Leningrad: Nauka, 1979; 5–17 (in Russian).
14. Pravdin I.F. Manual of fish study (mainly freshwater). Moscow: Pishch. promst' Publ.; 1966 (in Russian).
15. Chugunova N.I. Guide to the study of age and growth of fish. Moscow; 1956 (in Russian).
16. Laperdina T.G. Mercury determination in natural waters. Novosibirsk: Nauka; 2000 (in Russian).
17. The resolution of the Chief state sanitary doctor of the Russian Federation dated 14.11.2001 № 36 (edited on 06.07.2011) "About introduction in action of Sanitary regulations" (together with "SanPiN 2.3.2.1078-2.3.Food raw materials and food products. Hygienic safety requirements and nutritive value of food products. Sanitary-epidemiological rules and norms", approved. Chief state sanitary doctor of the Russian Federation 06.11.2001) (Registered in Ministry of justice of Russia 22.03.2002 № 3326).
18. Stepanova I.K., Komov V.T. Mercury accumulation in fish from water bodies of the Vologodskaya oblast. *Ekologiya*. 1997; 28 (4): 295–299 (in Russian).

N.Yu. Tropin<sup>1</sup>, M.Ya. Borisov<sup>1</sup>, E.V. Ugryumova<sup>1</sup>, A.S. Komarova<sup>1</sup>, E.S Ivanova<sup>2</sup>

## MERCURY CONTENT IN MUSCLE TISSUE OF PERCH (*PERCA FLUVIATILIS* (L.)) IN LARGE RESERVOIRS OF THE VOLOGDA REGION

<sup>1</sup>Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Vologda Department, 160012, Vologda, Russian Federation

<sup>2</sup>Cherepovets State University, 162600, Cherepovets, Russian Federation

The article presents data on the mercury content in the muscles of perch *Perca fluviatilis* (L.) in four large reservoirs of the Vologda region (Kubenskoe and Vozhe lakes, river and lake (Lake Beloe) parts of the Sheksna reservoir) collected during the period 2007–2018. The metal concentration varied widely: from 0,01 mg/kg for perch from Lake Vozhe to 1,51 mg/kg for perch from Lake Kubenskoe. The highest percentage of fish with mercury content exceeding the established SanPiN 2.3.2.1078-01 norms (29,4%) was recorded in perch from Lake Kubenskoe, while the smallest – in fish from Lake Vozhe (5,4%). In fish from the Sheksna reservoir the content of the toxicant in muscles did not go beyond the accepted SanPiN 2.3.2.1078-01 norms. For all perch samples, a statistically significant positive correlation between mercury content and linear-weight characteristics, as well as fish age, was established.

**Keywords:** perch, mercury, accumulation, Vologda region.

Переработанный материал поступил в редакцию 21.03.2019 г.

## НЕКРОЛОГ

**КРАСОВСКИЙ ГУРИЙ НИКОЛАЕВИЧ**

31 марта 2019 года на 90 году жизни скончался замечательный человек, ученый, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации Гурий Николаевич Красовский.

Г.Н. Красовский родился 16 августа 1929 года.

После окончания в 1954 г. 1-го Московского медицинского института им. И.М. Сеченова и аспирантуры работал там же до 1972 г. С 1972 г. до последних дней жизни работал в НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им.А.Н.Сысина (в настоящее время ФГБУ «ЦСП» Минздрава России).

В 1959 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Роль кальция в развитии эндемического флюороза (экспериментальные данные)», в 1973 г. - докторскую диссертацию на тему «Моделирование интоксикаций и обоснование условий экстраполяции экспериментальных данных с животных на человека при решении задач гигиенического нормирования».

В 1979 г. присвоено ученое звание профессора по специальности гигиена, в 1994 г – ученое звание член-корреспондента РАМН (санитарная токсикология).

Г.Н. Красовский – ведущий специалист в области гигиены воды. Главное содержание его работы на протяжении полувека – токсикологическая оценка химических загрязнений воды, обоснование гигиенических нормативов, методология гигиенического нормирования веществ в воде. Его исследования были направлены на разработку методических основ моделирования интоксикаций и экстраполяции результатов с животных на человека, использование ускоренных методов гигиенического нормирования, совершенствование методов оценки стабильности и трансформации веществ. К этой проблематике следует добавить выбор приоритетных показателей качества воды, вопросы использования биотестирования в гигиене воды, разработку и реализацию концепции гармонизации гигиенических нормативов. Г.Н. Красовским предложены схема этапного нормирования с классификацией веществ по степени токсичности и система критериев вредности и комплексной оценки опасности химических загрязнений окружающей среды. Им унифицированы критерии и методы определения острой и



хронической токсичности, кумулятивности, органолептических свойств; систематизированы способы выявления опасности материалов и технологий, применяемых в гигиене воды; заложены основы изучения токсичных веществ, образующихся при хлорировании воды.

Результаты исследований ученого внедрены в практику в виде порядка 30 нормативно-методических документов, санитарных правил и норм, в

том числе при разработке более 1000 ПДК веществ в воде.

Г.Н. Красовским опубликовано свыше 500 научных работ, включая 16 монографий и книг (в соавторстве). Он имеет 13 авторских свидетельств на изобретения.

Красовский Г.Н. создал научную школу: подготовил 23 доктора и 35 кандидатов медицинских и биологических наук.

Многочисленно руководил в стране и за рубежом симпозиумами, семинарами, заседаниями рабочих групп ВОЗ, СЭВ, ВОЗ/ЮНЕП по проблемам гигиены и токсикологии воды, принимал участие в работе конгрессов, научно-практических конференций, съездов токсикологов, гигиенистов и санитарных врачей. Избирался почетным членом общества гигиенистов Республики Куба, и медицинского общества гигиенистов Народной Республики Болгария.

Являлся членом Проблемной комиссии «Научные основы гигиены окружающей среды», бюро Секции «Гигиена воды и санитарная охрана водоемов», редколлегии журналов «Гигиена и санитария» и «Токсикологический вестник».

За свою многолетнюю работу награжден медалями «За доблестный труд», «В память 850-летия Москвы», «Ветеран труда», Золотой и Серебряной медалями ВДНХ СССР, нагрудным знаком «Отличнику здравоохранения», неоднократно отмечен почетными грамотами Министерства Здравоохранения Российской Федерации и РАМН.

Гурия Николаевича отличала бескомпромиссная преданность науке, высочайший профессионализм, феноменальная эрудиция, готовность поделиться своим богатейшим опытом.

*Светлая память о Гурии Николаевиче Красовском навсегда останется в наших сердцах.*

## НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Руководство по скорой медицинской помощи при острых заболеваниях, травмах и отравлениях / Под ред. Д.Н. Вербового, С.Ф. Багненко, В.В. Бояринцева, В.Г. Пасько. – М.–СПб: Фолиант, 2019. – 228 с.

ISBN 978-5-93929-292-4

Руководство по скорой медицинской помощи при острых заболеваниях, травмах и отравлениях содержит алгоритмы оказания помощи при внезапном ухудшении состояния пациента. В его основу положен принцип преемственности от первой помощи до специализированной медицинской помощи. Издание предназначено для врачей всех специальностей, среднего медицинского персонала и лиц, прошедших обучение по программе оказания первой помощи.

Руководство написано на основании обобщения собственного опыта авторов, действующих рекомендаций по скорой медицинской помощи, а также нормативных документов Министерства здравоохранения РФ. Во вступительных главах рассматриваются вопросы организации скорой медицинской помощи в РФ, основные мероприятия первой помощи, методика сердечно-легочной реанимации. В разделе 1 приведены мероприятия скорой медицинской помощи при острых заболеваниях – заболеваниях органов кровообращения, дыхания, почек и мочевыводящих путей, нервной системы, при «остром животе», коматозных состояниях и кровотечениях. В разделе 2 изложены основные аспекты неотложной помощи при наиболее распространенных травмах – сотрясении, ушибе и сдавлении головного мозга, закрытых травмах сердца и живота, синдроме длительного сдавления, переломах, травматическом и ожоговом шоке, электротравме, перегревании, общем охлаждении, отморожении и утоплении.

Раздел 3 содержит подробную характеристику мероприятий скорой медицинской помощи при острых отравлениях. В отдельных главах этого раздела описаны различные аспекты организации оказания медицинской помощи при острых отравлениях, мероприятия, направленные на предупреждение поступления и ускоренное удаление из организма невсосавшегося и всосавшегося яда, принципы антидотной, патогенетической и симптоматической терапии интоксикаций.



Самая значительная по объему глава Руководства (глава 15) посвящена вопросам оказания неотложной помощи при наиболее распространенных отравлениях: здесь описаны основные симптомы интоксикации, мероприятия первой помощи, первичной доврачебной медико-санитарной помощи, скорой медицинской помощи и специализированной медицинской помощи при острых отравлениях токсикантами 67 различных групп, включая лекарственные препараты, алкоголь и его суррогаты, продукты горения, аварийно-опасные химические вещества, яды животных, растений и грибов, отравляющие и радиоактивные вещества.

В приложениях к Руководству приведена шкала комы Глазго для взрослых и детей, показания и схемы применения антидотов, а также торговые наименования лекарственных средств, используемых в практике скорой медицинской помощи. Завершает Руководство список рекомендуемой литературы, куда вошли действующие законодательные и нормативно-правовые документы, учебники, руководства, указания и клинические рекомендации по различным аспектам оказания неотложной помощи при острых заболеваниях, травмах и отравлениях.

Авторами Руководства являются сотрудники различных медицинских учреждений Управления делами Президента РФ (Вербовой Д.Н., Бояринцев В.В., Евсеев М.А., Крылов В.В., Максимов Д.А., Пасечник И.Н., Пасько В.Г., Репин И.Г., Скобелев Е.И., Титарова Ю.Ю.), Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (Багненко С.Ф., Гребенюк А.Н.) и Центрального научно-исследовательского института организации и информатизации здравоохранения (Дежурный Л.И.). Рецензентами Руководства выступили заведующий кафедрой скорой медицинской помощи Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова заслуженный врач РФ, д.м.н. проф. А.Г. Мирошниченко и заведующий кафедрой скорой медицинской помощи и хирургии повреждений Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова заслуженный врач РФ, д.м.н. проф. И.П. Миннуллин.