

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Toxicological Review*



Научно-практический журнал

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

№ 1 (136), 2016

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

- Н.П. Подосиновичева, М.Л. Александрова, П.А. Качерович, Н.В. Лапина**  
ВТОРИЧНОЕ ПОРАЖЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ (100 СУТОК) ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОГО ОРУЖИЯ ..... 2
- В.В. Бортникова, Л.В. Крепкова, Т.А. Гуськова**  
ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА «САНГВИРИТРИН» НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЖИВОТНЫХ ..... 6
- О.И. Авдеева, М.Н. Макарова, И.Е. Макаренко, П.В. Буренков, М.Г. Шубина, В.А. Кашкин**  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМБИНИРОВАНИЯ БЛОКАТОРА КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ АМЛОДИПИНА С БЛОКАТОРАМИ АНГИОТЕНЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ..... 13
- Б.П. Кузьминов, Т.С. Зазуляк, В.А. Туркина, А.А. Брейдак, Т.А. Алехина**  
ОБОСНОВАНИЕ ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ ДИАЗОЛИНА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА ..... 18
- А.С. Лунёв, К.А. Петросова, М.В. Жукова, К.Э. Терновская, О.Е. Клементьева, Н.П. Лысенко**  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛИОФИЛИЗАТОВ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАДИО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА <sup>68</sup>Ga-ЦИТРАТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ГРЫЗУНАХ ..... 21
- **Из практики**
- В.В. Шилов, В.А. Лукин, В.Е. Савелло, А.М. Антонова, Л.П. Пивоварова, И.В. Осипова, А.В. Рикова, С.С. Гайдук**  
КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПАЦИЕНТА-НАРКОКУРЬЕРА С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ГЕРОИНОМ ..... 31
- **Экологическая токсикология**
- В.С. Безель, С.В. Мухачева**  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННЫХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ..... 36
- Р.А. Ложкина, И.И. Томила**  
ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЕТВИСТОУСОГО РАЧКА *Ceriodaphnia affinis* В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ ..... 42
- **Юбилейные даты**
- Гребенюк Александр Николаевич** ..... 47
- Остапенко Юрий Николаевич** ..... 49
- Шафран Леонид Моисеевич** ..... 51
- БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**
- **Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам** ..... 53
- **Нас спрашивают** ..... 56
- N.P. Podosinovich, M.L. Aleksandrova, P.A. Kacherovich, N.V. Lapina**  
THE SECONDARY DAMAGE TO BIOLOGICAL OBJECTS IN REMOTE PERIOD (100 DAYS) AFTER THE GAS WEAPON APPLICATION ..... 2
- V.V. Bortnikova, L.V. Krepkova, T.A. Guskova**  
PRECLINICAL TOXICOLOGICAL STUDIES OF ANTIMICROBIAL DRUG «SANGUIRITRIN» IN SEXUALLY IMMATURE ANIMALS ..... 6
- O.I. Avdeeva, M.N. Makarova, I.E. Makarenko, P.V. Burenkov, M.G. Shubina, V.A. Kashkin**  
TOXICOLOGICAL EVALUATION OF COMBINATION OF AMLODIPINE CALCIUM CHANNELS BLOCKER WITH ANGIOTENSIN RECEPTOR BLOCKERS ..... 13
- B.P. Kuzminov, T.S. Zazuljak, V.A. Turkina, A.A. Breydak, T.A. Alechina**  
JUSTIFICATION OF DIAZOLINE PERMISSIBLE LEVELS IN OCCUPATIONAL AIR IN CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL INDUSTRIES ..... 18
- A.S. Lunev, K.A. Petrosova, M.V. Zhukova, K.E. Ternovskaya, O.E. Klementyeva, N.P. Lysenko**  
TOXICITY EVALUATION OF SAFETY OF LIOPHILIZATES USED FOR FORMULATION OF THE RADIOPHARMACEUTICAL PREPARATION <sup>68</sup>GA-CITRATE IN EXPERIMENT IN RODENTS ..... 21
- **From Practice**
- V.V. Shilov, V.A. Lukin, V.E. Savello, A.M. Antonova, L.P. Pivovarova, I.V. Osipova, A.V. Rikova, S.S. Gaiduk**  
CLINICAL OBSERVATION OF A PATIENT – DRUG COURIER WITH ACUTE POISONING BY HEROIN ..... 31
- **Ecotoxicology**
- V.S. Besel, S.V. Mukhacheva**  
THE USE OF EXPERIMENTAL TOXICOLOGICAL DATA FOR EVALUATION OF THE STATE OF NATURAL POPULATIONS OF SMALL MAMMALS ..... 36
- R.A. Lozhkina, I.I. Tomilina**  
THE EFFECT OF LANTHANUM ON BIOLOGICAL PARAMETERS OF CRUSTACEANS *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG IN CHRONIC EXPERIMENTS ..... 42
- **Anniversaries**
- Grebeyuk Aleksandr Nikolaevich** ..... 47
- Ostapenko Yuriy Nikolaevich** ..... 49
- Shafran Leonid Moiseyevich** ..... 51
- BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES**
- **New publications on toxicology and related disciplines** ..... 53
- **We are asked** ..... 56

УДК 59.08 : 615.9

## ВТОРИЧНОЕ ПОРАЖЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ (100 СУТОК) ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОГО ОРУЖИЯ

Н.П. Подосиновичева,  
М.Л. Александрова,  
П.А. Качерович, Н.В. Лапина

Федеральное государственное  
учреждение науки «Институт  
токсикологии Федерального медико-  
биологического агентства» (ФГБУН  
ИТ ФМБА) России, 192019, г. Санкт-  
Петербург, Российская Федерация

**З**адачей настоящего исследования явилось выяснение возможности вторичного поражения биологических объектов в отдаленные сроки (100 суток) после применения ирритантов хлорацетофенона, ортохлорбензилиденмалонодинитрила, дибензоксазепина и морфолида пеларгоновой кислоты, как компонентов газового оружия. В модельном эксперименте ирританты наносились на тканевую мишень в количестве, соответствующем расчетной концентрации, возникающей при распылении газового баллончика на расстоянии 0,5 метров и 1,5 метра. Представлены данные по сохранности ирритантов на мишени через 100 суток при открытом способе хранения. Проведена оценка токсичности ирритантов для биологического тест-объекта – зоогидробионтов *Daphnia magna* Straus. Концентрации ирритантов, экстрагируемых с мишени, сопоставлены с их токсичностью для дафний. Установлено, что хлорацетофенон, дибензоксазепин и морфолид пеларгоновой кислоты сохраняют активность и возможность негативного влияния на экосистему более 100 суток после их применения. Ортохлорбензилиденмалонодинитрил через 100 суток при максимальном извлечении с мишени биологическую активность не сохраняет.

**Ключевые слова:** ирританты, сохраняемость на мишенях, вторичное поражение биообъектов, *Daphnia magna*, биотестирование.

**Введение.** Задачей настоящего исследования явилось выяснение возможности вторичного поражения биологических объектов в отдаленные сроки (100 суток) после применения ирритантов, как компонентов газового оружия.

В работе были использованы ирританты хлорацетофенон (CN), ортохлорбензилиденмалонодинитрил (CS), дибензоксазепин (CR) и морфолид пеларгоновой кислоты (МПК), применяемые в качестве компонентов смесей для снаряжения газового оружия самообороны. В эксперименте оценена их стабильность при длительном сроке хранения (100 суток), токсичность для биологического тест-объекта *Daphnia magna* Straus и возможность использования дафний для целей экологического контроля после применения ирритантов.

В качестве тест-объекта были выбраны зоогидробионты *Daphnia magna* Straus. Дафнии яв-

ляются многоклеточными организмами, имеющими целый ряд медиаторных и ферментных систем, аналогичных млекопитающим и считаются одним из наиболее чувствительных тест – объектов в отношении многих экотоксикантов [1-4]. Они интенсивно используются в водной токсикологии благодаря своему малому размеру, короткому жизненному циклу и доступности к лабораторному разведению. Биотестирование проводится на синхронизированной культуре дафний. Синхронизированной является одновозрастная культура, полученная от одной самки путём ациклического партеногенеза в третьем поколении. Такая культура генетически однородна, а её особи обладают близкими уровнями устойчивости к токсическим веществам. Гидробионты представляют одно из начальных звеньев трофической цепи и влияют на состояние биоценоза в целом. Методы биотестирования с использова-

**Подосиновичева Нина Павловна (Podosinivikova Nina Pavlovna)**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фармацевтической и токсикологической диагностики ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, institute@toxicology.ru

**Александрова Марина Леонидовна (Alexandrova Marina Leonidovna)**, кандидат химических наук, заведующая лабораторией фармацевтической и токсикологической диагностики ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, analekt@mail.ru.

**Качерович Полина Андреевна (Kacherovich Polina Andreevna)**, научный сотрудник лаборатории токсикологии ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, institute@toxicology.ru

**Лапина Наталия Вадимовна (Lapina Nataliya Vadimovna)**, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией прикладной токсикологии и фармакологии ФГБУН ИТ ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, lapina2005@inbox.ru.

нием дафний имеют метрологическую аттестацию и описаны в действующей нормативно-технической документации.

**Материалы и методы исследования.** В модельном эксперименте растворы ирритантов наносили на тканевую мишень из хлопчатобумажной ткани округлой формы, диаметром 12 см. Исходное количество каждого вещества соответствовало расчетной концентрации, возникающей при распылении газового баллончика на расстоянии 0,5 метров и 1,5 метра. После хранения образца в течение 100 суток в открытом виде при комнатной температуре, ткань (образец) разрезали на полоски, помещали в пробирку, заливали 20 мл этанола и оставляли на 30 минут при комнатной температуре. С помощью пинцета (в перчатках) извлекали полоски ткани и отжимали их в пробирку от остатков растворителя. Открытую пробирку помещали в горячую водяную баню (70-80°C), упаривали спиртовой раствор до объема 10 мл и передавали для определения концентрации ирритантов и их биологической активности. Полнота извлечения ирритантов составляла порядка 70-80%. Количественное определение ирритантов проводили методом ВЭЖХ, в соответствии с методическими указаниями [5].

Для проведения биотестирования на дафниях использовали методы, описанные в действующей нормативно-технической документации [6,7].

Методики основаны на определении смертности дафний при воздействии водных дисперсных систем, содержащих тестируемые препараты (опыт), по сравнению с чистой водой без препаратов (контроль).

В экспериментах по определению острого токсического действия устанавливали:

1. Среднюю летальную концентрацию тестируемого препарата при экспозиции 48 часов – ЛК<sub>50</sub>.
2. Безопасную концентрацию препарата – БК<sub>10</sub>, вызывающую гибель не более 10% особей.

Дафний разводили в лабораторных условиях в соответствии с требованиями методики [7].

Поскольку ирританты плохо растворимы в воде, их растворяли в этиловом спирте. При приготовлении исходного раствора создавали максимально возможную концентрацию ирританта. Исходный раствор разводили этанолом в 10, 100 и 1000 раз и использовали для установления диапазона чувствительности гидробионтов к ирританту. Для этого вещество в каждом разведении вносили в пробу с дафниями в объеме, не превышающем 1% от объема пробы (0,5 мл при объеме 50,0 мл), в этой концентрации спирт не оказывал на дафний токсического действия. Для установления средней токсичной и безопасной концентраций в предварительно отобранном диапазоне готовили растворы исследуемого вещества в этаноле в 5–10 концентрациях, возрастающих по логарифмической шкале. Спиртовой раствор вносили в пробу с дафниями в объеме, не превышающем 1% от объема пробы. Количество дафний в пробе было равно пяти. Определение токсичности каждой пробы проводили в трех параллельных сериях. В качестве контроля в каждой серии использовали три параллельные пробы с культивационной водой.

**Результаты и обсуждение.** В модельном эксперименте на тканевой мишени при открытом способе хранения была исследована стабильность ирритантов через 100 суток после их нанесения (табл. 1).

Токсическое действие ирритантов на биологический тест-объект было оценено в опытах на гидробионтах *Daphnia magna* Straus. В результате биотестирования установлено, что все исследованные ирританты оказывают на дафний острое токсическое действие (табл. 2). Расчетные значения средней летальной концентрации и безопасной концентрации препаратов представлены в таблице 3.

Таблица 1

### Сохраняемость ирритантов на тканевой мишени

Препарат	Начальное количество вещества, мг	Количество на мишени в % от исходного через 100 суток	Концентрация препарата в спиртовом смыве с мишени, мг/л
CN	10,0	1,7	13,6
	50,0	2,7	108,0
CS	20,0	0	0
	70,0	1,1	61,6
CR	5,0	47,3	189,6
	10,0	-	-
МПК	60,0	50,0	2400,0
	400,0	69,6	22272,0

Таблица 2

**Оценка острой токсичности растворов ирритантов для *Daphnia magna* Straus**

Концентрация ирританта (мг/л)	Гибель дафний (%) при экспозиции 48 часов			
	CN	CR	CS	МПК
0,1	10	0	0	
0,2	40	10	10	
0,4	80	20	0	
0,6	100	20	0	0
0,8	100	40	10	0
1,0		50	0	10
2,0		90	20	10
4,0		100	20	10
5,0		100	40	10
6,0			60	40
8,0			100	50
10,0			100	50
15,0				80
20,0				100
40,0				100

Примечание: в таблице представлены средние значения 3-х независимых экспериментов

Таблица 3

**Расчетные параметры токсичности растворов ирритантов для *Daphnia magna* Straus**

Препарат	Средняя летальная концентрация ( ЛК <sub>50</sub> ), мг/л	Безопасная концентрация (БК10 ), мг/л
CN	0,32±0,04	0,12±0,01
CR	0,89±0,09	0,55±0,06
CS	4,30±0,90	1,50±0,20
МПК	9,60±1,00	5,00±0,7

Как указывалось в методах, ирританты плохо растворимы в воде и для проведения биотестирования их предварительно растворяют в спирте. Поскольку при внесении в пробу с дафниями спиртового смыва или спиртового раствора ирританта происходит его разбавление в 100 раз, для проявления биологической активности концентрация препарата в спиртовом смыве с тестируемой поверхности после упаривания должна в 100 раз превышать расчетное значение средней летальной концентрации.

Из представленных в таблице 3 данных следует, что токсическое действие и возможность вторичного поражения препаратом CN в экспериментах на гидробионтах *Daphnia magna* Straus может быть зарегистрировано в концентрациях, больше или равно 32 мг/л. Препараты CR, CS и МПК будут оказывать токсическое действие при кон-

центрациях, больших или равных 89 мг/л, 430 мг/л и 960 мг/л соответственно. Согласно представленным в таблице 1 данным по изучению стабильности в модельном эксперименте, такая концентрация сохраняется на тканевой мишени при открытом способе хранения больше 100 суток после нанесения на мишень препаратов хлорацетофенона, дибензоксазепина и морфолида пеларгоновой кислоты. Соответственно, в течение этого времени сохраняется возможность вторичного поражения при попадании токсиканта в окружающую среду и выявления его биологической активности в экспериментах с использованием гидробионтов *Daphnia magna*. Препарат CS, в соответствии со своей химической структурой, в отличие от других ирритантов, достаточно легко подвергается гидролизу. Вследствие этого, его количество на мишени при предложенном

способе хранения через 100 суток не превышало 1,1% от нанесенного (табл.1). Максимальная концентрация ирританта в пробе для биотестирования после экстракции с мишени составляла 0,616 мг/л, что существенно ниже порога чувствительности дафний к препарату. Продукты гидролиза ирританта, очевидно, обладали меньшей токсичностью, чем исходное вещество. Вследствие этого, после хранения в открытом виде в течение 100 суток, при максимальном извлечении с мишени, ирритант CS не сохранял свою биологическую активность и не вызывал гибели дафний.

**Выводы.** 1. Компоненты газового оружия – ирританты хлорацетофенон, ортохлорбензилиденмалонодинитрил, дибензоксазепин и морфолид пеларгоновой кислоты оказывают острое токсическое действие на биологический тест-объект – гидробионтов *Daphnia magna* Straus.

2. Биологическая активность и возможность вторичного поражения гидробионтов ирритантами хлорацетофеноном, дибензоксазепином и морфолидом пеларгоновой кислоты сохраняется более 100 суток после их нанесения на мишень. Ортохлорбензилиденмалонодинитрил через 100 суток открытого хранения при максимальном извлечении с мишени биологическую активность не проявляет.

3. В тесте на зоогидробионтах *Daphnia magna* Straus установлен порог концентраций, безопасных для окружающей среды (БК<sub>10</sub>) и предложены процедуры биологического контроля и оценки вероятности вторичного поражения ирритантами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подосиновикова Н.П., Космачев А.Б., Тонкопий В.Д. Новые подходы к анализу взаимоотношений холинергической и дофаминергической медиаторных систем. // Эксп. и клин. фармакол. 2001; 64 (6): 20-22.
2. Тонкопий В.Д., Подосиновикова Н.П., Загребин А.О. *Daphnia magna* Straus как объект для фармакологического анализа ГАМК-ергических препаратов в условиях целостного организма // Эксп. и клин. фармакол. 2005; 68 (5): 55-58.
3. Tonkopyi V. *Daphnia magna* as alternative bioobject in ecotoxicology. In 13 MEGAT Kongress Alternative zum Tierexperiment, Linz. Altex. 2006; 23 (2): 131.
4. Долго-Сабуров В.Б., Подосиновикова Н.П., Петров В.В. и др. К сравнительной оценке токсичности ксенобиотиков // Токсикологический вестник. 2008; (1): 34-36.
5. Методические указания (МУК № 4.1.059-08). Методика выполнения измерения массовой концентрации ортохлорбензилиденмалонодинитрила (CS), хлорацетофенона (CN), дибензоксазепина (CR), капсаициноидов, морфолида пеларгоновой кислоты (МПК) в спиртовом растворе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Издательство ФМБА России, 2008.
6. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06, Т 16.1:2:3:3.9-Методика определения острой токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по смертности дафний (*Daphnia magna* Straus) . М., 2011.
7. ФР. 1.39.2007.032 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. «АКВАРОС». 2007.

## REFERENCES:

1. Podosinovicova N.P., Kosmachev A.B., Tonkopyi V.D. New approaches to the analysis of relations between cholinergic and dopaminergic neurotransmitter systems// Eksp. and Clin. pharmacol. 2001; 64 (6): 20-22 (in Russian).
2. Tonkopyi V.D., Podosinovicova N.P., Zagrebini A.O. *Daphnia magna* Straus as a target for pharmacological analysis of GABA-ergic drugs in the whole organism// Eksp. and Clin. pharmacol. 2005; 68 (5): 55-58 (in Russian).
3. Tonkopyi V.D. *Daphnia magna* as alternative bioobject in ecotoxicology. In 13 MEGAT Congress Alternative zum Tierexperiment. Altex. 2006; 23 (2): 131.
4. Dolgo-Saburov V.B., Podosinovicova N.P., Petrov V.V., A comparative assessment of the toxicity of xenobiotics// Toxicological review. 2008; (1): 34 -36 (in Russian) .
5. Methodical instructions (MI). Methods of measurement of the mass concentration orthochlorobenzilidenmalonodinitrila (CS), chloroacetophenone (CN), CR gas, capsaicinoids, morpholide nonanoic acid in alcoholic solution by high performance liquid chromatography. FMBA of Russia. 2008 (in Russian).
6. FER Т 14.1:2:3:4.12-06, Т 16.1:2:3:3.9-06 Method of determining the acute toxicity of drinking, fresh natural water and sewage, water extracts of soils, sewage sludge and waste mortality of *Daphnia* (*Daphnia magna* Straus). Moscow. 2011 (in Russian).
7. FR. 1.39.2007.03222 «Method of determining the acute toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge, waste mortality and fertility change in *Daphnia*». AKVAROS. 2007 (in Russian).

*N.P. Podosinovicova, M.L. Alexandrova, P.A. Kacherovich, N.V. Lapina*

## THE SECONDARY DAMAGE TO BIOLOGICAL OBJECTS IN REMOTE PERIOD (100 DAYS) AFTER THE GAS WEAPON APPLICATION

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

The objective of the present research was a clarification of possibility of secondary damage to biological objects in a remote period (100 days) after application of irritants chloracetophenone, orthochlorbenzylidenmalonodinitrile, dibenzoxazepine and morpholide of pelargonic acid as components of the gas weapon. In a model experiment, irritants were applied to a fabric target in a quantity corresponding to an estimated concentration arising at the dispersion of a gas spray from a distance of 0.5 meters and 1.5 meters. Data are submitted on a remaining irritant in the target object after 100 days at an open way of storage. The toxicity assessment of irritants to a biological test object zoohydrobiont *Daphnia magna* Straus was carried out. The concentration of irritants extracted from the target object were compared to their toxicity to *Daphnia*. It was established that chloracetophenone, dibenzoxazepine, and pelargonic acid morpholine preserved their activity and possibility to affect an ecosystem more than 100 days after their application. At the maximum extraction from the target, orthochlorbenzylidenmalonodinitrile does not preserve its biological activity 100 days after application.

**Keywords:** irritant, ability preservation in targets, bio objects secondary damage, *Daphnia magna*, bio testing.

Переработанный материал поступил в редакцию 11.11.2015 г.

УДК 615.9:322:616.053

# ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА «САНГВИРИТРИН» НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЖИВОТНЫХ

В.В. Бортникова<sup>1</sup>,  
Л.В. Крепкова<sup>1</sup>, Т.А. Гуськова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), 117216, г. Москва, Российская Федерация  
<sup>2</sup>Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества» (НП СЗ НЦКК), 115191, г. Москва, Российская Федерация

Проведено доклиническое изучение безопасности антимикробного фитопрепарата «Сангвиритрин» на развивающихся животных. Показано, что среднесмертельные дозы при однократном внутривентральном введении «Сангвиритрина» новорожденным крыскам и 3-недельного возраста установлены на уровне  $22,0 \pm 2,5$  мг/кг и  $17,6 \pm 1,5$  мг/кг (самцы),  $18,0 \pm 2,0$  мг/кг (самки), соответственно. Крысы менее чувствительны к токсическому действию «Сангвиритрина», по сравнению с половозрелыми крысами ( $LD_{50}$  10,0–12,0 мг/кг). Длительное, в течение 2 месяцев, пероральное введение субстанции «Сангвиритрина» в дозе 0,5 мг/кг не оказывало повреждающего действия на основные органы и системы организма крысят 3-недельного возраста. При введении «Сангвиритрина» в дозе 5 мг/кг у крысят значительно снижалась масса тела и нарушалась выделительная функция почек. Нанесение 0,2% спиртового раствора и 1% линимента «Сангвиритрина» на кожу новорожденных крысят и 3-недельного возраста в условиях хронических экспериментов показало хорошую переносимость, отсутствие местнораздражающего действия и нежелательных токсических эффектов.

**Ключевые слова:** доклиническое токсикологическое изучение, «Сангвиритрин» 0,2% спиртовой раствор и 1% линимент, крысы 3-недельного возраста и новорожденные.

**Введение.** Оригинальный лекарственный препарат «Сангвиритрин», обладающий широким спектром антимикробного действия, получен из маклей сердцевидной (*Macleaya cordata* (Willd. R.Br.) и маклей мелкоплодной (*Macleaya microcarpa*) семейства Маковые (Papaveraceae). Препарат представляет собой сумму бисульфатов двух близких по структуре и физико-химическим свойствам четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина [1,2]. «Сангвиритрин» известен на фармацевтическом рынке более 30 лет и в настоящее время с успехом назначается взрослым для профилактики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний кожи и слизистых оболочек различной этиологии у взрослых в дерматологии, гинекологии, стоматологии, хирургии, оториноларингологии в виде 1% линимента, 0,2% спир-

тового раствора и 0,1–0,001% водных растворов, приготовляемых *ex tempore* [3–5].

В связи с перспективой применения «Сангвиритрина» в педиатрической практике возникла необходимость его токсикологического изучения на развивающихся животных. Неполовозрелые животные, как и люди, отличаются от взрослых в первую очередь, незрелостью строения и функционирования многих органов и систем организма. От момента рождения и до периода половой зрелости у животных продолжается формирование структуры многих органов и систем, совершенствуются биохимические и физиологические процессы, изменяется активность биотрансформирующих ферментов печени и экскреторной функции почек. Все это может существенно влиять на фармакокинетику и фармакодинамику лекарственных средств, а следовательно, специ-

**Бортникова Валентина Васильевна (Bortnikova Valentina Vasil'evna)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), 117216, г. Москва, Российская Федерация, bortnikova.v@yandex.ru

**Крепкова Любовь Вениаминовна (Krepkova Lyubov Veniaminovna)**, кандидат биологических наук, зав. отделом токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), 117216, г. Москва, Российская Федерация, krepkova2011@yandex.ru

**Гуськова Татьяна Анатольевна (Gus'kova Tatyana Anatol'evna)**, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, руководитель отдела оценки эффективности и безопасности лекарственных средств НП СЗ «Научный центр контроля качества» (НП СЗ НЦКК), 115191, г. Москва, Российская Федерация, tagus@rambler.ru.

фическую эффективность и токсичность. Кроме того, применение ряда лекарственных средств в педиатрии запрещено или ограничено в связи с высоким риском тяжелых, часто специфических для детского возраста побочных эффектов. Учитывая вышесказанное, доклиническое изучение безопасности лекарственных средств, предназначенных для применения в педиатрии, необходимо проводить на развивающихся организмах. В настоящее время развивающиеся («ювенильные») животные признаны стандартным объектом в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов, предназначенных для применения в педиатрической практике. Использование развивающихся животных в качестве экспериментальной тест-системы позволяет моделировать разные онтогенетические периоды развития организма. Это разрешает проводить адекватную оценку безопасности применения лекарственных препаратов в конкретной возрастной группе пациентов (новорожденные, дети, подростки) [6-9].

Доклинические исследования лекарственных препаратов, рекомендуемых для детей, проводят в соответствии с существующими правилами лабораторной практики, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти РФ (Приказ МЗ РФ от 23 августа 2010 г. N 708н «Об утверждении правил лабораторной практики и «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [10,11].

*Цель исследования* – доклиническое токсикологическое изучение субстанции и лекарственных форм «Сангвиритрина» 0,2% спиртового раствора и 1% линимента на неполовозрелых животных, включая новорожденных.

**Материалы и методы исследования.** На исследовании находились субстанции и готовые лекарственные формы «Сангвиритрина»: 1% линимент, гидрофильную основу которого составлял эмульгатор № 1, твин-80, касторовое масло и 0,2% спиртовой раствор для наружного применения.

Токсичность субстанции препарата «Сангвиритрин» в виде 1,0% и 3,0% свежеприготовленных водных растворов изучали при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном способах введения крысам 3-х недельного возраста (отъемыши, масса тела 25-30 г, самцы, самки). Токсичность субстанции препарата в виде 0,1% водного раствора изучали на новорожденных крысах (3-4 – дневного возраста с массой тела 8-9 г) при однократном внутрибрюшинном введении в объемах 0,1- 0,18 мл на 8 г массы тела. При оценке острой токсичности использовали метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу [12].

Изучение хронической токсичности «Сангвиритрина» проводили на крысах-самцах 3-не-

дельного возраста (масса тела 25-30 г). Субстанцию препарата вводили ежедневно в течение 2 месяцев перорально в дозах 0,5 и 5 мг/кг. Выбор экспериментальных доз препарата осуществляли с учетом результатов хронического эксперимента на половозрелых животных и показателей среднесмертельных доз для крысят соответствующего возраста при введении в желудок [6,13]. Максимальная из испытанных доз – 5,0 мг/кг, соответствовала 1/80 от ЛД<sub>50</sub> при введении «Сангвиритрина» в желудок крысам 3-недельного возраста. 0,2% спиртовой раствор и 1% линимент «Сангвиритрина» наносили на депилированный участок кожи спины размером 1x1 см ежедневно в течение 2 месяцев. Контрольные животные получали соответственно 0,2% этанол или плацебо линимента в эквивалентных объемах. Во время хронических опытов следили за общим состоянием животных: поведением, двигательной активностью, аппетитом, динамикой массы тела. Каждые 4 недели проводили исследование морфологического состава периферической крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, содержание гемоглобина), ряд биохимических показателей (общий белок, общий холестерин, мочевины) и активность некоторых ферментов сыворотки крови (ацетилхолинэстераза, щелочная фосфатаза, аланин- и аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназа), с использованием общепринятых стандартных методов. На 4 и 8-й неделях опытов исследовали функциональное состояние центральной нервной системы – с использованием теста ориентировочных реакций в условиях «открытого поля», и почек с применением 3% водной нагрузки, а также функциональное состояние сердечно-сосудистой системы при снятии параметров электрокардиограмм во II стандартном отведении на полиграфе «Салют». В конце эксперимента проводили эвтаназию животных в СО<sub>2</sub>-камере, определяли коэффициенты массы внутренних органов и проводили их макро- и микроскопическое изучение, при этом срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Исследования выполнены на кафедре патологической анатомии РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Все цифровые данные обрабатывали статистическим методом с использованием критерия «t» Стьюдента.

В дополнительном эксперименте проводили доклиническое изучение безопасности 1% линимента и 0,2% спиртового раствора «Сангвиритрина» на новорожденных крысах (3-4 – дневного возраста с массой тела 8-9 г). Подбор животных в экспериментальные группы осуществляли с учетом родившихся крысят, оставляя при этом по 5 новорожденных в помете. Каждую экспериментальную группу составляли 2 помета по 5 крысят в каждой. Лекарственные

формы препарата наносили на кожу поясничной области крысят, площадью 1 см<sup>2</sup>, ежедневно 1 раз в сутки, в течение 4-недель, «Сангвиритрина» 1% линимент – в дозе 375 мг/кг, спиртовой раствор 0,2% – в дозе 75 мг/кг (по действующему веществу). Контрольные животные получали аппликации плацебо линимента или 0,2% этанола. Выбор экспериментальных доз проводили с учетом терапевтических доз, рекомендованных в педиатрической практике, и возможности нанесения лекарственных форм препарата на участок кожи новорожденных животных. После проведения соответствующих манипуляций, крысят отсаживали на 30 минут от матери, затем их снова возвращали в гнездо. Самок с крысятами содержали в индивидуальных клетках со свободным доступом к пище и воде. В течение исследования регистрировали показатели здоровья животных: прирост массы тела (еженедельно), выживаемость (ежедневно), физическое развитие по общим интегральным показателям: отлипание ушных раковин, появление шерсти, открытие глаз; оценивали скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов с использованием тестов: переворачивание на плоскости (8-й день), избегание обрыва (9-й день). В конце эксперимента однократно брали пробу периферической крови для гематологических и биохимических исследований и оценивали функциональное состояние центральной нервной системы в тесте «открытое поле». Затем осуществляли эвтаназию животных, вскрывали, органы взвешивали, проводили их макро- и микроскопическое исследование.

**Результаты и обсуждение.**

**Исследование токсичности «Сангвиритрина» на крысятах 3-недельного возраста**

При однократном внутрибрюшинном введении крысятам 3-недельного возраста субстанции «Сангвиритрина» в дозах 10 и 15 мг/кг у животных отмечали снижение двигательной активности, сменявшееся в последующие 10-20 минут выраженным угнетением и адинамией. При

увеличении дозы «Сангвиритрина» до 20 и 30 мг/кг, явления интоксикации нарастали, гибель 50% животных была зарегистрирована в конце первых суток после введения исследуемого вещества. ЛД<sub>50</sub> «Сангвиритрина» при внутрибрюшинном введении крысятам (самцы и самки) соответственно составили 17,6 и 18,0 мг/кг (табл. 1).

При однократном введении «Сангвиритрина» в желудок в интервале доз от 100 до 150 мг/кг, признаков интоксикации у крысят 3-недельного возраста не наблюдали. С увеличением дозы вещества до 300-400 мг/кг у животных через 10-15 минут отмечали двигательное возбуждение, беспорядочность, сменявшееся в последующие 30-40 минут заметным угнетением, которое продолжалось в течение 3-4 суток. У более 50% крысят на 4-5-е сутки зарегистрирована диарея и гибель. Как показали результаты исследования, при однократном введении «Сангвиритрина» в желудок крысятам 3-недельного возраста показатели ЛД<sub>50</sub> возрастают почти в 20 раз, по сравнению с ЛД<sub>50</sub> при внутрибрюшинном введении, что может свидетельствовать о его слабой всасываемости из желудочно-кишечного тракта (табл. 1.)

Анализ полученных результатов показал, что при однократном внутрибрюшинном введении чувствительность крысят 3-недельного возраста к препарату была статистически достоверно ниже, по сравнению с половозрелыми животными, а при внутрижелудочном способе введения – приблизительно одинаковой. По показателям ЛД<sub>50</sub> субстанция «Сангвиритрина» относится к классу умеренно токсичных веществ [14].

В условиях 2-х месячного введения субстанции препарата в желудок 3-недельным крысятам в испытанных дозах наблюдали снижение их массы тела, статистически достоверно выраженное в группе животных, получавших «Сангвиритрин» в дозе 5,0 мг/кг, по сравнению с контролем (табл. 2).

В течение хронического эксперимента «Сангвиритрин» в испытанных дозах не оказывал су-

Таблица 1

**Показатели средних смертельных доз «Сангвиритрина» при однократном введении лабораторным животным**

Вид и пол животных	Показатели ЛД <sub>50</sub> ±m, мг/кг	
	Внутрибрюшинно	Внутрижелудочно
Крысята 3- недельного возраста, самцы	17,6±1,5*	495±35
Крысята 3- недельного возраста, самки	18,0±2,0*	505±69
Крысы Вистар, самцы (половозрелые)	12,0± 0,9	510± 76
Крысы Вистар, самки (половозрелые)	10,0± 1,1	470± 63

Примечание: \* – здесь и в последующих таблицах достоверность различий с контролем (\*P<0,05)



щественного влияния на морфологический состав периферической крови крысят. Количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов уровень гемоглобина и гематокрита, а также гемограммы у животных опытных групп соответствовали контролю и физиологическим показателям для данного возраста и вида животных.

Анализ биохимических показателей и активности некоторых ферментов сыворотки крови, увеличение которых характеризует наиболее ранние изменения функционального состояния печени, показали, что в условиях длительного введения «Сангвиритрина» в дозах 0,5 и 5,0 мг/кг, содержание общего белка, общего холестерина, глюкозы, мочевины, а также активность аламин- и аспартаттрансаминаз, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови крысят опытных групп не имели статистически значимых различий с контролем.

При исследовании влияния «Сангвиритрина» на функциональное состояние почек в условиях водной нагрузки, зарегистрировано нарушение динамики и суммарного диуреза на 8 неделе хронического эксперимента у крысят, получавших «Сангвиритрин» в дозе 5,0 мг/кг. Это характери-

зовалось умеренной олигурией в первые два часа проведения теста (количество выделившейся мочи, в первые два часа суммарно составляло 43,2% от водной нагрузки по сравнению с 84,1% в контроле) и статистически достоверным снижением суммарного диуреза за 5 часов проведения пробы (табл. 3).

Исследование функционального состояния центральной нервной системы крысят, подвергавшихся длительному внутрижелудочному введению «Сангвиритрина» в дозах 0,5 и 5,0 мг/кг, не выявило статистически значимых изменений в ориентировочных и поведенческих реакциях крысят по сравнению с контролем.

Под действием «Сангвиритрина» в испытанных дозах у крысят не установлено различий коэффициентов массы внутренних органов: сердца, легких, почек, печени, надпочечников, тимуса, семенников, по сравнению с контролем. Макро- и микроскопические исследования, проведенные в конце хронического эксперимента, не выявили повреждающего действия изучаемого препарата на внутренние органы крысят.

Таким образом, длительное пероральное введение субстанции «Сангвиритрина» крысятам 3-недельного возраста в дозе 0,5 мг/кг, не вызы-

Таблица 2

### Динамика массы тела крысят (в % к исходной), получавших в течение 2 месяцев «Сангвиритрин»

Периоды наблюдения, недели	Группы животных		
	Контроль, вода	Сангвиритрин 0,5 мг/кг	Сангвиритрин 5,0 мг/кг
2	262,0±9,2	242,5±22,1	191,4±16,9*
4	496,1±28,9	408,4±36,8	388,2±25,0*
8	572,5±39,4	539,2±41,4	486,7±37,7

Таблица 3

### Показатели диуреза крысят (в % к водной нагрузке), получавших в течение 2 месяцев «Сангвиритрин»

Периоды наблюдения, часы	Группы животных		
	Контроль, вода	Сангвиритрин 0,5 мг/кг	Сангвиритрин, 5,0 мг/кг
1	48,0±6,2	45,8±9,2	21,0±9,9
2	36,1±5,1	34,4±6,8	22,2±5,0
3	9,5±4,9	8,4±3,7	8,0±1,2
4	5,6±2,3	5,5±3,9	9,0±3,2
5	15,2±4,7	12,0±3,4	11,0±6,2
За 5	114,4±10,4	106,1±11,4	71,2±8,7*

вало у животных повреждающего действия основных внутренних органов по исследованным показателям. При введении «Сангвиритрина» в течение 2 месяцев в дозе 5 мг/кг у крысят-отъемышей, как и в эксперименте на половозрелых крысах, наблюдали признаки интоксикации в виде снижения массы тела и нарушения функционального состояния почек.

При 2-месячных аппликациях готовых лекарственных форм «Сангвиритрина» в виде 0,2% спиртового раствора и 1% линимента на депилированный участок кожи 3-недельных крысят, ни по одному из использованных тестов не выявлено токсического действия препарата на кровь, функциональное состояние центральной нервной системы, печень, почки. Визуально на месте длительного нанесения препаратов не обнаружено признаков раздражающего действия. При патогистологическом исследовании внутренних органов крысят не установлено морфологических изменений, связанных с токсическим действием лекарственных форм «Сангвиритрина». Аналогичные результаты были получены в ранее проведенном токсикологическом исследовании на половозрелых животных [13].

#### ***Исследование токсичности «Сангвиритрина» на новорожденных крысятах***

Изучение токсичности субстанции «Сангвиритрина» при однократном внутрибрюшинном введении крысятам 3-4 дневного возраста показало, что введение препарата в дозах 10 и 15 мг/г не вызывало признаков интоксикации у новорожденных животных. После подсадки в гнездо у крысят была активная сосательная функция, не нарушена терморегуляция и в течение всего периода наблюдения не отмечено гибели животных. При увеличении дозы до 23 – 26 мг/кг, через 2 минуты после введения препарата у крысят отмечали учащенное дыхание, цианоз кожных покровов. При подсадке их в гнездо наблюдали отказ от сосания, снижение температуры тела и гибель 60-65% животных в течение первого часа наблюдения. Последующей гибели животных в течение всего срока наблюдения отмечено не было, при этом установлен следующий показатель ЛД<sub>50</sub> для новорожденных крысят – 22,0±2,5 мг/кг. Анализируя полученные данные, можно отметить, что ЛД<sub>50</sub> при однократном внутрибрюшинном введении «Сангвиритрина» новорожденным крысятам статистически значимо не отличается от показателей ЛД<sub>50</sub> при аналогичном способе введения крысятам 3-недельного возраста (17,6 -18,0 мг/кг), но статистически достоверно выше ЛД<sub>50</sub> для половозрелых крыс (10,0 – 12,0 мг/кг), что может свидетельствовать о меньшей чувствительности новорожденных крысят к токсическому действию «Сангвиритрина».

При назначении новорожденным крысятам лекарственных препаратов для наружного применения в условиях системной экспозиции, необходимо учитывать анатомо-физиологические особенности барьерной функции кожи новорожденных (тонкость рогового слоя, обильное кровоснабжение, слабовыраженный подкожный жировой слой), в связи возможностью проявления резорбтивного действия. Это явилось обоснованием для проведения токсикологических исследований лекарственных форм «Сангвиритрина» на новорожденных крысятах [8].

Изучение токсичности лекарственных форм «Сангвиритрина» – 0,2% спиртового раствора и 1% линимента, в условиях длительных 4-недельных аппликаций показало, что исследуемые лекарственные формы не влияли на общее состояние и поведение новорожденных животных. Крысята были подвижны, активно сосали и нормально развивались. Как показали результаты исследования, в контрольных и подопытных группах проходило однотипное физическое развитие и сенсорно-двигательное созревание крысят: появление первичного волосяного покрова, отлипание ушной раковины, прорезывание резцов, открытие глаз, переворачивание на плоскости, избегание обрыва, ползание. С 18 дня жизни полностью функционировали органы чувств и появились комплексные двигательные реакции – исследовательское поведение. В условиях длительных аппликаций «Сангвиритрина» 1% линимента и 2% спиртового раствора, визуально и под лупой, не отмечено признаков раздражения кожи крысят; ни в одной из экспериментальных групп не зарегистрировано их гибели. Показатели динамики массы тела крысят опытных групп не имели статистически достоверных различий с контролем (табл. 4).

При исследовании гематологических показателей периферической крови крысят, получавших наружно «Сангвиритрин» в лекарственных формах, не установлено статистически значимых различий в количестве эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, содержании гемоглобина, гематокрита, гемограмм по сравнению с контролем (табл. 5).

Исследование биохимических показателей и активности некоторых ферментов сыворотки крови новорожденных крысят, получавших лекарственные формы «Сангвиритрина» для наружного применения, показало, что содержание общего холестерина, общего белка, глюкозы, мочевины и креатинина, а также активность аланин- и аспаратаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, не отличались от соответствующих показателей в контроле, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия препаратов на функциональное состояние печени и почек новорожденных крысят. Патоморфологические ис-

Таблица 4

**Динамика массы тела новорожденных крысят (в % к исходной), получавших 0,2% спиртовой раствор и 1% линимент «Сангвиритрина»**

Периоды наблюдения, недели	Группы животных			
	Контроль, 0,2% этанол	Сангвиритрин 0,2% спиртовой раствор	Контроль, плацебо линимента	Сангвиритрин 1% линимент
1	170,0±12,2	166,0±10,8	168,9±11,8	165,7±18,4
2	317,9±18,2	322,7±13,8	319,9±18,2	332,8±14,5
3	525,6±22,4	545,4±23,7	557,9±18,2	537,5±23,0
4	936,6±25,9	953,0 ±25,6	927,9±18,2	947,6±24,9

Таблица 5

**Гематологические показатели новорожденных крысят при 4-недельных аппликациях «Сангвиритрина»**

Группы животных	Гематологические показатели			
	Эритроциты, ·10 <sup>12/л</sup>	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, ·10 <sup>9/л</sup>	Тромбоциты, ·10 <sup>9/л</sup>
I. Контроль, 0,2% этанол	4,2±0,5	97,5±2,9	4,5±0,4	348±26
II. Сангвиритрина 0,2% спиртовой раствор	3,9±0,4	91,8±3,0	4,1±0,2	342±29
III. Контроль, плацебо линимента	3,8±0,3	85,3±1,4	4,2±0,2	318±30
IV. Сангвиритрина 1% линимент	3,9±0,4	90,4±2,1	4,7±0,4	327±25

следования, проведенные в конце 4- недельного хронического эксперимента, не выявили токсического действия изучаемых лекарственных форм «Сангвиритрина» на структуру внутренних органов крысят.

Таким образом, при токсикологическом изучении 0,2% спиртового раствора и 1% линимента «Сангвиритрина» в условиях длительных аппликаций новорожденным крысятам показана хорошая переносимость, отсутствие местнораздражающего действия и нежелательных токсических эффектов, свидетельствующих об отсутствии резорбтивного действия препаратов, в составе которых не содержатся поверхностно-активные вещества, способствующие проникновению действующего вещества в более глубокие слои кожи [15,16].

#### **Выводы.**

1. Показатели токсичности «Сангвиритрина» при однократном внутрибрюшинном введении крысятам новорожденным и 3-недельного возраста существенно не различаются. В тоже время неполовозрелые крысята менее чувствительны к токсическому действию «Сангвиритрина», по сравнению с половозрелыми крысами.

2. Длительное, в течение 2 месяцев пероральное введение субстанции «Сангвиритрина» кры-

сятам 3-недельного возраста в дозе 0,5 мг/кг, не вызывало у животных повреждающего действия по всем исследованным параметрам. При введении «Сангвиритрина» в дозе 5 мг/кг у крысят наблюдали признаки интоксикации в виде снижения массы тела и нарушения функционального состояния почек.

3. Исследование лекарственных форм «Сангвиритрина» для наружного применения – 0,2% спиртовой раствор и 1% линимент на крысятах 3-недельного возраста и новорожденных в условиях хронических экспериментов показало хорошую переносимость, отсутствие местнораздражающего действия и нежелательных токсических эффектов.

4. Результаты экспериментальных токсикологических исследований послужили основанием для проведения клинических исследований указанных лекарственных форм «Сангвиритрина» в педиатрической практике, в том числе у новорожденных, где была подтверждена хорошая переносимость и отсутствие побочных эффектов, а также их высокая терапевтическая эффективность.

В настоящее время 0,2% спиртовой раствор и 1% линимент «Сангвиритрина» разрешены к медицинскому применению у детей, в том числе у новорожденных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Толкачев О.Н., Савина А.А., Копылова И.Е. Охотникова В.Ф., Качалина Т.В., Быков В.А. Сангвиритрин: Химико-технологические исследования бензофенантридиновых алкалоидов (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – № 2. – С. 19.
2. Толкачев О.Н., Фатеева Т.В., Крепкова Л.В., Вичканова С.А., Бортникова В.В. Отечественные и зарубежные сангвинарин-содержащие препараты: краткая оценка (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – № 9. – С. 3-9.
3. Вичканова С.А., Крутикова Н.М., Фатеева Т.В. Создание высокоэффективного оригинального природного лекарственного средства Сангвиритрин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. – № 11. – С. 49- 55.
4. Вичканова С.А., Колхир В.К., Сокольская Т.А., Воскобойникова И.В., Быков В.А. Лекарственные средства из растений. Сангвиритрин. Антимикробное средство. Москва, 20// АДРИС, 2009. – С. 246 -261.
5. Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М., Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Толкачев О.Н., Климахин Г.И., Сокольская Т.А. Сангвиритрин. Подарок природы человеку: научное издание. М.: «OneBook.ru». – 2015. – 164 с.
6. Бортникова В.В. Сравнительная токсикологическая характеристика и новые фармакологические свойства антимикробных и противовирусных препаратов растительного происхождения // Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Купавна. – 1988. – 21с.
7. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Арзамасцев Е.В., Шкаренков А.А. Методические подходы к доклиническому изучению безопасности лекарственных средств для применения в педиатрии // Мат. IV Международной. Конф. «Клинические исследования лекарственных средств», М., 2004. – С.31-32.
8. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Гуськова Т.А. Особенности оценки безопасности лекарственных средств для педиатрии // Вопр. биол., мед. и фарм. химии. – 2013. – № 11. – С. 70-74.
9. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 41-50.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 41-50.
11. Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
12. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: «Медицинская литература», 1963. – С. 19-32.
13. Крепкова Л.В., Бортникова В.В. Доклиническое изучение безопасности антимикробного препарата сангвиритрин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 11. – С.57-63.
14. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ. Вып.13. – М. – 1973. – С.47-51.
15. Вичканова С.А. Опыт клинического применения растительного препарата сангвиритрин // Педиатрия – 2013. – № 1 – С.88-95.
16. Михеева Н.С. Разработка технологии лекарственных форм на основе арники обильственной (*Arnica follosa* Nutt.) // Дисс. канд. фарм. наук. – Москва. – 2015. – 147 с.

## REFERENCES:

1. Tolkahev O.N., Savina A.A., Kopylova I.E. Okhotnikova V.F., Kachalina T.V., Bykov V.A. Sangviritrin: Chemical and technological researches benzofenanthridinovykh of alkaloids (review) // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2011; 2:19-7 (in Russian).
2. Tolkahev O.N., Fateeva T.V., Krepkova L.V., Vichkanova S.A., Bortnikova V.V. Domestic and the foreign sangvinarin-containing preparations: short assessment (review) // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. – 2015; 9: 3-9 (in Russian).
3. Vichkanova S.A., Krutikova N.M., Fateeva T.V. Creation of highly effective original natural medicine Sangviritrin // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2013; 11: 49-5 (in Russian).
4. Vichkanova S.A., Kolkhir V.K., Sokol'skaya T.A., Voskoboinikova I.V., Bykov V.A. Medicines from plants. Sangviritrin. Antimicrobial means. Moscow: ADRIС; 2009 (in Russian).
5. Vichkanova S.A., Fateeva T.V., Krutikova N.M., Krepkova L.V., Bortnikova V.V., Tolkahev O.N., Klimakhin G.I., Sokol'skaya T.A. Sangviritrin. Nature gift cheloveku: nauchny edition: nauchnoe izdanie. Moscow: OneBook.ru; 2015 (in Russian).
6. Bortnikova V.V. Comparative toxicological characteristic and new pharmacological properties of antimicrobial and antiviral preparations of a phyto genesis // Dr. biol. sci. diss. Kupavna: 19 (in Russian).
7. Bortnikova V.V., Krepkova L.V., Arzamastsev E.V., Shkarenkov A.A. Methodical approaches to preclinical studying of safety of medicines for application in pediatrics. In: Mat. The IV International. Conf. «Clinical trials of medicines». Moscow. 2004; 31-32 (in Russian).
8. Bortnikova V.V., Krepkova L.V., Gus'kova T.A. Features of an assessment of safety of medicines for pediatrics // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2013; 11: 70-4 (in Russian).
9. Gus'kova T.A. Toksikologiya of medicines. Moscow: MDV, 2008 (in Russian).
10. Guide to carrying out preclinical researches of medicines. Part one. Moscow: Grif i K, 2012; 41-0 (in Russian).
11. Federal'nyi zakon ot 12.04.2010 g. № 61-FZ «Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv» (in Russian).
12. Belen'kii M.L. Elements of a quantitative assessment of pharmacological effect. L.: «Meditsinskaya literatura»; 1963 (in Russian).
13. Krepkova L.V., Bortnikova V.V. Preclinical studying of safety of an antimicrobial preparation c Sangviritrin // Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii. 2013; 11: 57-3 (in Russian).
14. Sidorov K.K. . About classification of toxicity of poisons at parenteral ways of introduction. Toxicology of new industrial chemicals. Vyp. Moscow; 1973; 47-1 (in Russian).
15. Vichkanova S.A. Experience of clinical application of a vegetable preparation Sangviritrin // Peditriya. 2013; 1: 88-5 (in Russian).
16. Mikheeva N.S. Development of technology of dosage forms on the basis of amica obilistvenny (*Arnica follosa* Nutt.) // Dr. farm sci. diss. Moscow: 2015 (in Russian).

V.V. Bortnikova<sup>1</sup>, L.V. Krepkova<sup>1</sup>, T.A. Guskova<sup>2</sup>

## PRECLINICAL TOXICOLOGICAL STUDIES OF ANTIMICROBIAL DRUG «SANGUIRITRIN» IN SEXUALLY IMMATURE ANIMALS

<sup>1</sup> Federal state budgetary research institute «All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants», 117216, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Non-commercial Partnership of Healthcare Assistance «Scientific centre of quality control», 115191, Moscow, Russian Federation

A preclinical safety study of an antimicrobial phyto preparation «Sanguiritrin» in immature animals was carried out. It is shown that at a single intraperitoneal administration of «Sanguiritrin» to newborn baby rats and rats of 3 weeks of age, a mean lethal dose was set at a level of  $22.0 \pm 2.5$  mg/kg and  $17.6 \pm 1.5$  mg/kg (male),  $18.0 \pm 2.0$  mg/kg (female), respectively. Infant rats are less sensitive to the «Sanguiritrin» toxic effect as compared to sexually mature rats (LD<sub>50</sub> 10.0-12.0 mg/kg). A long-term peroral administration (2 months) of the substance «Sanguiritrin» in a dose of 0.5 mg/kg did not have a damaging effect on 3 weeks of age rats major body organs and systems. The intake of «Sanguiritrin» in infant rats in a dose of 5 mg/kg significantly decreased their body weight and disturbed renal excretory function. Application of 0.2% alcohol solution and 1% liniment «Sanguiritrin» to the skin of newborn baby rats and 3 weeks of age rats under conditions of a chronic experiment showed a good tolerability, absence of local irritating action and undesirable toxic effects.

**Keywords:** preclinical toxicology studies, «Sanguiritrin», 0.2% alcohol solution and 1% liniment, 3 weeks of age rats and infant rats.

Материал поступил в редакцию 20 ноября 2015 г.

УДК 615.22 : 615.9

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМБИНИРОВАНИЯ БЛОКАТОРА КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ АМЛОДИПИНА С БЛОКАТОРАМИ АНГИОТЕНЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

О.И. Авдеева, М.Н. Макарова,  
И.Е. Макаренко, П.В. Буренков,  
М.Г. Шубина, В.А. Кашкин

ЗАО «Санкт-Петербургский институт  
фармации», 188663, Ленинградская обл.,  
Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский,  
Российская Федерация

**В** статье обобщены полученные экспериментальные данные о токсикологическом взаимодействии блокатора медленных кальциевых каналов амлодипина с блокаторами ангиотензин II (подтип AT1) рецепторов (валсартан и лозартан). Исследования токсичности проведены на аутбредных крысах при однократном внутрижелудочном введении в дозах, позволивших оценить летальные дозы исследуемых объектов (амлодипин, валсартан, лозартан, амлодипин+лозартан 1:10, амлодипин+лозартан 1:20, амлодипин+валсартан 1:16, амлодипин+валсартан 1:32). По результатам исследований показана возможность различных типов токсикологического взаимодействия представителей классов блокаторов медленных кальциевых каналов и блокаторов ангиотензиновых рецепторов: от потенцирования токсических эффектов до антагонизма в отношении токсичности. Выявленное токсикологическое взаимодействие в фиксированных комбинациях зависит от доли активных компонентов в комбинации, а также от особенностей механизмов действия и фармакокинетики каждого активного компонента.

**Ключевые слова:** антигипертензивные средства, блокаторы медленных кальциевых каналов, блокаторы ангиотензиновых рецепторов, токсикологическое взаимодействие, доклинические исследования, острая токсичность на крысах.

**Введение.** Артериальная гипертония (АГ) относится к чрезвычайно важным проблемам здравоохранения большинства стран мира. Из 142 млн. человек, проживающих в России, около 42 млн. страдают АГ (среди мужчин распространенность АГ – 39%, среди женщин – 41%). На долю гипертонической болезни как непосредственной причины смерти приходится 1,8% всех ее случаев. Однако АГ является важнейшим пусковым фактором поражений артерий миокарда, почек и головного мозга еще на этапе субклинического течения. У лиц, длительно страдающих АГ, значительно чаще развиваются инфаркт миокарда и другие формы ИБС, изменения сосудов главно-

го дна, хроническая сердечная недостаточность. В патогенезе мозгового инсульта повышение артериального давления (АД) является основной причиной около 70% всех типов нарушений мозгового кровообращения – ишемического, геморрагического, тромботического [1].

Несмотря на все усилия организаторов здравоохранения, клиницистов и фармацевтической промышленности, частота достижения целевых уровней АД среди пациентов с доказанным диагнозом АГ остается недостаточной. Сейчас очевидно, что повышение АД является следствием взаимодействия множества факторов, одну специфическую причину выявляют редко. Мно-

**Авдеева Ольга Ильинична (Avdeeva Olga Ilyinichna)**, кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, avdeeva1376@yandex.ru  
**Макарова Марина Николаевна (Makarova Marina Nikolaevna)**, доктор медицинских наук, заместитель генерального директора по науке ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, mmm2410@yandex.ru  
**Макаренко Игорь Евгеньевич (Makarenko Igor Evgenievich)**, руководитель группы токсикологии ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, malaig@ya.ru  
**Буренков Павел Валерьевич (Burenkov Pavel Valerievich)**, токсиколог ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, Gibson.Explorer@yandex.ru  
**Шубина Мария Гурьевна (Shubina Maria Guriyevna)**, токсиколог ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, zju12@mail.ru  
**Кашкин Владимир Александрович (Kashkin Vladimir Alexandrovich)**, кандидат медицинских наук, руководитель группы экспериментальной фармакологии ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Кузьмоловский, Российская Федерация, kashkinv@gmail.com

гофакторный патогенез АД и сложное взаимодействие факторов, регулирующих уровень АД, являются причиной того, что часто не удается нормализовать АД, избирательно воздействуя на один механизм. Более того, лекарственное воздействие на любой компонент регуляции АД приводит к компенсаторному ответу и активации контр-регуляторных механизмов, которые противодействуют снижению АД, даже если воздействие было направлено на доминирующий патофизиологический механизм. Как следствие, при монотерапии ограниченная способность снижать АД характерна для всех классов антигипертензивных препаратов.

В 2009 г. были опубликованы данные ретроспективного анализа результатов 42 исследований, посвященных разнообразным схемам гипотензивной терапии, проведенных в период 1966–2008 гг. (общее число пациентов – более 10 000). Изучив результаты рандомизированных испытаний с использованием двух препаратов из четырех основных классов антигипертензивных средств, авторы пришли к выводу о том, что комбинация двух любых препаратов примерно в 5 раз эффективнее снижает высокое АД, чем увеличение дозы каждого из этих препаратов при монотерапии. Одной из самых «успешных» лекарственных комбинаций заслуженно является сочетание дигидропиридиновых производных блокаторов медленных кальциевых каналов с ингибиторами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [2].

Высокая эффективность комбинации блокаторов медленных кальциевых каналов, работающих в сосудистой стенке, с блокаторами ангиотензиновых рецепторов была также подтверждена в нескольких крупных международных исследованиях [3, 4].

Учитывая потенцирование фармакологических эффектов блокаторов медленных кальциевых каналов и блокаторов ангиотензиновых рецепторов, представляется актуальной оценка их токсикологического взаимодействия, что и явилось целью данного исследования.

**Материалы и методы исследования.** Исследования были проведены на аутбредных крысах самцах и самках массой тела 200-250 г. разведения РАМН «Рапполово». Животных содержали в стандартных условиях с соблюдением полноценного пищевого рациона и свободного доступа к воде. При изучении острой токсичности препараты вводили однократно внутривенно. Наблюдение за животными осуществлялось в течение 14-ти дней, на 15-й день животных подвергали эвтаназии с помощью CO<sub>2</sub> – камеры.

Для оценки общетоксического действия препаратов регистрировали летальность животных в ходе экспериментов, клиническую картину

интоксикации, динамику массы тела, показатели коэффициентов массы внутренних органов. Оценку токсикологического взаимодействия проводили по методу Финни [5].

Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, USA).

В качестве объектов исследования были использованы амлодипин (блокатор медленных кальциевых каналов II поколения), лозартан и валсартан (блокаторы ангиотензиновых рецепторов подтипа AT1), а также фиксированные комбинации амлодипин+лозартан 1:10 и 1:20 и амлодипин+валсартан 1:16 и 1:32.

Выбор доз для оценки острой токсичности монопрепаратов и фиксированных комбинаций был определен имеющимися данными MSDS (Material Safety Data Sheet): ЛД<sub>50</sub> амлодипина при внутривенном введении крысам самцам 393 мг/кг, самкам 686 мг/кг [6], максимально переносимая доза лозартана при внутривенном введении крысам - 2000 мг/кг [7], ЛД<sub>50</sub> валсартана при внутривенном введении крысам > 2000 мг/кг [8]. Максимальные протестированные дозы составили для лозартана 2000 мг/кг, валсартана 5000 мг/кг, амлодипина 200 мг/кг, для фиксированных комбинаций (по амлодипину) 300 мг/кг.

**Результаты и обсуждение.** Рассчитать средние-летальные дозы (ЛД<sub>50</sub>) в протестированных диапазонах доз для монопрепаратов оказалось невозможно, так как летальность была зарегистрирована либо в одной группе, либо не достигла 50%. Минимальные летальные дозы (ЛД<sub>10</sub>) составили для амлодипина 100 мг/кг, для лозартана 1000 мг/кг, для валсартана 5000 мг/кг. Для фиксированных комбинаций в большинстве случаев были рассчитаны как ЛД<sub>10</sub>, так и ЛД<sub>50</sub>.

Далее был проведен анализ токсикологического взаимодействия в лекарственных комбинациях по Финни с использованием уравнения аддитивности:

$$1/\text{ЛД}_{50}(\text{АВ}) = f_a/\text{ЛД}_{50}(\text{А}) + f_b/\text{ЛД}_{50}(\text{Б})$$

Однако в связи с тем, что для всех объектов исследования были установлены только ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>50</sub> в уравнении было заменено на минимальную летальную дозу, и уравнение приобрело следующий вид:

$$1/\text{ЛД}_{10}(\text{АВ}) = f_a/\text{ЛД}_{10}(\text{А}) + f_b/\text{ЛД}_{10}(\text{Б}),$$

где ЛД<sub>10</sub> (АВ) — гипотетическое значение ожидаемой летальной дозы (ЛД<sub>10</sub>) комбинации А+Б, соответствующее условию аддитивности токсического действия компонентов комбинации; f<sub>a</sub>, f<sub>b</sub> — дозировки компонентов А, Б в комбинации, выраженные в долях от суммарной дозировки комбинации, принятой за единицу; ЛД<sub>10</sub>(А), ЛД<sub>10</sub>(Б) — экспериментально определяемые, фактические значения ЛД<sub>10</sub> отдельных компонентов комбинации (А, Б).

В зависимости от соотношения гипотетического значения  $LD_{10}$  комбинации, вычисленной по формуле на основании  $LD_{10}$  отдельных компонентов, и фактического, экспериментально определенного значения  $LD_{10}$  комбинации, был сделан вывод о токсикологическом взаимодействии [5].

1. Отсутствие токсикологического взаимодействия. Отношение  $LD_{10}(\text{гип})/LD_{10}(\text{факт})$  равно или близко к 1. Токсичность компонентов в комбинации может суммироваться, т.е. соответствует первичной гипотезе аддитивного синергизма.

2. Токсикологическое взаимодействие по типу антагонизма. Отношение  $LD_{10}(\text{гип})/LD_{10}(\text{факт})$  равно или меньше 0,57, т.е. возможно снижение токсичности компонентов в комбинации.

3. Токсикологическое взаимодействие по типу потенцирования. Отношение  $LD_{10}(\text{гип})/LD_{10}(\text{факт})$  равно или более 1,75, т.е. возможно повышение токсичности компонентов в комбинации.

Результаты оценки токсикологического взаимодействия представлены в таблице 1.

Явных различий в симптомах интоксикации между изученными объектами не выявлено. Клиническая картина интоксикации проявлялась в угнетении общего состояния, увеличении частоты дыхания и одышке, принятии животными вынужденного положения – лежа на животе, гиподинамии. Данные признаки проходили в течение 2 – 3 часов в случае введения препаратов в дозах, не вызывающих гибели, или в течение суток в группах, где часть животных погибала.

После введения исследуемых объектов летальность можно охарактеризовать, как позднюю отсроченную смертность, основной процент падежа животных пришелся на период с 48 часов после введения до 7 дней.

Состояние выживших экспериментальных животных полностью нормализовалось в течение

разных сроков наблюдения (исчезли вялость, гиподинамия):

Амлодипин – 2 дня;

Лозартан – 2 дня;

Валсартан – 2 дня.

Фиксированная комбинация амлодипин+валсартан 1:16 – 14 дней;

Фиксированная комбинация амлодипин+валсартан 1:32 – 4 дня;

Фиксированная комбинация амлодипин+лозартан 1:10 – 7 дней;

Фиксированная комбинация амлодипин+лозартан 1:20 – 7 дней;

При некропсии погибших крыс были выявлены признаки острой сердечной недостаточности, которая и явилась причиной гибели. Кроме того, после введения фиксированных комбинаций амлодипин+лозартан обнаружено токсическое поражение почек, а после введения амлодипина в виде монопрепарата или фиксированной комбинации у погибших животных был выявлен гастроэнтероколит.

Оценка динамики массы тела выживших животных не показала статистически значимых отличий от контрольной группы.

Результаты вскрытия животных через 14 суток после введения препаратов представлены в таблице 2.

Наличия каких-либо других остаточных явлений, связанных с перенесенной интоксикацией, у выживших животных не выявлено.

Проведенное исследование оценки токсикологического взаимодействия показало, что фармакологическое взаимодействие не исключает токсикологического взаимодействия, которое зависит от доли каждого компонента в комбинации и, по-видимому, от особенностей механизмов действия и фармакокинетики действующих ве-

Таблица 1

**Оценка токсикологического взаимодействия амлодипина с лозартаном и амлодипина с валсартаном в фиксированных комбинациях**

Фиксированная комбинация	Пол животных	Фактическая $LD_{10}$	Гипотетическая $LD_{10}$	Соотношение $LD_{10}$ гип./ $LD_{10}$ фак.	Вывод о токсикологическом взаимодействии
Амлодипин+ лозартан 1:10	Самцы	671 мг/кг	550 мг/кг	0,82	отсутствует
	Самки	297 мг/кг		1,85	потенцирование
Амлодипин+ лозартан 1:20	Самцы	714 мг/кг	698 мг/кг	0,98	отсутствует
	Самки	651 мг/кг		1,07	отсутствует
Амлодипин+ валсартан 1:16	Самцы	544 мг/кг	1285 мг/кг	2,36	потенцирование
	Самки	397 мг/кг		3,24	потенцирование
Амлодипин+ валсартан 1:32	Самцы	8250 мг/кг	2024 мг/кг	0,25	антагонизм
	Самки				антагонизм

**Остаточные явления, связанные с перенесенной интоксикацией, обнаруженные через 14 суток после введения**

Объект исследования	Патологические изменения		
	в почках	в ЖКТ	в печени
Амлодипин	---	---	---
Лозартан	---	---	---
Валсартан	---	---	---
Амлодипин+ лозартан 1:10	В дозах более 150ВТД*	В дозах более 250ВТД	Увеличение коэффициента массы в дозах более 50ВТД
Амлодипин+ лозартан 1:20	В дозах более 75ВТД	---	Увеличение коэффициента массы в дозах более 25ВТД
Амлодипин+ валсартан 1:16	---	---	---
Амлодипин+ валсартан 1:32	---	---	---

Примечание: - \* - ВТД – высшая терапевтическая доза

ществ.

Результаты оценки токсикологического взаимодействия по Финни показали, что увеличение доли в комбинации менее токсичного компонента (блокаторов ангиотензиновых рецепторов) уменьшает токсикологическое взаимодействие, от потенцирования к аддитивному синергизму (суммации), вплоть до токсикологического антагонизма.

Также, вероятно, играют роль особенности механизма действия и метаболизма.

Амлодипин метаболизирует в печени с участием цитохромов P450 CYP3A4 и CYP3A5 [9]. 95—98% амлодипина связывается с белками плазмы [10].

Вальсартан связывается с ангиотензиновыми рецепторами неконкурентно, метаболизирует минимально, без участия монооксигеназной системы печени [11].

Лозартан связывается с ангиотензиновыми рецепторами конкурентно. Метаболизирует в печени с участием двух ферментов цитохрома P450 CYP2C9 и CYP3A4 [12], до активного метаболита E3174 с образованием альдегида как промежуточного продукта реакции (рис. 1).

Связывание с белками плазмы лозартана и активного его метаболита высокое - более 98%. Антагонист рецепторов ангиотензина II лозартан обладает наиболее слабой аффинностью к подтипу AT1-рецепторам, но его активный метаболит (E3174), концентрация ко-

торого в плазме после перорального приема лозартана составляет около 14% [13], связывается с рецепторами в 10 раз сильнее основной молекулы. В связи с этим лозартан стали рассматривать как пролекарство, активность которого связана с карбоксилированием лозартана до E3174 [14].

Учитывая особенности фармакокинетики активных компонентов, можно предположить, что гепатотоксичность и нефротоксичность комбинации амлодипин+лозартан обусловлена конкуренцией действующих веществ за метаболизм с участием цитохрома P450 CYP 3A4, в результате чего идет снижение скорости конъюгации веществ, и, как следствие, увеличение их токсичности. Данное предположение подтверждается прямой зависимостью токсического воздействия на печень и почки от доли лозартана в комбинации.

Более низкая токсичность валсартана в сравнении с лозартаном обусловлена его способностью неконкурентно связываться с ангиотензиновыми рецепторами, а отсутствие конкуренции за биотрансформацию с амлодипином в комбинации 1:16 приводит к исчезновению остаточных явлений интоксикации, а в соотношении 1:32 – к ток-

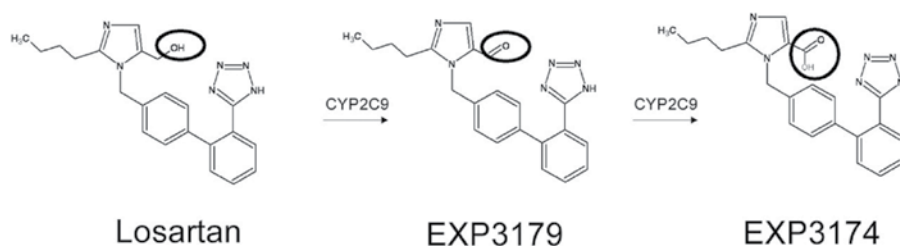


Рис. 1. Метаболизм лозартана в печени.



сикологическому взаимодействию по типу антагонизма.

**Заклучение.** Таким образом, при создании фиксированных комбинаций лекарственных средств целесообразно учитывать вероятность токсикологического взаимодействия, и изучать этот аспект на этапе доклинического изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маколкин В.И. Путь к улучшению лечения артериальной гипертонии – комбинированная терапия // РМЖ. 2011. № 2. С. 74–77.
2. Сорокин Е.В., Карпов Ю.А. Комбинированная антигипертензивная терапия – ключ к повышению эффективности сердечно – сосудистой профилактики // Кардиология. РМЖ. 2012. № 25. 1304.
3. Park C.G. et al. // Am. J. Cardiovasc. Drugs. 2012. V. 12. № 1. P 35.
4. Чазова И.Е., Мартынюк Т.В. Возможности рациональной комбинированной антигипертензивной терапии: итоги международного клинического исследования ГЕМЕРА // Терапевтический архив. 2013. № 10. С. 10 – 22.
5. Finney D.J. A statistical treatment of the sigmoid response curves/ Probit analysis. 2nd ed. Cambridge. Univ. Press. 1952. P. 131–140.
6. MSDS Caduet (Amlodipine besylate/ Atorvastatin calcium) tablets-5 mg/10 mg and 10 mg/20 mg [http://www.pfizer.com/files/products/material\_safety\_data/PZ01099.pdf], электронный ресурс, дата обращения 24.10.2013.
7. MSDS Losartan Potassium Tablets [http://www.pfizer.com/files/products/material\_safety\_data/PZ01099.pdf], электронный ресурс, дата обращения 24.10.2013.
8. MSDS и ЛД50 Валсартан. Электронный ресурс: http://www.usp.org/pdf/EN/

## REFERENCES:

1. Makolkin V.I. The way to improve the treatment of hypertension - combination therapy // RMZh. 2011. № 2. S 74-77 (in Russian).
2. Sorokin E.V., Karpov Yu.A. Combined antihypertensive therapy - the key to improving the efficiency of the cardio-vascular prevention // Cardiology. RMZh. 2012. № 25. 1304 (in Russian).
3. Park C.G. et al. // Am. J. Cardiovasc. Drugs. 2012. V. 12. № 1. P 35.
4. Chazova I.E., Martynuk T.V. Features a rational combination of antihypertensive therapy: results of an international clinical trial HEMERA // Therapeutic archive. 2013. № 10. S. 10 – 22 (in Russian).
5. Finney D.J. A statistical treatment of the sigmoid response curves/ Probit analysis. 2nd ed. Cambridge. Univ. Press. 1952. P. 131–140.
6. MSDS Caduet (Amlodipine besylate/ Atorvastatin calcium) tablets-5 mg/10 mg and 10 mg/20 mg. Available at: http://www.pfizer.com/files/products/material\_safety\_data/PZ01099.pdf, (Accessed 24 October 2013)
7. MSDS Losartan Potassium Tablets. Available at: http://www.pfizer.com/files/products/material\_safety\_data/PZ01099.pdf, (Accessed 24 October 2013)
8. MSDS и ЛД50 Valsartan. Available at: http://www.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1708762.pdf. (Accessed November 2014)
9. (Accessed 24 October 2013)
10. MSDS и ЛД50 Валсартан. Электронный ресурс: http://www.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1708762.pdf. (Accessed November 2014)
11. Kim K. A., Park P. W., Park J. Y. Effect

Кроме того, необходимо оценивать взаимодействие двух активных субстанций во всех соотношениях компонентов, так как они могут различаться. Также следует учитывать особенности механизмов действия и фармакокинетики отдельных представителей одного фармакологического класса, например, при замене препаратов.

12. Stearns R. A. et al. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members //Drug metabolism and disposition. 1995. T. 23. №. 2. C. 207-215.
13. Lo MW, Goldberg MR, McCrea JB, Lu H, Furtek CI, Bjornsson TD. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans // Clin Pharmacol Ther. 1995; V.58(6) p.641-9.
14. Yun C. H. et al. Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A (4) in formation of the active metabolite EXP3174 //Drug metabolism and disposition. 1995. T. 23. №. 2. C. 285-289.
15. Nakashima A. et al. Identification of cytochrome P450 forms involved in the 4-hydroxylation of valsartan, a potent and specific angiotensin II receptor antagonist, in human liver microsomes //Xenobiotica. 2005. T. 35. №. 6. C. 589-602.
16. Stearns R. A. et al. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P450 3A5\* 3 genotype on the stereoselective pharmacokinetics of amlodipine in healthy subjects //Chirality. 2009. T. 21. №. 5. C. 485-491.
17. Beresford A. P., Macrae P. V., Stopher D. A. Metabolism of amlodipine in the rat and the dog: a species difference //Xenobiotica. 1988. T. 18. №. 2. C. 169-182.
18. Nakashima A. et al. Identification of cytochrome P450 forms involved in the 4-hydroxylation of valsartan, a potent and specific angiotensin II receptor antagonist, in human liver microsomes //Xenobiotica. 2005. T. 35. №. 6. C. 589-602.
19. Stearns R. A. et al. Biotransformation

20. Beresford A. P., Macrae P. V., Stopher D. A. Metabolism of amlodipine in the rat and the dog: a species difference //Xenobiotica. 1988. T. 18. №. 2. C. 169-182.
21. Nakashima A. et al. Identification of cytochrome P450 forms involved in the 4-hydroxylation of valsartan, a potent and specific angiotensin II receptor antagonist, in human liver microsomes //Xenobiotica. 2005. T. 35. №. 6. C. 589-602.
22. Stearns R. A. et al. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members //Drug metabolism and disposition. 1995. T. 23. №. 2. C. 207-215.
23. Lo MW, Goldberg MR, McCrea JB, Lu H, Furtek CI, Bjornsson TD. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans // Clin Pharmacol Ther. 1995; V.58(6) p.641-9.
24. Yun C. H. et al. Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A (4) in formation of the active metabolite EXP3174 //Drug metabolism and disposition. 1995. T. 23. №. 2. C. 285-289.

O.I. Avdeeva, M.N. Makarova, I.E. Makarenko, P.V. Burenkov, M.G. Shubina, V.A. Kashkin

## TOXICOLOGICAL EVALUATION OF COMBINATION OF AMLODIPINE CALCIUM CHANNELS BLOCKER WITH ANGIOTENSIN RECEPTOR BLOCKERS

Saint-Petersburg Institute of Pharmacy, settlement Kuzmolovsk, Vsevolozhsk district, 188663, Leningrad region, Russian Federation

The article summarizes experimental data on toxicological interactions of blocker of amlodipine slow calcium channels with angiotensin II (AT1 subtype) receptors blockers (valsartan and losartan). Toxicity studies were performed in outbred rats after a single intragastric administration in doses permitting to estimate lethal doses for the objects under investigation (amlodipine, valsartan, losartan, amlodipine+ losartan 1:10, amlodipine+ losartan 1:20, amlodipine + valsartan 1:16, amlodipine + valsartan 1:32). Based on the research outcome, the possibility of different types of toxicological interaction is shown between representatives of classes of slow calcium channels blockers and angiotensin II receptors blockers: from potentiation of toxic effects to the antagonism in relation to toxicity. Identified toxicological interactions in fixed combinations depend on the proportion of active ingredients in the combination, as well as on modes of action features and pharmacokinetics of each active ingredient.

**Keywords:** antihypertensive preparations; blockers of slow calcium channels; angiotensin receptors blockers; toxicological interaction; preclinical studies; acute toxicity in rats.

Материал поступил в редакцию 08.07.2015 г.

УДК: 613.632.4: 615.218.2

# ОБОСНОВАНИЕ ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ ДИАЗОЛИНА В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Б.П. Кузьминов, Т.С. Зазуляк,  
В.А. Туркина, А.А. Брейдак,  
Т.А. Алехина

Львовский национальный медицинский университет им. Данилы Галицкого Минздрава Украины, 79010, г. Львов, Украина

**П**роведена токсикологическая оценка антигистаминного препарата первого поколения – диазолина, с обоснованием гигиенического норматива допустимого содержания (ориентировочно безопасного уровня воздействия) для воздуха рабочей зоны производственных помещений. Установлено, что по критерию острой пероральной токсичности диазолин относится к веществам малоопасным. В клинической картине острой и субхронической интоксикации преобладают симптомы поражения центральной нервной системы. Диазолин обладает слабым местным раздражающим действием при попадании на слизистые оболочки, проявляет сильную кумулятивную активность. При внутрикожной сенсибилизации влияет на показатели клеточного и гуморального звена врожденного и приобретенного иммунитета. Ориентировочно безопасный уровень воздействия диазолина в воздухе рабочей зоны составляет 1,0 мг/м<sup>3</sup>.

**Ключевые слова:** диазолин, токсикологическая оценка, гигиенический норматив, воздух рабочей зоны.

**Введение.** Антигистаминные препараты первого поколения (димедрол, пипольфен, тавегил, супрастин, диазолин) продолжают широко использоваться в клинической практике, что обусловлено быстротой наступления эффекта и относительно небольшой стоимостью. Фармакологические эффекты этих медикаментов определяются их чрезвычайно высокой липофильностью и способностью блокировать рецепторы разных типов. Помимо устранения эффектов гистамина, лекарственные средства этой группы блокируют мускариновые и серотониновые рецепторы, обладают антихолинергическим (уменьшение экзокринной секреции, повышение вязкости секрета) и местноанестезирующим действием, центральной холинолитической активностью (седативный, снотворный эффект). К антигистаминным препаратам первого поколения преимущественно без седативного действия относится диазолин [1,2]. Показаниями для его использования являются: сенная лихорадка, крапивница,

экзема, кожный зуд, аллергический ринит, аллергический конъюнктивит, кожная реакция после укуса насекомого; бронхиальная астма (в составе комбинированной терапии) [3].

Промышленное производство диазолина осуществляют ПАО «Фармак» (Украина, г. Киев), ПАО «Фармацевтическая фирма «Дарница» (Украина, г. Киев), ЗАО «Обнинская Химико-фармацевтическая компания» (Россия, г. Обнинск), ОАО «ВАЛЕНТА ФАРМАЦЕВТИКА» (Россия, г. Москва), ООО «ОЗОН» (Россия, г. Жигулевск), ОАО «Марбиофарм» (Россия, г. Йошкар-Ола), «AVVA RUS» (Россия, г. Киров), ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА» (Россия, г. Уфа).

Сведения в доступной научной литературе о токсичности диазолина отсутствуют, гигиенический норматив его допустимого содержания в воздухе рабочей зоны в Украине не разработан. В Российской Федерации ОБУВ диазолина дисульфоната в воздухе рабочей зоны составляет 1,0 мг/м<sup>3</sup> [4].

**Кузьминов Борис Павлович (Kuzminov Boris Pavlovich)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены и профилактической токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Министерства здравоохранения Украины, 79010, г. Львов, bkuzminov@yandex.ru

**Зазуляк Татьяна Степановна (Zazulyak Tatyana Stepanovna)**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Министерства здравоохранения Украины, 79010, г. Львов, expertiza39@gmail.com

**Туркина Вера Артуровна (Turkina Vera Arturovna)**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Министерства здравоохранения Украины, 79010, г. Львов, toxcentr@rambler.ru

**Брейдак Александра Андреевна (Breydak Alexandra Andreevna)**, старший лаборант кафедры гигиены и профилактической токсикологии Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Министерства здравоохранения Украины, 79010, г. Львов, breydaк 2010@rambler.ru

**Алехина Татьяна Анатольевна (Alechina Tatyana Anatolievna)**, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Львовского национального медицинского университета им. Данилы Галицкого Министерства здравоохранения Украины, 79010, г. Львов, toxcentr@rambler.ru

В связи с этим целью работы была оценка токсичности диазолина с обоснованием ориентировочно безопасного уровня воздействия для воздуха рабочей зоны производственных помещений.

**Материалы и методы исследования.** Диазолин – 9-бензил-2-метил-2,3,4,9-тетрагидро-1H-β-карболин. Синонимы: Мебгидролин, Омерил. CAS №: 524-81-2. Эмпирическая формула:  $C_{19}H_{20}N_2$ , молекулярная масса: 276,376. По внешнему виду – белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и в органических растворителях. Производитель субстанции «ФАРМХИМ» г. Шостка (Украина).

Источники загрязнения воздуха рабочей зоны: стадия подготовки сырья (загрузка и взвешивания субстанции для таблетирования), стадия таблетирования, стадия изготовления драже. Для изготовления таблеток (0,1 г) и драже (0,05 г, 0,1 г) Киевским ПАО «Фармак» используется 840 кг субстанции мебгидролина в год.

Минимальная суточная терапевтическая доза 0,05 г, максимальная суточная терапевтическая доза – 0,3 г, высшая суточная терапевтическая доза – 0,6 г.

Исследования проведены в соответствии с методическими указаниями [5].

Использовано 4 вида лабораторных животных: нелинейные крысы, мыши, морские свинки и кролики, которые содержались в условиях вивария Львовского национального медицинского университета на стандартном пищевом рационе, согласно правилам «надлежащей лабораторной практики» (GLP) и наблюдением общих этических принципов экспериментов на животных, принятых 1 национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2000). Экспериментальные группы животных включали 10-12 особей каждая и формировались путем составления ранжированных рядов и нумерацией по исходной массе тела.

При исследованиях местнораздражающего, раздражительного и кожно-резорбтивного действий руководствовались методическими указаниями «Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи» [6] и «Методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» [7]. Кумулятивную активность оценивали по величине коэффициента кумуляции ( $K_{cum}$ ), установленного в тесте «субхроническое токсичности» по методике Лима и соавторов [8].

Иммунотоксическое действие диазолина изучали в соответствии с методическими рекомендациями [9].

Морфологические исследования проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями к проведению морфологических исследований при экспериментальном обосновании ПДК в воздухе рабочей зоны» [10]. При интерпретации результатов токсикологических исследований их сопоставляли с фоновыми, контрольными показателями и показателями нормы у лабораторных животных [11].

**Результаты и обсуждение.** При однократном пероральном введении диазолина в виде водных суспензий белым мышам и белым крысам в дозах от 5000 мг/кг до 12000 мг/кг установлено, что у животных развивается острое отравление, в клинической картине которого преобладают симптомы поражения центральной нервной системы. Гибель животных наблюдалась в течение первых суток.

Среднесмертельная доза ( $DL_{50}$ ) диазолина для белых мышей-самок составляет 9000,0 (6500 ± 12 600) мг/кг, белых мышей-самцов – 10000,0 мг/кг, белых крыс-самок -> 5000,0 мг/кг (4 класс опасности, ГОСТ 12.1.007-76). Половая чувствительность животных к диазолину не выражена.

Клинические симптомы острой интоксикации при внутрибрюшинном введении диазолина в дозах от 200,0 мг/кг до 500,0 мг/кг были аналогичны как при внутрижелудочном введении.  $DL_{50}$  для белых мышей-самцов при внутрибрюшинном введении составляет 326,0 мг/кг (IV класс опасности по К.К. Сидорову [12], вещество малотоксичное).

Внесение 50 мг в конъюнктивальный мешок глаза кролика вызывало слабое раздражающее действие: гиперемия – 1 балл, выделения – 1 балл по классификации A. Mayda i K. Chrusaielska [7]. Симптомы раздражающего действия проходили через 2-3 часа.

Резорбтивно-токсическим и местнораздражающим действием при нанесении на кожу диазолин не обладает.

При интраназальном введении белым крысам суспензии диазолина в стерильном физиологическом растворе в дозах 56,2 мг – 62,4 мг, что в пересчете на вдыхаемую концентрацию [5], составляло 2000 мг/м<sup>3</sup>, гибели животных и развития клинической картины острой интоксикации не зафиксировано. Расчетная среднесмертельная концентрация ( $CL_{50}$ ) составляет 2818,0 мг/м<sup>3</sup>.

Пороговый уровень ( $Lim_{ac}$ ) диазолина (1050 мг/м<sup>3</sup>) вызывал у белых крыс-самок увеличение количества лейкоцитов в крови на 24,1% и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) на 52,3%, уменьшение сумационно-порогового показателя на 36,2%. При более низких уровнях воздействия препарата (350,0 мг/м<sup>3</sup> и 115,0 мг/м<sup>3</sup>) статистически достоверных изменений у животных не зафиксировано.

Для определения кумулятивной активности диазолина препарат вводили белым мышам-самкам в виде водной суспензии, начиная с дозы 0,1 DL<sub>50</sub> (900 мг / кг) путем увеличения дозы в 1,5 раза каждые 4 суток. Начиная с 5 суток эксперимента у животных развивалась клиническая картина интоксикации с симптомами поражения центральной нервной системы. Животные были малоподвижны, сбивались в кучки. Наблюдалась повышенная реакция на внешние раздражители. Гибель регистрировалась начиная с 6 суток эксперимента. К 18 дню опыта погибли все животные в экспериментальной группе. Коэффициент кумуляции препарата составляет 0,96, что указывает на сверхкумулятивную активность диазолина.

При внутрикожной сенсибилизации морских свинок диазолин вызывает достоверные изменения в периферической крови животных (увеличение количества лейкоцитов на 33,9%, эозинофилов – на 40%, лимфоцитов на 4,0%) и влияет на показатели клеточного (возрастает количества Т-лимфоцитов на 33,3%, Т-хелперов – на 17,3%, Т-супрессоров – на 51,3%, НК-клеток – на 32,9%, В-лимфоцитов – на 32,3%) и гуморального звена (увеличение ЦИК на 35,8%) врожденного и приобретенного иммунитета.

Для расчета величины ОБУВ диазолина использованы установленные параметры токсикометрии (DL<sub>50</sub>, Lim<sub>ac</sub>) и величины терапевтических

доз в соответствии с формулами №21 (lg ОБУВ в.р.з. = 0,77 lg МСТД + 0,34), №22 (lg ОБРВ в.р.з. = 0,8 lg ВСТД – 0,068), №23 (lg ОБРВ в.р.з. = 0,45 lg Lim<sub>ac</sub> + 0,5 lg МСТД – 0,43), №24 (lg ОБРВ в.р.з. = 0,49 lg МСТД + 0,42 lg Lim<sub>ac</sub> + 0,11 lg DL<sub>50</sub> в/ж – 0,75) методических указаний [5]. Расчетные величины составили 0,37 мг/м<sup>3</sup>– 2,9 мг/м<sup>3</sup>.

Учитывая расчетные величины допустимого содержания препарата в воздухе рабочей зоны, установленные параметры токсичности и особенности биологического действия на организм, ОБУВ диазолина был рекомендован и утвержден МЗ Украины на уровне 1,0 мг/м<sup>3</sup>.

**Выводы.** 1. По параметрам острой токсичности диазолин относится к веществам малоопасным (4 класс опасности, ГОСТ 12.1.007-76). В клинической картине острой и субхронической интоксикации преобладают симптомы поражения центральной нервной системы.

2. Диазолин обладает слабым местно-раздражающим действием при попадании на слизистые оболочки, проявляет сильную кумулятивную активность. При внутрикожной сенсибилизации влияет на показатели клеточного и гуморального звена врожденного и приобретенного иммунитета.

3. Ориентировочно безопасный уровень воздействия диазолина в воздухе рабочей зоны составляет 1,0 мг/м<sup>3</sup>.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Смирнова, Г. И. Антигистаминные препараты в лечении аллергических болезней у детей Текст. : учеб. пособие / Г. И. Смирнова. - ММА им И.М.Сеченова. М., 2004. – 64 с.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства 16-е изд., перераб., испр. и доп.— М.: Новая волна, 2012. – 1216 с.
- Регистр лекарственных средств России РЛС Энциклопедия лекарств (22-й вып. / Гл.ред. Г.Л. Вышковский. – М.: ВЕДАНТА. 2013. – 768 с.
- Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Гигиенические нормативы. ГН 2.2.5.1314-03. – М.: Российский регистр

- потенциально опасных химических и биологических веществ Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2003.
- Методичні вказівки (МВ № 544 від 21.10.2005) «Обґрунтування граничних допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі населених місць». К., 2005.
- Методические указания (МУ № 2102-79 от 01.11.1979) «Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи». М.; 1980.
- Методические указания (МУ № 2196-80 от 11.08.1980) «Методиче-

- ские указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны» М.; 19
- Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.A. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch.Intern.Pharm.Ther. 1961; 130: 336 – 352.
- Методичні рекомендації (МР 8.1.4.104-2003 від 25.07.2003) «Дослідження імуноотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації». К., 2003.

- Методические рекомендации к проведению морфологических исследований при экспериментальном обосновании гигиенических нормативов вредных веществ в воздухе рабочей зоны (МР № 2939-83 от 05.09.1983). М., 19
- Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Онищенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина; 2003.
- Измеров Н.Ф., Саночкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии (справочник) М.: Медицина; 1977.

## REFERENCES:

- Smirnova, G. I. Antihistamines in treating allergic diseases in children : ucheb. posobie. MMA im I.M.Sechenova. M.; 2004 (in Russian).
- Mashkovskiy M.D Drugs. 16-e izd., pererab., ispr. i dop.— M.: Novaya volna, 20(in Russian).
- Register medicines Russian radar Encyclopedia of drugs (22-y vyp. / Gl.red. G.L. Vyshkovskiy. – M.: VEDANTA. 2013 (in Russian).
- Exposure Limits (OEL) of harmful substances in workplace air: Hygienic standards. GN 2.2.5.1314-03. – M.: Russian Register of potentially dangerous chemical and biological substances

- Ministry of Health of the Russian Federation, 2003.
- Methodical guidelines (MV No 544 of 21.10.2005) «Substantiation of the maximum permissible concentration of drugs in the air of the working area and the air of populated areas». K.; 2005.
- Methodical guidelines (MU No. 2102-79 of 01.11.1979) «An assessment of influence of harmful chemical compounds on integuments and justification of maximum permissible levels of pollution of skin». Moscow; 1980.
- Methodical instructions (MI No. 2196-80 of 11.08.1980) «Methodical instructions to statement of researches

- on studying of irritating properties and justification of maximum permissible concentration of selectively operating irritating substances in air of a working zone». Moscow.; M.; 1980.
- Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., Soaje-Echague E.A. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch.Intern.Pharm.Ther.1961; 130: 336 – 352.
- Methodical guidelines (MR 8.1.4.104-2003 of 25.07.2003) «Research of immunotoxic effect of potentially dangerous chemicals at their hygienic regulation». K.; 2003.

- Methodical guidelines to conduct morphological studies in experimental substantiation of hygienic standards of harmful substances in workplace air (MR No 2939-83 of 05.09.1983). M.; 19
- Trakhtenberg I.M., Sova R.E., Sheftel' V.O., Onikienko F.A. Problems standards Toxicology (modern concepts and methodological approaches, the basic parameters and constants). M.: Meditsina; 2003 (in Russian).
- Izmerov N.F., Sanotsky I.V., Sidorov K.K. Options toxicometry industrial poisons single exposure (spravochnik) M.: Meditsina; 1977 (in Russian).

*B.P. Kuzminov, T.S. Zazuljak, V.A. Turkina, A.A. Breydak, T.A. Alechina*

## JUSTIFICATION OF DIAZOLINE PERMISSIBLE LEVELS IN OCCUPATIONAL AIR IN CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL INDUSTRIES

Danylo Halytsky Lviv National Medical University. Ministry of Health of Ukraine, 79010 Lviv, Ukraine

The toxicological assessment of diazoline, the first-generation antihistaminic preparation, was carried out together with justification of the hygiene standard for permissible content (Tentative Safe Exposure Level-TSEL) of occupational air in production premises. It was found out that according to acute oral toxicity criterion, Diazoline refers to low hazardous substances. In the clinical picture of acute and sub-chronic intoxication, CNS involvement prevails. Diazolin has a weak local irritant effect in case of contact with mucous membranes, shows a strong cumulative activity. In case of intracutaneous sensitization, it influences indicators of the cellular and humoral component of innate and acquired immunity. TSEL of diazoline in occupational air is 1.0 mg/m<sup>3</sup>.

**Keywords:** diazoline, toxicological assessment, hygienic standard, occupational air.

Переработанный материал поступил в редакцию 25.01.2016 г.

УДК 615.272.6

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛИОФИЛИЗАТОВ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА 68Ga-ЦИТРАТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ГРЫЗУНАХ

*А.С. Лунёв<sup>1,2</sup>, К.А. Петросова<sup>1</sup>, М.В. Жукова<sup>1</sup>, К.Э. Терновская<sup>1</sup>, О.Е. Клементьева<sup>1</sup>, Н.П. Лысенко<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 123098, г. Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –МВА им. К.И. Скрябина, 109472, г. Москва, Российская Федерация

**И**сследовано действие лиофилизатов «Цигалин» и «Фероцит» (ООО «ДИАМЕД») для приготовления радиофармацевтического препарата 68Ga-цитрат на организм лабораторных животных (крысы, мыши) с точки зрения токсичности. В ходе эксперимента установлена хорошая переносимость, отсутствие выраженных симптомов интоксикации, аллергизирующего действия и гибели животных в рекомендуемой для клинического применения дозе. «Цигалин» не оказывал токсического эффекта, влияющего на статистически значимые изменения основных гематологических и биохимических показателей крови. Подобные изменения для «Фероцита» в кратных дозах носили функционально-обратимый характер. Полученные результаты позволяют характеризовать лиофилизаты для приготовления 68Ga-цитрата как безопасные для дальнейшего клинического применения в радионуклидной диагностике для визуализации воспалительных процессов методом позитронной эмиссионной томографии.

**Ключевые слова:** Цигалин, Фероцит, 68Ga-цитрат, токсичность острая, хроническая, аллергизирующее действие, безопасность.

**Лунёв Александр Сергеевич (Lunev Alexander Sergeevich)**, инженер отдела радиационных технологий в медицине ФГБУ ГНЦ ФМБЦ, 123098, аспирант кафедры радиобиологии и вирусологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – бывш. МВА, 109472, г. Москва, l5h33@rambler.ru

**Петросова Кристина Андреевна (Petrosova Kristina Andreevna)**, инженер отдела радиационных технологий в медицине ФГБУ ГНЦ ФМБЦ, 123098, г. Москва, swg747@rambler.ru

**Жукова Мария Валерьевна (Zhukova Mariya Valeryevna)**, инженер отдела радиационных технологий в медицине ФГБУ ГНЦ ФМБЦ, 123098, г. Москва, 9053522@mail.ru

**Терновская Кристина Эдуардовна (Ternovskaya Kristina Eduardovna)**, инженер отдела радиационных технологий в медицине ФГБУ ГНЦ ФМБЦ, 123098, г. Москва, violet\_mak@mail.ru

**Клементьева Ольга Евгеньевна (Klementyeva Olga Evgenyevna)**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией доклинических и клинических исследований радиофармацевтических препаратов отдела радиационных технологий в медицине ФГБУ ГНЦ ФМБЦ, 123098, г. Москва, klementyeva.olga@gmail.com

**Лысенко Николай Петрович (Lysenko Nikolay Petrovich)**, доктор биологических наук, заведующий кафедрой радиобиологии и вирусологии ФГБОУ ВПО МГАВМиБ – бывш. МВА, 109472, г. Москва, nsvjp@mail.ru

**Введение.** В настоящее время активно проводятся экспериментальные исследования новых радиофармацевтических препаратов (РФП), при этом их успешное внедрение в клиническую практику предполагает не только наличие доказанной высокой степени эффективности, но и безопасности применения еще на этапе доклинических испытаний.

$^{68}\text{Ga}$ -цитрат («Цигалин,  $^{68}\text{Ga}$ », ООО «ДИАМЕД», основное вещество в лиофилизате: натрия цитрат) с предварительным введением цитрата трехвалентного железа («Фероцит», ООО «ДИАМЕД») – инновационный РФП для внутривенного введения на основе радионуклида галлия-68 для неспецифической визуализации, идентификации и локализации очагов воспаления различной природы и локализации методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) [1]. «Фероцит» предназначен для ПЭТ-исследований с РФП на основе галлия-68, обладающих повышенным сродством к трансферрину крови (в частности, «Цигалин,  $^{68}\text{Ga}$ »), в качестве дополнительного блокирующего агента, позволяющего повысить контрастность получаемого ПЭТ-изображения. Уникальность  $^{68}\text{Ga}$ -цитрата состоит в простоте его приготовления непосредственно перед введением пациенту в ПЭТ-центре, логистически независимым от циклотрона и его дорогостоящей эксплуатации, так как изотоп галлия  $^{68}\text{Ga}$  является генераторным радионуклидом (генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , ЗАО «Циклотрон», Обнинск) [2].

Целью исследования безопасности применения «Цигалина» и «Фероцита» является выявление и оценка выраженности токсических эффектов, возникающих при взаимодействии лиофилизатов с организмом лабораторных животных. Важным отличием РФП является наличие радиоактивной метки, что предполагает токсикологическую оценку безопасности не только нерадиоактивных компонентов препарата, но и оценку токсических побочных эффектов от прямого действия ионизирующего излучения – оценку радиационной безопасности. Дополнительные дозиметрические исследования по расчету поглощенных доз и лучевых нагрузок, формируемых  $^{68}\text{Ga}$ -цитратом в организме, подтвердили его радиационную безопасность [3].

Объем доклинических исследований безопасности определен согласно МУ 2.6.1.046-2013 «Доклинические исследования радиофармацевтических препаратов для позитронно-эмиссионной томографии», утв. 4.07.2013 г. ФМБА России [4], и Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [5].

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследования являлись лиофилизаты для приготовления растворов для внутривенного

введения «Цигалин» и «Фероцит». Материалами исследования (тест-системами) являлись мыши линии BALB/c (самки и самцы) массой  $21,4 \pm 1,7$  г (140 шт.) и крысы (самцы и самки) линии Sprague Dawley массой  $192,1 \pm 17,8$  г (210 шт.). Животные были получены из питомника лабораторных животных «Пушино» ФИБХ РАН. Дизайн исследования безопасности лиофилизатов представлен в таблице 1. Экспериментальные животные содержались в требуемых условиях при естественном световом режиме, на стандартной диете, свободном доступе к воде и пище. Животные были включены в эксперименты после 14-ти дневного карантина. Все манипуляции с животными, связанные с проведением экспериментальных работ и умерщвлением, проводились в соответствии с правилами проведения работ, методическими рекомендациями и правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [6,7,8].

#### **Расчет вводимых доз растворов лиофилизатов**

Расчет вводимых животным эквивалентных доз (ЭД) для оценки безопасности проводили с учетом коэффициентов пересчета человек/экспериментальное животное [5]. За предполагаемую однократную дозу введения для человека принимали содержание основного вещества в одном флаконе лиофилизата для приготовления РФП, установленное в период поисковых исследований по его составу.

#### **Исследование острой токсичности лиофилизатов**

Исследование проводили на мышах линии BALB/c, самки и самцы, массой  $21,0 \pm 1,0$  г (110 шт.: 50 шт. для Цигалина, 60 шт. для Фероцита). В целях исследования животных распределяли на контрольную и экспериментальные группы с расчетом увеличения вводимых доз, эквивалентных предполагаемой однократной для человека (ЭД), по 5 особей в группе для каждого пола, согласно дизайну исследований (табл. 1).

Объем вводимого раствора лиофилизата составил 0,1 мл. Животным контрольной группы вводили 0,1 мл 0,9% раствор хлорида натрия. Критериями оценки острой токсичности являлись выживаемость и смертность (расчет  $\text{LD}_{50}$  с использованием метода логит-регрессии), внешний вид и поведение, реакция на внешние раздражители, болевая реакция, потребление корма и воды, количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания и цвет мочи. Наблюдение за тест-системами осуществляли на протяжении 14 календарных дней. По окончании наблюдения всех выживших животных выводили из эксперимента путем декапитации (эвтаназия не соответствует МТ) и проводили некропсию с последующим вычислением

абсолютной и относительной массы органов и их стандартных отклонений.

**Исследование хронической токсичности лиофилизатов**

Исследование проводили на крысах линии Sprague Dawley массой тела  $192,1 \pm 17,8$  г (210 шт.: по 105 шт. для каждого лиофилизата). Методом случайной выборки с учетом массы тела и пола в качестве определяющего показателя были сформированы контрольная и экспериментальные группы, согласно дизайну исследований (табл. 1).

Объем вводимого внутривенно раствора лиофилизата составил 0,2 мл. Животным контрольной группы вводили 0,2 мл 0,9% раствор хлорида натрия. Критериями оценки хронической токсичности являлись выживаемость, визуальная оценка общего состояния исследуемых животных, результаты общего клинического анализа крови, биохимического анализа крови и патоморфологическое исследование. Общий клинический анализ крови проводили на автоматическом гематологическом ветеринарном

Таблица 1

**Дизайн исследования безопасности радиофармацевтического препарата  $^{68}\text{Ga}$ -цитрат**

Вводимые дозировки растворов лиофилизатов		Лабораторные животные для исследования безопасности							
		мыши линии BALB/с, шт.				крысы линии Sprague Dawley, шт.			
		Доза, мг/кг	Острая токсичность		Аллергизирующее действие		Доза, мг/кг	Субхроническая токсичность**	
			♂	♀	♂	♀		♂	♀
Контроль		-	5	5	5	5	-	5	5
ЭД	Ц*	8,0	5	5	5	5	3,7	25	25
	Ф*	1,8	5	5	5	5	0,8	25	25
ЭДх5	Ц	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ф	9,1	5	5	-	-	-	-	-
ЭДх10	Ц	80,4	5	5	-	-	37,1	25	25
	Ф	18,2	5	5	-	-	8,4	25	25
ЭДх20	Ц	160,8	5	5	-	-	-	-	-
	Ф	36,4	5	5	-	-	-	-	-
ЭДх40	Ц	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ф	72,8	5	5	-	-	-	-	-
ЭДх50	Ц	402,1	5	5	-	-	-	-	-
	Ф	91,0	5	5	-	-	-	-	-
Всего животных, шт.		110			30		210		
		140							

Примечание: \* Ц – Цигалин, Ф – Фероцит

\*\* Каждая группа по 25 крыс разделена на 5 временных точек (0, 5, 10, 15, 21 сутки) по 5 крыс на точку

анализаторе Exigo 17 (Boule Medical, Швеция) с использованием пластиковых микропипеток на 30 мкл с антикоагулянтом ЭДТА-К2. Биохимический анализ крови (содержание общего белка, железа, трансаминаз, ЩФ, ЛДГ) проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе StatFax 4500 (США) с использованием стандартных наборов реагентов UTS (Юнимед, Россия) и пробирок с активатором свертывания (Sarstedt, Германия).

#### ***Исследование аллергизирующего действия лиофилизатов***

Аллергенность лиофилизатов оценивали по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [9]. Исследования проводили на мышях линии BALB/c (самцы и самки) массой тела  $20,08 \pm 1,2$  г (30 шт.). Методом случайной выборки с учётом массы тела и пола в качестве определяющего показателя были сформированы контрольная и экспериментальные группы, согласно дизайну исследований (табл. 1).

Мышей сенсибилизировали однократным внутрикожным введением в основание хвоста 0,2 мл эмульсии компонентов флаконов с лиофилизатами в полном адъюванте Фрейнда (ПАФ) в соотношении 1:1. Контрольных животных сенсибилизировали эмульсией ПАФ с раствором Хенкса (1:1). Через 5 суток всем группам мышей в подушечку задней лапы вводили 0,1 мл раствора лиофилизата в растворе Хенкса. Контрольной группе животных вводили в подушечку задней лапы 0,1 мл физиологического раствора. Через 24 часа после тестирования измеряли величину отека с помощью инженерного микрометра МК-0-25. Разница в толщине обеих лапок характеризует степень развития отека, по которой оценивали интенсивность реакции ГЗТ.

#### ***Статистическая обработка результатов***

Все полученные данные обработаны методами математической статистики с применением пакета Microsoft Excel. При статистической обработке результатов исследования определяли показатели средних арифметических значений ( $M$ ), стандартных ошибок с учетом отклонения значений выборки от средних арифметических ( $\pm m$ ). Нормальность распределения проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При условии соответствия распределения нормальности достоверность полученных различий сопоставляемых величин оценивали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. При несоответствии нормальности распределения достоверность различий оценивали с использованием  $U$ -критерия Манна – Уитни. Частоты признаков сравнивались с использованием критерия  $\chi^2$ . Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### **Результаты и обсуждение.**

##### ***Острая токсичность***

На протяжении всего исследования летальность отсутствовала во всех группах мышей с введенным раствором Цигалина. Таким образом, определить значение  $LD_{50}$  не представилось возможным. Введение не вызвало отрицательного воздействия на поведение и внешний вид. В течение 14 суток наблюдения животные выглядели здоровыми, без выраженных признаков интоксикации. Двигательная активность, потребление пищи, состояние волосяного и кожного покрова, реакция на различные раздражители соответствовали норме. Количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания и цвет мочи соответствовали физиологической норме. Шерстный покров густой, белого цвета. По внешнему виду животные между группами не отличались. На протяжении эксперимента было произведено три контрольных взвешивания. Масса тела достоверно не отличалась между группами и имела положительную динамику.

Иную картину наблюдали для Фероцита: на протяжении всего исследования летальность отсутствовала только в группах ЭД и ЭДх5; в остальных группах (ЭДх10, ЭДх20, ЭДх40) общая летальность (по самцам и самкам) составила 30%, 60% и 80%, соответственно. В группе ЭДх50 летальность самцов и самок составила 100%. Значение полуметальной дозы  $LD_{50}$  составило 60 мг/кг массы мыши при внутривенном введении, что примерно равно 17-кратной дозе ЭД.

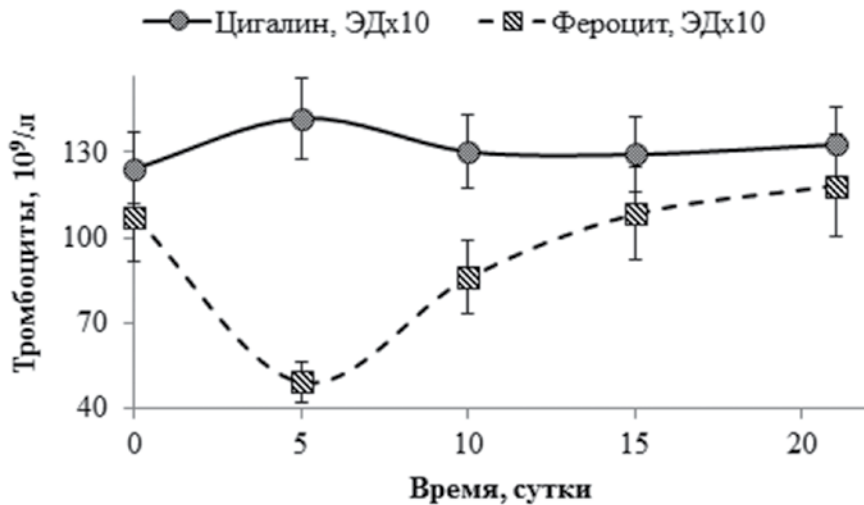
Введение раствора Фероцита в дозах, не превышающих эквивалентную предполагаемой для клинического применения в 5 раз, не вызвало отрицательного воздействия на поведение и внешний вид. В течение 14 суток наблюдения животные выглядели здоровыми, без выраженных признаков интоксикации и достоверных различий с контролем в положительной динамике набора массы. У павших мышей в группах ЭДх10, ЭДх20, ЭДх40 до гибели отмечали меньшую двигательную активность и большую потребность в потреблении воды. Внешний вид мышей не отличался от контроля. Среди выживших мышей не отмечали случаи сколько-нибудь значимых признаков интоксикации и отличия от контроля.

При аутопсии различий между контрольной и опытными группами для Цигалина и Фероцита (всех выживших животных) выявлено не было. Расположение внутренних органов соответствует норме. Просвет трахеи и бронхов свободен, слизистая их чистая, влажная, блестящая. Сердце правильной формы, не увеличено, миокард упругой консистенции, влажный, блестящий, рисунок волокон выражен хорошо. Большие сосуды, лежащие в области перикар-





**Рис. 1.** Динамика изменения значений концентрации лейкоцитов в цельной крови крыс после введения десятикратных доз Цигалина и Фероцита

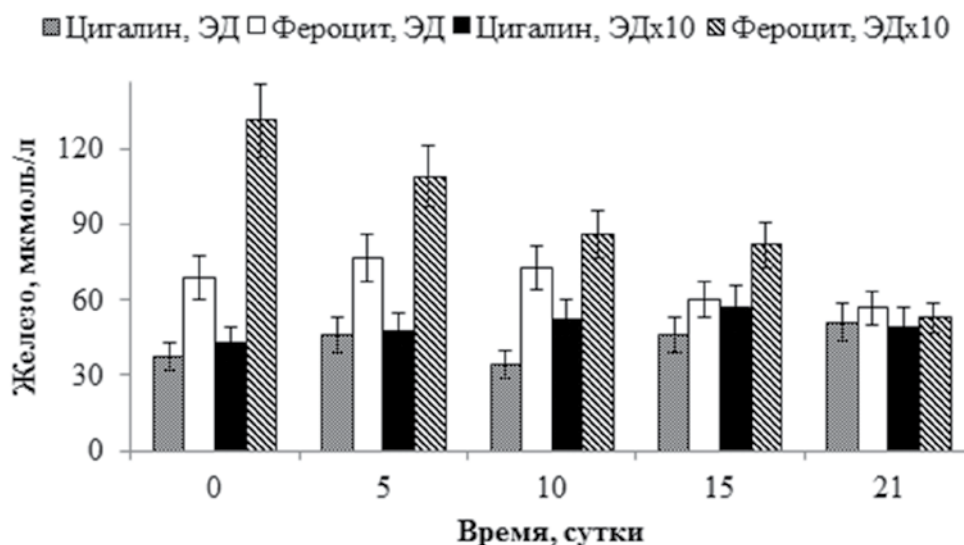


**Рис. 2.** Динамика изменения значений концентрации тромбоцитов в цельной крови крыс после введения десятикратных доз Цигалина и Фероцита

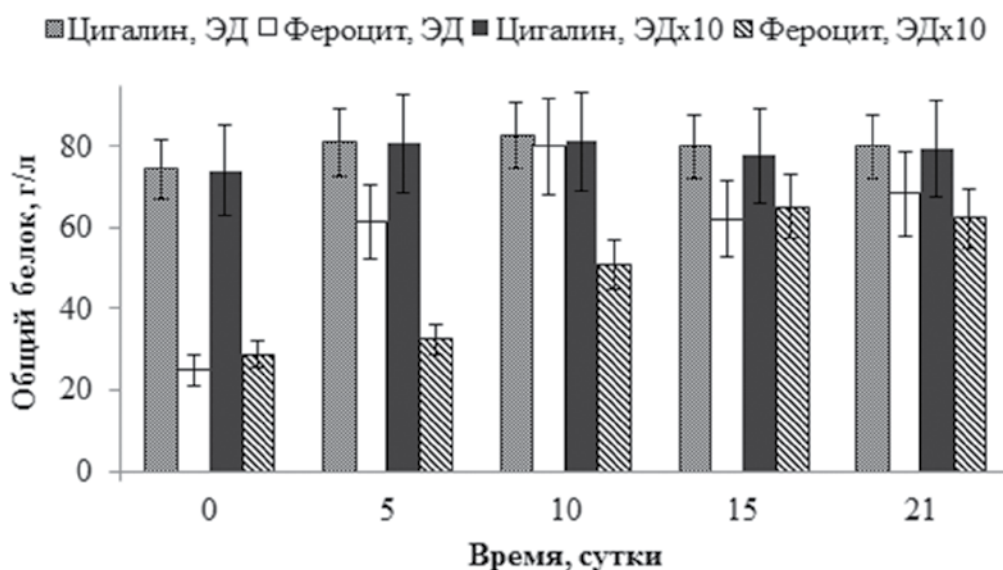
да, хорошо выражены. В полости сердечной сумки находится несколько капель прозрачной соломенно-желтого цвета жидкости. Легкие умеренно спавшиеся, имеют гладкую мягкую поверхность. Селезенка не увеличена, вытянутой формы, поверхность гладкая, консистенция плотная, на разрезе: пульпа не соскабливается, фолликулы и трабекулы имеют вид серых точек и полосок. Печень правильной формы, не увеличена, плотной консистенции, гладкая и блестящая. Почки правильной бобовидной

формы, фиброзная капсула легко отделяется. На разрезе хорошо видна граница коркового и мозгового слоев. Желудок и кишечник без вздутия, без спаек. Тимус без кровоизлияний. Щитовидная железа плотная с симметричными долями. Оболочки головного мозга умеренного кровенаполнения, влажные, блестящие. Мозговое вещество имеет симметричный рисунок на разрезе.

У павших животных после внутривенного введения высоких доз Фероцита отмечали незначи-



**Рис. 3.** Динамика изменения значений железа в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита



**Рис. 4.** Динамика изменения значений общего белка в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита

тельное потемнение печени в сравнении с контролем.

**Хроническая токсичность**

Общее состояние животных на протяжении всего эксперимента было в норме, отклонений не обнаружено, павшие животные отсутствовали. По результатам контрольных взвешиваний, во всех группах животных отмечена положительная динамика. Результаты по общему клиническому анализу крови (ОКА) представлены в таблице 2. Следует отметить отсутствие статистически достоверной

разницы по половому признаку между значениями показателей крови. Более того, введение крысам раствора Цигалина в десятикратной дозе не приводило к значимым изменениям показателей крови. Напротив, введение Фероцита в 10-кратной дозе привело на 5 сутки к резкому повышению лейкоцитов и понижению тромбоцитов, однако скачки имели функционально-обратимый характер – к 10-15 суткам между значениями для разных групп лиофилизатов и контролем не было статистически достоверной разницы. (рис. 1, 2).

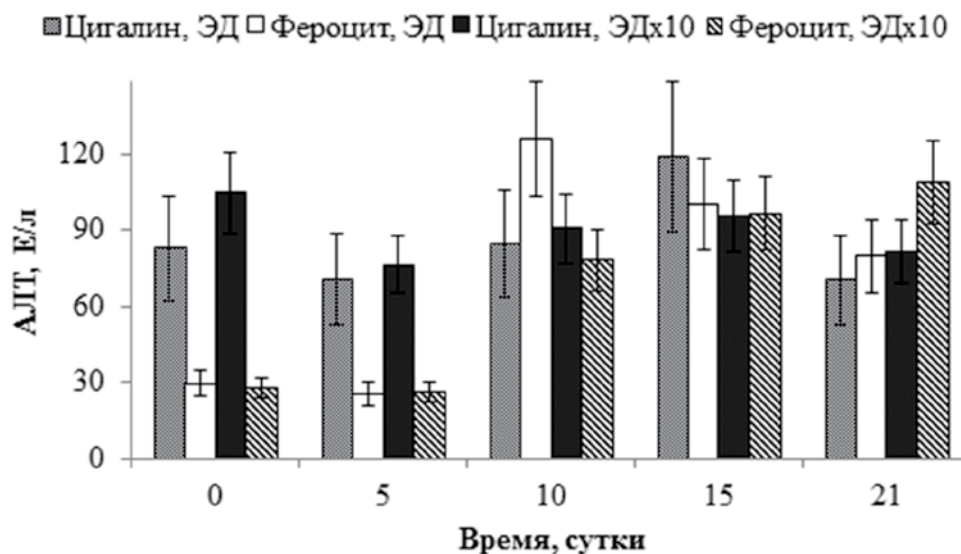
Таблица 2

## Сравнение полученных результатов ОКА крови исследуемых крыс (Ц – Цигалин, Ф – Фероцит)

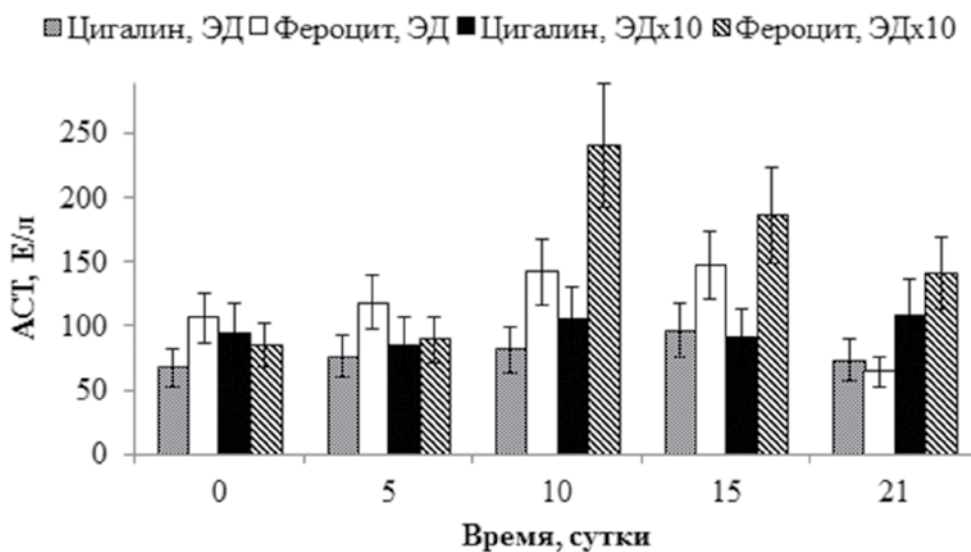
Гем. показатель	Контроль	Доза 0	Временные точки, сутки					
			5	10	15	21		
RBC, 10 <sup>12</sup> /л	5,9±0,7	ЭД	Ц	6,5±0,9	7,1±0,5	7,2±0,1	8,2±0,9	7,0±0,8
			Ф	7,1±0,7	6,1±1,4	8,7±1,7	7,9±2,1	8,4±0,6
		ЭДх10	Ц	6,9±1,0	7,2±0,9	6,5±0,8	7,2±0,8	7,6±1,0
			Ф	7,8±0,3 *	8,6±0,2 */**	9,3±0,4 */**	9,3±0,3 */**	8,1±1,7
HCT, %	35,4±2,5	ЭД	Ц	33,6±4,0	36,3±1,6	37,5±2,0	41,3±4,9	35,5±2,9
			Ф	28,9±4,3	26,7±6,3	38,7±7,3	34,9±3,1	34,4±0,4
		ЭДх10	Ц	35,9±4,0	37,4±2,6	35,0±0,8	37,2±2,0	37,3±1,2
			Ф	37,4±1,7	37,4±1,0	41,5±1,4 */**	41,0±1,7 */**	41,0±0,7
PLT, 10 <sup>9</sup> /л	119,9±12,2	ЭД	Ц	119,3±14,0	110,0±18,5	138,3±3,6	141,0±3,6	143,0±10,6
			Ф	125,1±7,3	133,7±11,6	110,3±18,2	115,3±16,2	128,3±5,8
		ЭДх10	Ц	124,3±6,8	142,0±14,8	130,3±6,1	129,3±2,1	132,7±5,1
			Ф	107,5±7,7	49,3±5,6 */**	86,0±12,0 */**	108,3±5,6	118,3±12,9
WBC, 10 <sup>9</sup> /л	14,4±2,8	ЭД	Ц	15,7±0,9	13,6±5,1	14,8±2,4	18,3±1,1	16,9±2,0
			Ф	14,7±4,0	13,9±2,6	10,9±1,7	16,4±6,8	13,9±4,9
		ЭДх10	Ц	14,8±3,5	10,9±2,6	12,4±1,1	12,3±2,1	13,7±0,4
			Ф	18,7±2,5	28,8±3,7 */**	12,2±2,2	15,0±1,7	10,8±2,2
HGB, г/л	140,2±10,3	ЭД	Ц	136,7±8,5	142,3±1,5	138,0±7,2	153,7±17,4	142,3±8,1
			Ф	137,7±3,9	112,3±23,1	157,3±22,2	135,3±35,6	163,0±12,0
		ЭДх10	Ц	134,0±15,1	140,7±8,6	131,3±2,5	137,7±5,0	155,0±11,0
			Ф	144,7±1,5	146,0±3,3	162,3±15,6	159,0±16,7	159,3±11,1

Примечание: \* различие в сравнении с контролем значимо (p&lt;0,05)

\*\* различие в сравнении с группой ЭД значимо (p&lt;0,05)



**Рис. 5.** Динамика изменения значений АЛТ в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита

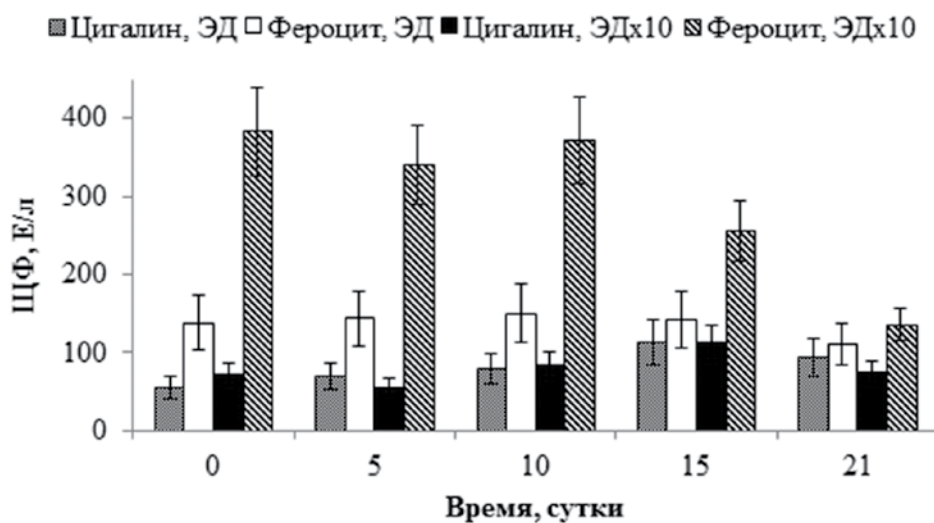


**Рис. 6.** Динамика изменения значений АСТ в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита

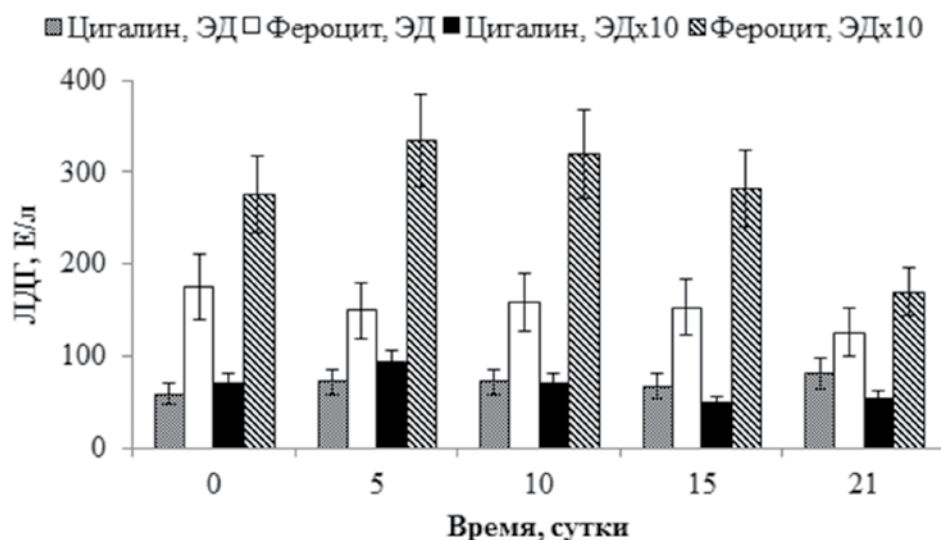
Результаты биохимического анализа плазмы крови позволили сделать вывод о высокой степени безопасности применения лиофилизата Цигалин. В исследуемых дозах раствор лиофилизата не приводил к статистически значимым изменениям показателей плазмы крови в сравнении с контрольными животными. Следует также указать на отсутствие статистически достоверной разницы между концентрациями различ-

ных биохимических показателей крови у самцов и самок.

Напротив, резкое повышение концентрации железа в крови (рис. 3) после введения Фероцита в десятикратной дозе запускаяло механизмы утилизации лишнего количества железа из крови посредством соединения железа с транспортными белками и их аккумуляции в печени, что явилось причиной резкого снижения уровня общего белка в крови (рис. 4). Излишнее на-



**Рис. 7.** Динамика изменения значений ЩФ в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита



**Рис. 8.** Динамика изменения значений ЛДГ в плазме крови крыс после введения различных доз Цигалина и Фероцита

копление железа в печени привело к увеличенной метаболической активности гепатоцитов, смещению равновесия между концентрациями трансаминаз (рис. 5,6) и резкому повышению уровня ЩФ (рис. 7) и ЛДГ (рис. 8).

Введение Фероцита крысам в десятикратной дозе приводило к симптомам токсического гепатита, однако носящего функционально-обратимый характер – к 15-20 суткам после введения не фиксировали статистически достоверной

разницы между значениями в экспериментальных и контрольной группах.

При вскрытии у крыс во всех группах кожа была чистой, подкожно-жировой слой развит умеренно. Внутренние органы не увеличены, расположение правильное; гидроторакс отсутствует; слизистая трахеи и бронхов чистая, влажная, блестящая, просвет свободен.

#### *Аллергизирующие свойства*

После введения тест-препарата отмечено по-

краснение на лапке, скорее всего, являющееся следствием укола. Разницы в толщине обеих лапок не выявлено, отека не было.

**Заключение.** В экспериментах были получены и проанализированы данные о действии растворов лиофилизатов для приготовления радиофармацевтического препарата <sup>68</sup>Ga-цитрат на организм грызунов (крысы, мыши) с точки зрения токсичности. В ходе эксперимента установили хорошую переносимость, полное отсутствие выраженных симптомов, аллергизирующего действия. Гибель животных отмечали лишь для высоких доз введения Фероцита. Ли-

офилизаты в рекомендуемых для клинического применения дозах не оказывали токсического эффекта, влияющего на статистически значимые изменения основных гематологических и биохимических показателей крови. После введения десятикратной дозы Фероцита наблюдали симптомы, носящие функционально-обратимый характер. Полученные результаты позволяют характеризовать лиофилизаты как безопасные для дальнейшего клинического применения в радионуклидной диагностике для визуализации воспалительных процессов методом ПЭТ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nanni C., Errani C., Boriani L., et al. <sup>68</sup>Ga-Citrate PET/CT for Evaluating Patients with Infections of the Bone: Preliminary Results. J. Nucl. Med. 2010; 51: 1932-1936.
2. Ларенков А.А., Брускин А.Б., Кодина Г.Е. Способ получения активной фармацевтической субстанции для синтеза препаратов галлия-68. Патент РФ № RU 2522892 С2 от 20.07.2014 г.
3. Лунёв А.С., Клементьева О.Е.,

- Кодина Г.Е. Расчетные исследования прогнозных значений поглощенных доз для оценки безопасности радиофармацевтического препарата <sup>68</sup>Ga-цитрат. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2015; 60(4): 19-26.
4. Доклинические исследования радиофармацевтических препаратов для позитронно-эмиссионной томографии. Методические указания 2.6.1.046-2013, утв. 4.07.2013 ФМБА России.

- М.; 2013.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012.
  6. ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 Принципы надлежащей лабораторной практики. Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации, М.; 2015.
  7. Эвтаназия экспериментальных

- животных. Методические рекомендации. М.; 1985.
8. European Convention for the Protection Vertebrate Animals Use for Experimental and Other Scientific Purposes ETS N 123. March 18 1986. Strasbourg; 1986.
  9. Любимов Б.И., Коваленко Л.П., Федосеева В.Н. и др. Оценка аллергизирующих свойств фармакологических веществ. Методические рекомендации №98/300. М.; 2000 .

## REFERENCES:

1. Nanni C., Errani C., Boriani L., et al. <sup>68</sup>Ga-Citrate PET/CT for Evaluating Patients with Infections of the Bone: Preliminary Results. J. Nucl. Med. 2010; 51: 1932-1936.
2. Larenkov A.A., Kodina G.E., Bruskin A.B. Producing method of active pharmaceutical substance for the synthesis gallium-68-labelled pharmaceutical. Patent RF, N 2522892; 2014 (in Russian)

3. Lunev A.S., Klementyeva O.E., Kodina G.E. Computational research of prognosis values of absorbed doses for pre-clinical safety evaluation of radiopharmaceutical <sup>68</sup>Ga-citrate. Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost. 2015; 60(4): 19-26. (in Russian)
4. Preclinical studying of radiopharmaceutical for positron emission tomography. HOWTO 2.6.1.046-2013. Moscow; 2013. (in Russian)

5. Guidance on preclinical studying of pharmaceutical. Part I. Moscow: Grif & K; 2012. (in Russian)
6. State Standard 33044-2014 by 01.08.2015 Good Laboratory Practice. Interstate Council of standardization, metrology and certification. Moscow; 2015. (in Russian)
7. Euthanasia of experimental animals. Guidelines. Moscow; 1985. (in Russian)
8. European Convention for the Protection

- Vertebrate Animals Use for Experimental and Other Scientific Purposes ETS N 123. March 18 1986. Strasbourg; 1986.
9. Lyubimov B.I., Lovalenko L.P., Fedoseeva V.N. et al. The allergenic properties assessment of pharmaceutical. Guidelines No 98/300. Moscow; 2000. (in Russian)

A.S. Lunev<sup>1,2</sup>, K.A. Petrosova<sup>1</sup>, M.V. Zhukova<sup>1</sup>, K.E. Ternovskaya<sup>1</sup>, O.E. Klementyeva<sup>1</sup>, N.P. Lysenko<sup>2</sup>

## TOXICITY EVALUATION OF SAFETY OF LIOPHILIZATES USED FOR FORMULATION OF THE RADIOPHARMACEUTICAL PREPARATION <sup>68</sup>Ga-CITRATE IN EXPERIMENT IN RODENTS

<sup>1</sup>A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, 123098, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, 109472, Moscow, Russian Federation

Toxicity effects of «Cigalin» and «Ferocit» lyophilizates used for formulation of the radiopharmaceutical preparation <sup>68</sup>Ga-citrate were studied in animal organisms (rats, mice). Good tolerability, absence of pronounced intoxication symptoms, allergenic effects and animal deaths were noted in experiments using a recommended clinic dose of lyophilizates. «Cigalin» didn't produce toxicity effects influencing on statistically significant changes in blood main hematological and biochemical parameters. Similar changes in case of «Ferocit» used in multiple doses were functionally reversible. The results permit to characterize <sup>68</sup>Ga-citrate as safe for clinical applications in radionuclide diagnostics for PET imaging of inflammation and infection.

**Keywords:** Cigalin, Ferocit, <sup>68</sup>Ga-citrate, acute toxicity, chronic toxicity, allergenic effect, safety.

Материал поступил в редакцию 23.12.2015 г.

## ИЗ ПРАКТИКИ

УДК 615.099 : 616-089

## КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ПАЦИЕНТА-НАРКОКУРЬЕРА С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ГЕРОИНОМ

*В.В. Шилов<sup>1</sup>, В.А. Лукин<sup>2</sup>, В.Е. Савелло<sup>2</sup>,  
А.М. Антонова<sup>2</sup>, Л.П. Пивоварова<sup>2</sup>,  
И.В. Осипова<sup>2</sup>, А.В. Рикова<sup>2</sup>, С.С. Гайдук<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», 195015, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**В** статье приводится описание клинического наблюдения пациента-наркокурьера, перевезившего контрабандным путем в полости желудка контейнеры, наполненные героином и поступившего в многопрофильный стационар в результате развившегося у него острого отравления. Острое отравление развилось в результате самопроизвольного нарушения целостности контейнера и излияния его содержимого в полость желудка. В стационаре проведена диагностика и комбинированное лечение – хирургическое вмешательство и детоксикация. Приведены результаты клинических, лабораторных и инструментальных исследований, а также результаты лечения.

**Ключевые слова:** героин, системное воспаление, хирургическое лечение.

Героин как полусинтетическое наркотическое средство опиоидной природы в настоящее время поставляется на территорию Российской Федерации и используется нелегальным путем. В последнее время перевозчики помимо типичных мест сокрытия наркотических веществ (ручная кладь, бытовые предметы, оборудованные тайниками и др.) часто используют так называемый внутриполостной способ сокрытия, когда наркотические вещества перевозятся внутри человеческого тела. В большинстве случаев такой способ сокрытия используется при осуществлении незаконных перевозок наркотиков на воздушном транспорте, так как время, затраченное на перевозку, имеет важное значение для наркокурьера. Перевозка наркотиков внутриполостным путем обеспечивает сравнительно малую вероятность их обна-

ружения, но одновременно является сложным и опасным способом транспортировки [1]. Опасность преимущественно связана с разрушением или повреждением целостности контейнера, внутри которого содержится наркотическое вещество с последующим излиянием его в полость органа и развитием интоксикации. Клиническое течение интоксикации героином широко описано в литературе [2, 3, 4]. Подобные отравления опасны развитием инфекционных осложнений. Ранее нами было показано, что при острых отравлениях веществами наркотического действия уже в ранние сроки у больных наблюдаются признаки системной воспалительной реакции, одним из факторов генерализации которой является активация продукции медиаторов воспаления (цитокинов) [5].

**Шилов Виктор Васильевич (Shilov Victor Vasilevich)**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, vshilov@inbox.ru

**Лукин Вадим Анатольевич (Lukin Vadim Anatolevich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением токсикологии НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, Vadim.Lukin@mail.ru

**Савелло Виктор Евгеньевич (Savello Victor Evgenievich)**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела лучевой диагностики НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, prof\_savello@emergency.spb.ru

**Антонова Анна Михайловна (Antonova Anna Mychailovna)**, кандидат медицинских наук, заведующая отделением рентгенологии НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, ama-spb@yandex.ru

**Пивоварова Людмила Павловна (Pivovarova Ludmila Pavlovna)**, доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, pivovarova@yandex.ru

**Осипова Ирина Викторовна (Osipova Irina Viktorovna)**, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией иммунологии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Рикова Анна Владимировна (Rikova Anna Vladimirovna)**, заведующая клинико-диагностической лабораторией ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, kdlnii@yandex.ru

**Гайдук Сергей Семенович (Gajduk Sergej Semenovich)**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела неотложной хирургии ГБУ «СПб НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», 192242, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, ssgaiduk@rambler.ru

**Собственные наблюдения.** Пациент Ш., 24 лет, с целью контрабандной перевозки поместил в полости желудка 100 упаковок (контейнеров), наполненных героином. Во время транспортировки по неустановленной причине произошло нарушение целостности контейнера и содержимое контейнера оказалось в полости желудка. Первые признаки интоксикации проявились после приземления самолета в виде нарушения сознания и дыхания. Прибывшие на место события специалисты скорой медицинской помощи наблюдали угнетение сознания до уровня комы (7 баллов по шкале Глазго) [6], миоз, брадикардию до 9 раз в минуту.

При поступлении в стационар состояние пациента Ш. тяжелое, сознание на уровне комы (6-7 баллов по шкале Глазго), миоз с отсутствием реакции на свет, дыхание с помощью мешка Амбу. Нормостеническое телосложение. Периферических отеков нет. Лимфатические узлы не увеличены. Дыхание везикулярное. Хрипов нет. ЧДД – 7 раз в минуту. Артериальное давление 130 и 80 мм. рт. ст. Частота сердечных сокращений 95 ударов в минуту. Живот мягкий. Печень не увеличена. Менингеальных знаков нет. Глазные щеле-

ли S=D. Зрачки симметричные, 2 мм в диаметре. Корнеальные рефлексы сохранены.

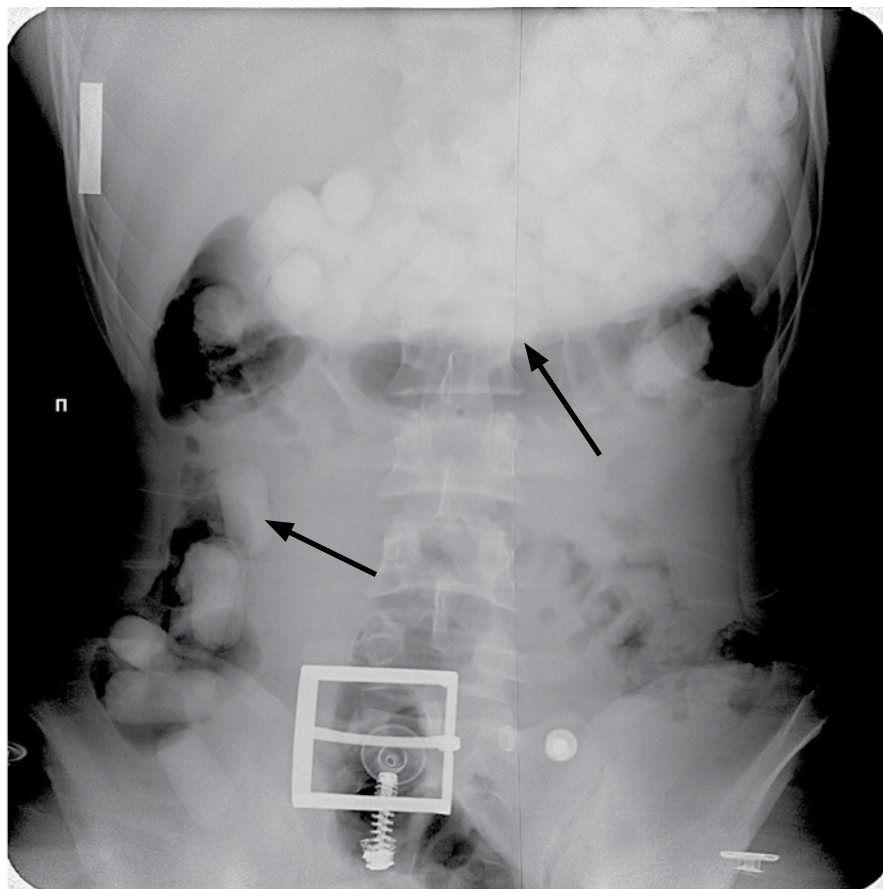
С целью исключения очагов инфекции и определения наличия инородных тел в организме, проведены рентгенологические исследования органов грудной клетки и брюшной полости.

На обзорной рентгенограмме органов грудной клетки – без инфильтративных изменений.

На обзорной рентгенограмме живота, выполненной в положении пациента лежа, определяются множественные инородные тела (контейнеры с героином) полностью заполняющие желудок и единичные в восходящей ободочной кишке (Рис. 1.)

На обзорной рентгенограмме груди, выполненной в положении пациента лежа: очаговых и инфильтративных изменений в легких не выявлено. Отмечается усиление легочного рисунка за счет сосудистого компонента. Корни легких не расширены, структурны. Сердце расширено в поперечнике за счет левых отделов. (Рис. 2)

На обзорной рентгенограмме живота, выполненной в положении пациента лежа, интраоперационно, определялось 3 инородных тела (контейнера с героином) в восходящей ободочной кишке (Рис. 3).



**Рис. 1.** Пациент Ш., 24 г. Рентгенограмма живота. В проекции желудка и в восходящей ободочной кишке определяются множественные контейнеры с героином (указано стрелкой).



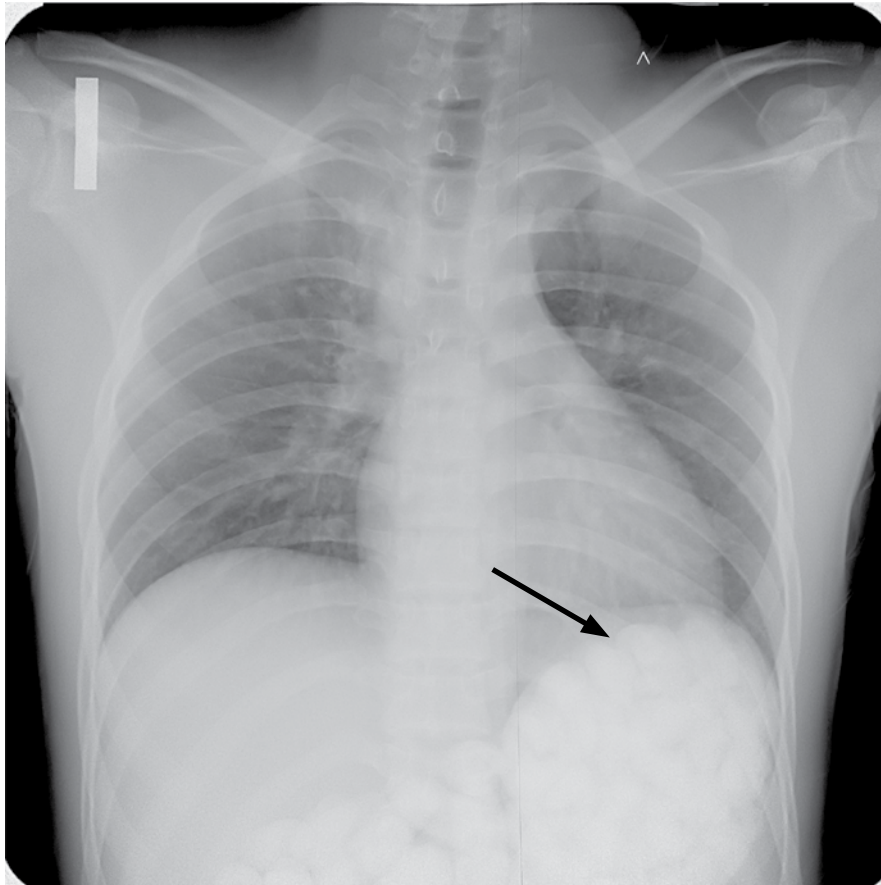
Диагноз формулировался следующим образом: «Множественные инородные тела желудочно-кишечного тракта. Острое отравление веществом наркотического действия опийной природы тяжелой степени. Острая дыхательная недостаточность. Искусственная вентиляция легких». Диагноз подтвержден химико-токсикологическим исследованием мочи.

С целью извлечения контейнеров больному под эндотрахеальным наркозом (с использованием закиси азота с кислородом в сочетании с нейролептаналгезией) выполнены верхне-средне-средняя лапаротомия, гастротомия, колонотомия с последующей эвакуацией 97 контейнеров из полости желудка и 3 контейнеров из восходящей ободочной кишки. Общий вес извлеченных контейнеров, содержащих вещество наркотического действия, составил 1500 граммов. После извлечения проведено ушивание гастротомического, колонотомического отверстий с послойным наложением швов на лапоротомную рану. Послеоперационное течение гладкое: на вторые сутки больной из реанимационного переведен на общехирургическое отделение, восстановление перистальтики кишки произошло на 3-и сутки,

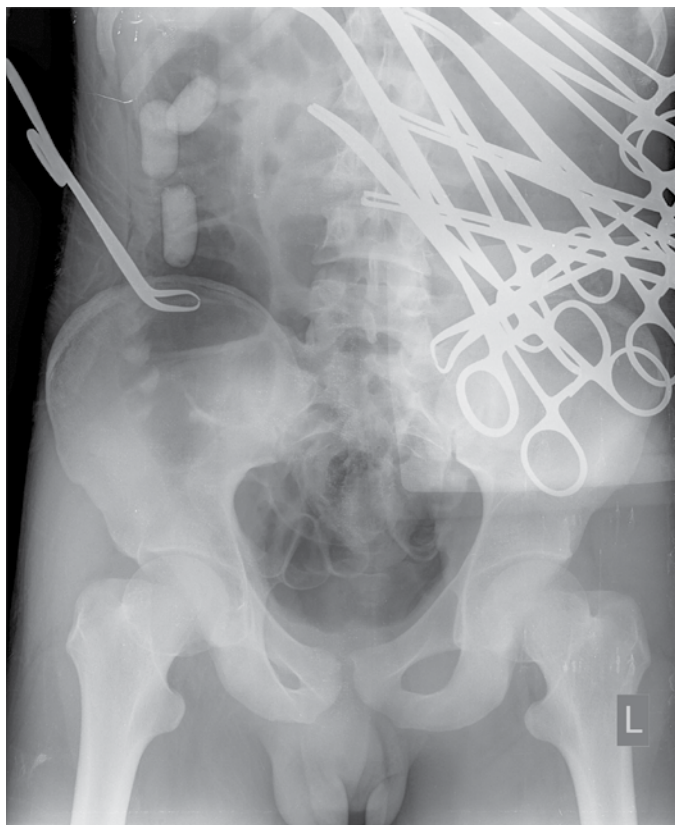
кормление пациента начато на 5-е сутки. Послеоперационные швы сняты на восьмые сутки.

На контрольной рентгенограмме органов брюшной полости после удаления контейнеров с героином инородные тела не выявлены (Рис. 4)

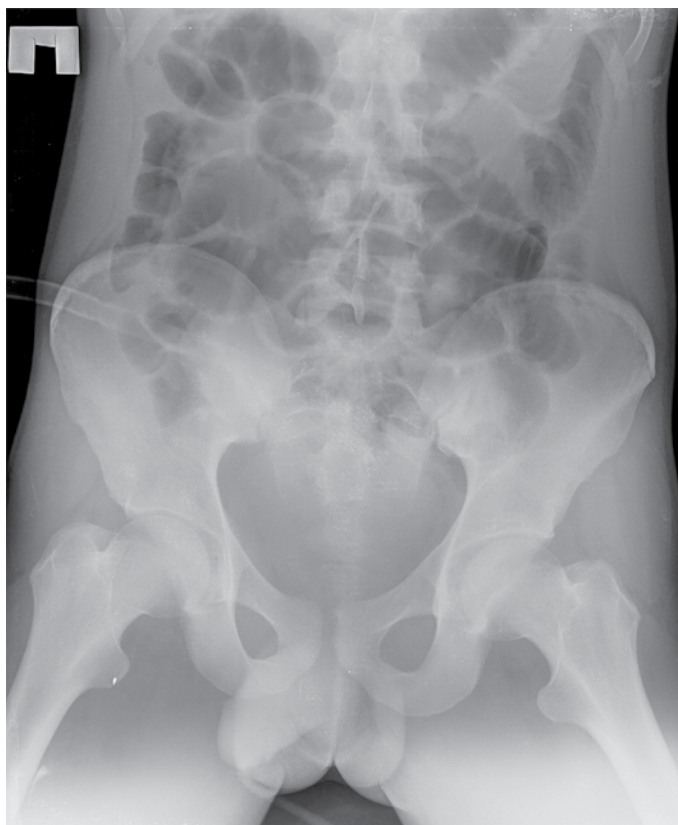
Результаты лабораторных исследований: при поступлении пациента наблюдали лейкоцитоз ( $11,7 \cdot 10^9/\text{л}$ , норма от 6 до  $8 \cdot 10^9/\text{л}$ ); гипоксемию ( $\text{pO}_2$  77,6 мм рт.ст.; норма от 88,1 до 102,5 мм рт.ст.); гиперлактатемию (лактат 4,3 ммоль/л; норма от 0,8 до 1,7 ммоль/л), увеличение содержания интерлейкина-6 до 83 пг/мл (норма от 2 до 26 пг/мл), повышение С-реактивного белка до 9 мг/л (норма от 2 до 4 мг/л). Другие исследуемые биохимические показатели (общий белок, билирубин, мочевины, креатинин, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, электролиты) были в пределах нормальных значений. В дальнейшем лабораторные исследования проводили в динамике через 1, 3 и 5 суток после отравления на фоне проводимой детоксикационной и симптоматической терапии. Показатели содержания кислорода и лактата на фоне проводимой искусственной вентиляции лёгких восстановились через 1 сутки  $\text{pO}_2$  - 89,7 мм рт. ст., на 5 сутки - 92,8



**Рис. 2.** Пациент Ш., 24 г. Рентгенограмма груди. В проекции желудка определяются множественные контейнеры с героином (указано стрелкой).



**Рис. 3.** Пациент Ш., 24 г. Рентгенограмма живота. В проекции восходящей ободочной кишки определяются 3 контейнера с героином (указано стрелкой).



**Рис. 4.** Пациент Ш., 24 г. Рентгенограмма живота после удаления контейнеров с героином (контрольное исследование). Инородных тел в брюшной полости не выявлено. Дренаж в проекции малого таза.

мм рт. ст.). Показатели активности системного воспаления оставались выше нормы до 3 суток после инцидента (лейкоциты  $12,1 \cdot 10^9/\text{л}$ , интерлейкин-6 до 95 пг/мл, интерлейкин-10 до 102 пг/мл, С-реактивный белок до 49 мг/л, фибриноген до 5 г/л).

Лечение острого отравления веществом наркотического действия с момента госпитализации проходило под контролем врача-токсиколога. При поступлении в качестве антидота больному Ш. внутривенно медленно в течение двух минут вводили раствор налоксона с начальной дозой 0,4 мг. Отсутствие эффекта потребовало повторного введения налоксона, которое проводили дважды внутривенно с интервалом от 3 до 5 минут до полного прояснения сознания и восстановления спонтанного дыхания. Общая доза вводимого налоксона составила 1,2 мг. Инфузионная терапия проводилась с целью снижения концентрации токсического вещества в плазме крови и включала водную нагрузку 5% раствором глюкозы,

0,9% физиологическим раствором, электролитов (объемом до 2,5 литров), лазикса. С целью профилактики гнойных осложнений, риск развития которых велик при таких выраженных лабораторных и клинических признаках системного воспаления, проведен курс антибиотикотерапии: введение антибиотика широкого спектра (ципрофлоксацин по 500 мг 2 раза в сутки) в сочетании с противомикробным препаратом (метронидазол 500 мг 2 раза в сутки).

Пациент Ш. был выписан на 8-е сутки в удовлетворительном состоянии под наблюдение у хирурга.

Таким образом, у больного Ш. наблюдались классические клинические признаки острого отравления героином тяжелой степени, лабораторные показатели свидетельствовали о наличии синдрома системного воспалительного ответа. Особенности ведения пациента заключались в успешном сочетанном проведении токсикологических и хирургических методов лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Демчук С.Д., Харатишвили А.Г. Способы совершения контрабанды наркотических средств и психотропных веществ как элемент криминалистической характеристики этого вида преступлений. Вестник криминалистики; 2005; 3 (15): 93 – 99.

2. Пятницкая И.Н. Общая и частная наркология. Руководство для врачей. М.: Медицина; 2008.

3. Лужников Е.А., Суходолова Г.Н. Острые отравления у взрослых и детей. М: ЭКСМО; 2009.

4. Лудевиг Р., Лос К. Острые отрав-

ления: Пер. с нем. М.: Медицина; 1983.

5. Шилов В.В., Пивоварова Л.П., Лукин В.А, Малышев М.Е., Осипова И.В., Арискина О.Б. и др. Диагностика и прогнозирование тяжелого сепсиса у пациентов с острыми

отравлениями опиатами. Вопросы наркологии. 2012. 6: 28-34.

6. Teasdale G.M. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. Lancet. 1974; 2 (2): 81 – 84.

## REFERENCES:

1. Demchuk S.D., Kharatishvili A.G. The methods of committing smuggling of narcotic drugs and psychotropic substances as part of criminological characteristics of this type of crime. Vestnik kriminalistiki. 2005; 3 (15): 93 – 99 (in Russian).

2. Pyatnitskaya I.N. General and private drug and alcohol abuse . Guidelines for doctors – Moscow.: Meditsina; 2008 (in Russian).

3. Luzhnikov E.A., Sukhodolova G.N. Acute poisoning in adults and children Moscow: EKSMO. 2009 (in Russian).

4. Ludevig R., Los K. Acute poisoning: Trans. from German. Moscow: Meditsina; 1983 (in Russian).

5. Shilov V.V., Pivovarova L.P., Lukin V.A, Malyshev M.E., Osipova I.V., Ariskina O.B. i dr. Diagnosis and prognosis of severe sepsis in patients

with acute poisoning by opiates. Voprosy narkologii. 2012; 6: 28-34. (in Russian).

6. Teasdale G.M. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. Lancet; 1974; 2 (2): 81 – 84.

V.V. Shilov<sup>1</sup>, V.A. Lukin<sup>2</sup>, V.E. Savello<sup>2</sup>, A.M. Antonova<sup>2</sup>, L.P. Pivovarova<sup>2</sup>,  
I.V. Osipova<sup>2</sup>, A.V. Rikova<sup>2</sup>, S.S. Gaiduk<sup>2</sup>

## CLINICAL OBSERVATION OF A PATIENT – DRUG COURIER WITH ACUTE POISONING BY HEROIN

<sup>1</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 195015, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Care, 192242, St. Petersburg, Russian Federation

A clinical observation of a patient, a drug courier. smuggling heroin in containers in gastric cavity is described. He was admitted to a multi-field hospital in consequence of acute poisoning. The acute poisoning resulted from a spontaneous violation of the container and outpouring of its content into the gastric cavity. At hospital, diagnostics and a combined treatment including surgical intervention and detoxification were carried out. Results of clinical, laboratory and instrumental investigations as well as treatment outcome are reported.

**Keywords:** heroin, systemic inflammation, surgical treatment.

Материал поступил в редакцию 09.02.2016 г.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 628.394.6:57/59

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННЫХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*В.С. Безель,  
С.В. Мухачева*

ФГБУН Институт экологии  
растений и животных  
УрО РАН, 620144, г.  
Екатеринбург, Российская  
Федерация

**Н**а основе исследований репродуктивных параметров мелких млекопитающих из природных популяций (на примере рыжей полевки), обитающих в зоне действия крупного предприятия цветной металлургии, и сопоставления полученных данных с результатами токсикологических экспериментов (хроническая заправка самок крыс Cd), сделана попытка оценить величину прямых эффектов токсического действия Cd. Ожидалось, что при существующих уровнях загрязнения, эмбриональные потери, вызванные прямым токсическим действием Cd, не должны превышать 7 %, однако, фактические потери существенно превышали результаты экстраполяции. Наблюдаемые различия обусловлены действием на репродукцию животных из природных популяций внешних и внутренних факторов, влияющих на реализацию репродуктивного потенциала.

**Ключевые слова:** загрязнение среды, кадмий, природные популяции, рыжая полевка, эмбриональные потери, токсикологический эксперимент.

**Введение.** В настоящее время приходит четкое понимание того, что в условиях возрастающего антропогенного воздействия на природную среду человечество страдает не только от прямого неблагоприятного воздействия антропогенных факторов, но и от вызываемых этими же факторами нарушений состояния отдельных биогеоценозов и биосферы в целом.

Традиционно негативные эффекты воздействия ксенобиотиков на человека исследуются в медицинской токсикологии в экспериментах на лабораторных животных. Развиваемая в последние десятилетия система мониторинга состояния природных экосистем, использующая широкий набор видов-индикаторов, также

предполагает их применение в качестве модельных объектов для оценки влияния химического загрязнения не только на природную среду, но и на человека. Часто в качестве таких моделей рассматривают популяции хорошо изученных зоологами видов мелких млекопитающих, обладающих широким ареалом, относительной оседлостью, высокой плодовитостью и значительной численностью в природных экосистемах [1,2].

Однако из-за существенной разницы условий возникают сложности прямого сопоставления состояния зверьков из природных популяций и лабораторных животных, тем более человека. Если в эксперименте можно строго дозиро-

**Безель Виктор Сергеевич (Bezel Victor Sergeevich)**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, Российская Федерация, beze I@ipae.uran.ru  
**Мухачева Светлана Валерьевна (Mukhacheva Svetlana Valer'evna)**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, Российская Федерация, msv@ipae.uran.ru

вать токсическую нагрузку и контролировать условия, а также обеспечить однородность выборки животных (генетическую, половую, возрастную), то в природных условиях соблюдение этих требований представляет значительные трудности. По этой причине при исследовании загрязнения территорий ксенобиотиками (в том числе, тяжелыми металлами) авторы, как правило, ограничиваются сведениями об их концентрациях в органах, тканях или организме в целом [2-5], реже изучают реакцию на воздействие физиологических, биохимических и популяционно-ценотических показателей [6-10].

Важнейшими характеристиками, которые необходимо регистрировать при изучении токсичности среды обитания для животных, имея в виду и благополучие человека, являются репродуктивные показатели, поскольку именно они определяют ход процессов популяционно-воспроизводства. Сложность сопоставления данных по плодовитости и эмбриональным потерям у млекопитающих из природных популяций и лабораторных животных заключается в том, что у диких видов эти параметры определяются не только уровнем токсической нагрузки, но и влиянием «внутренних» (разнокачественностью особей, действием плотностно-зависимых механизмов) и «внешних» (мозаичностью полей загрязнения, гетерогенностью микро-средовых параметров среды, погодно-климатическими условиями) факторов. В подобной ситуации встает проблема разделения эффектов прямого и опосредованного воздействия токсических агентов на репродуктивные параметры животных.

*Цель работы* – оценить прямые эффекты токсического действия загрязнения среды промышленными выбросами металлургического

производства, содержащими Cd, на репродуктивные параметры мелких млекопитающих из природных популяций (на примере рыжей полевки); сопоставить результаты с данными экспериментов по хронической затравке лабораторных животных соединениями Cd; рассмотреть возможность экстраполяции экспериментальных данных на природные популяции диких видов млекопитающих.

**Материалы и методы исследования.** В работе использованы материалы, полученные при исследовании населения мелких млекопитающих в зоне действия (1-2 и 4-6 км) крупнейшего на Урале предприятия по выплавке меди из первичного сырья (Среднеуральского медеплавильного завода) и на значительном удалении от него (20-30 км), где уровень загрязнения территории близок к уровню регионального фона.

В качестве модельного объекта использовали рыжую полевку (*Myodes glareolus* Schreber, 1780), доминирующую в сообществах мелких млекопитающих сравнимых территорий. Животных отлавливали линиями ловушек в течение периода массового размножения (май-август) одновременно на всех участках. В работе использовали только размножающихся самок (перезимовавших и прибылых), параметры репродукции документированы у 348 особей (табл. 1). Оценивали потенциальную (число желтых тел беременности) и фактическую (число жизнеспособных эмбрионов) плодовитость, общие эмбриональные потери (разность между числом желтых тел и живых эмбрионов, в % от числа желтых тел) [11]. Самки с полным срывом беременности из расчетов исключены.

Для оценки уровня индивидуальной токсической нагрузки на организм у полевок отбирали образцы содержимого желудков (n = 216), кон-

Таблица 1

**Репродуктивные характеристики самок рыжей полевки (в расчете на 1 самку), населяющих загрязненные и фоновые территории**

Исследуемый параметр	Территория исследования	
	Фоновая	Загрязненная
Анализируемая выборка	186	162
Количество желтых тел беременности	6,63 ± 0,11	6,43 ± 0,11
Размер выводка (число живых эмбрионов)	6,01 ± 0,16	5,75 ± 0,15
Общие эмбриональные потери, %	9,7 ± 1,2	8,6 ± 1,2

центрацию Cd (мкг/г сухой массы) в которых определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (AAS 6 Vario, Analytik Jena AG, Германия) в лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ ИЭРиЖ УрО РАН (аттестат аккредитации № РОСС. RU0001.515630).

Суточное потребление корма (P, г сухой массы) рассчитывали индивидуально по формуле [12]:  $P = (1.42 + 0.08 \times m)$ , где m – масса особи, г. Суточное поступление в организм Cd с кормом (мкг/г массы тела) оценивали дифференциро-

вано для каждой особи по индивидуальной концентрации элемента в содержимом желудка и количеству потребляемого ею корма.

Для экстраполяции экспериментальных данных на особей из природных популяций использовали сведения из литературных источников [13-22], полученные при хронической заправке самок крыс солями Cd (табл.2).

Статистический анализ осуществляли в пакете Statistica v.8.0. Для оценки различий в содержании Cd в рационе использовали непараме-

Таблица 2

**Репродуктивные эффекты Cd у самок крыс в лабораторном эксперименте**

Источник	Схема эксперимента, дозы (мкг/г/сутки)	Наблюдаемый эффект	Эмбриональные потери, %*
[13]	Внутрижелудочно, во время беременности (с 6 по 19 день) дозы: 0; 20; 40; 60; 80	Снижение размера выводка при дозах 60 и 80 мкг/г.сут	эффект отсутствует
[14]	Внутрижелудочно, до и в течение всей беременности дозы: 0; 0.1; 1.0; 10.0	Снижение размера выводка при дозе 10 мкг/г.сут	эффект отсутствует
[15,16]	Внутрижелудочно, до и во время беременности (с 7 по 16 день) дозы 0; 0.04; 0.4; 2.0; 4.0; 12.0; 40.0	Эмбриональные потери достигали 45% при дозе 40 мкг/г.сут	эффект отсутствует
[17]	Внутрижелудочно, во время беременности (с 6 по 18 день) дозы: 0; 10.0; 25.0; 50.0	Размер выводка не изменялся	эффект отсутствует
[18]	Внутрижелудочно, в течение всей беременности дозы: 2.5; 5.0; 10.0; 20.0	Эмбриональные потери составили от 15.5 % при дозе 2.5 мкг/г до 30% при дозе 20.0	2.0
[19]	Внутрижелудочно, в течение всей беременности дозы: 0.075; 0.75; 7.5	Эмбриональные потери составили 15.0; 17.7; 18.5 соответственно	7.0
[20]	С кормом в течение беременности (с 1 по 6 день) дозы: 0, 2.5; 5.0; 10.0	Срыв беременности у 40% самок при дозе 5.0 мкг/г.сут; у 87 % - при дозе 10.0 мкг/г.сут )	эффект отсутствует
[21]	Внутрижелудочно, в течение всей беременности доза: 0.5	Эмбриональные потери 11.4 %	6.7
[22]**	С кормом в течение беременности (с 9 по 19 день); дозы: 0; 3.0	Эмбриональные потери (резорбция) до 47%	эффект отсутствует

Примечание: \* – наши оценки эмбриональных потерь для природных популяций рыжей полевки на основе экспериментальных результатов \*\* – эксперимент на лабораторных мышах.

трический тест Манна-Уитни (U), для сравнения репродуктивных показателей использовали двухфакторный дисперсионный анализ, значимыми считали различия при  $p < 0.05$ .

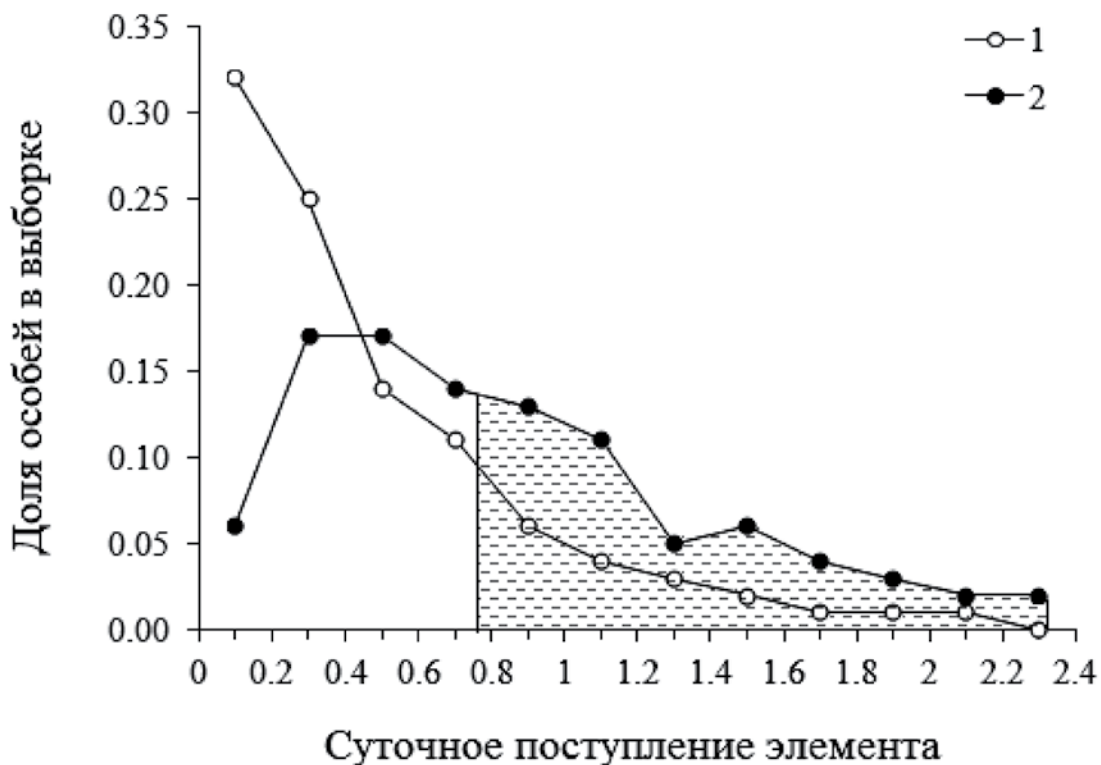
### Результаты и обсуждение.

Поступление Cd в организм самок рыжей полевки с кормом. Как правило, токсикологические эксперименты основаны на длительной заправке лабораторных животных соответствующими дозами токсических агентов, поступающими в организм разными способами (перорально, ингаляционно, подкожно и др.). При многокомпонентном составе рационов животных в природных условиях, мозаичности загрязнения и возможных различиях состава корма в градиенте загрязнения среды наиболее адекватно количественно оценить «дозовую нагрузку», можно учитывая концентрацию элемента в содержимом желудка и объем суточного потребления корма. Согласно нашим данным средняя концентрация Cd в корме размножающихся самок с загрязненных участков (4.27 мкг/г) существенно ( $U_{Cd=1606}, p < 0.0001$ ) превышала фоновые (0.92 мкг/г) значения [23]. На основании дифференцированных расчетов суточного поступления Cd с кормом в организм отдельных особей можно оценить особенности рас-

пределения «дозовой нагрузки» в анализируемой выборке (рис.1).

Репродуктивные показатели самок рыжей полевки. Показатели репродукции самок рыжей полевки, населяющих сравниваемые территории, приведены в таблице 1. У полевок, отловленных на разных участках, не отмечали значимых различий в размере выводка, потенциальной плодовитости и уровне эмбриональных потерь. Этот факт свидетельствует как о достаточно высокой консервативности показателей репродукции, обеспечивающих процессы популяционного воспроизводства в гетерогенной среде, так и эффективном действии внутривидовых механизмов поддержания численности вида в нестабильных условиях. Действие этих факторов в лабораторных исследованиях оценить невозможно ввиду константности условий проведения эксперимента.

Данные токсикологических экспериментов, сопоставление с результатами из природных популяций рыжей полевки. В таблице 2 приведены литературные сведения о воздействии разных доз солей Cd на репродуктивные показатели самок лабораторных крыс в течение беременности (при внутрижелудочном поступлении).



**Рис. 1.** Суточное поступление Cd с кормом (мкг/г массы тела) в организм особей рыжей полевки, населяющих фоновые и загрязненные участки. 1 – фоновый участок; 2 – импактный участок; заштрихованная область – доля самок рыжей полевки, получавших с кормом суточную дозу Cd, превышающую 0,75 мкг/г массы тела.

Для примера рассмотрим данные В.И. Качкова с соавторами [19]. При хронической заправке Cd лабораторных крыс дозой в 0.75 мкг/г массы тела средний уровень эмбриональных потерь у них не превышал 15% (табл.2). Согласно представленному выше распределению суточного потребления Cd рыжими полевками, подобную дозу с кормом может получать до 47% животных, населяющих загрязненные территории (рис.1, заштрихованная часть графика). В этой «критической» группе самок эмбриональные потери не должны превышать 7%. Аналогичная экстраполяция данных других авторов [18,21] показала, что на загрязненных участках общие эмбриональные потери у полевок, обусловленные поступлением Cd с кормом, не должны превышать эти значения (табл.2). У полевок с фоновых территорий общие эмбриональные потери за счет Cd, рассчитанные таким же способом, не должны превышать 3%.

В таблице 2 приведены также данные других авторов, отмечающих иные нарушения репродуктивного процесса у крыс в лабораторном эксперименте. Экстраполяция этих условий на данные по поступлению Cd с пищей к рыжим полевкам показала, что в нашем случае не следует ожидать подобных проявлений токсичности в природных популяциях полевок на загрязненной территории, в первую очередь, из-за отсутствия в этих популяциях доз, подобных экспериментальным заправкам (рис.1). В использованном нами подходе не учитывалось, что в определяемой нами «критической» группе животных имеются также особи, получающие ежедневно дозы Cd, выше порога, установленного на основании экспериментальных данных. Однако в силу логнормального характера кривой распределения суточного поступления Cd в природных популяциях животных доля таких сильно уменьшается с увеличением дозы и, вероятно, не может существенно изменить наши оценки (рис.1).

**Заключение.** Токсическое влияние Cd на репродукцию млекопитающих хорошо известно. При всей условности нашей экстраполяции, приводимые оценки в определенной мере отражают возможные эффекты прямого действия загрязнения среды на природные популяции рыжей полевки. При уровнях загрязнения, реально существующих в зоне действия изученного нами источника эмиссии поллютантов (в том числе, Cd), в результате подобной экстраполяции эмбриональные потери, вызванные прямым токсическим воздействием Cd, в среднем не должны превышать 7 %.

Однако приводимые выше оценки отличаются от реальных данных, полученных для рыжей полевки (табл.1): общие эмбриональные потери на загрязненном и особенно на фоновом участках превышали результаты экстраполяции (табл. 2). Наблюдаемые различия могут быть обусловлены влиянием на репродукцию множества внешних факторов, с которыми животные ежедневно сталкиваются в природной среде (уровень локальной численности, пространственная и демографическая структура популяции, меж- и внутривидовая конкуренция, кормовые и защитные свойства среды, погодноклиматические факторы и т.д.). Все эти факторы могут прямо и косвенно влиять на реализацию репродуктивного потенциала мелких млекопитающих. Приведенные оценки эмбриональных потерь в природных популяциях рыжей полевки соответствуют конкретным уровням и структуре загрязнения. Необходимо с осторожностью относиться к возможности экстраполяции настоящих выводов на другие экотоксикологические ситуации, при которых уровень эмбриональных потерь, вызванных прямой токсичностью Cd, может быть иным.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума УрО РАН (проект 15-12-4-28), (НШ-2840.2014.4) и РФФИ (грант № 16-04-00201).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Talmage S.S., Walton B.T. Small mammals as monitors of environmental contaminants. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 1991; 119: 47-1
2. Sawicka-Kapusta K., Świergosz R., Zakrzewska M. Bank voles as monitors of environmental contamination by heavy metals. A remote wilderness area in Poland imperiled. Environ. Pollut. 1990; 67: 315-3
3. Bezel V.S., Koutchenogij K.P., Mukhacheva S.V., Savchenko T.I., Chankina O.V. Using of synchrotron radiation for study of multielemental composition of the small mammal diet and tissues. Nucl. Instr. & Meth. in Physics Res. 2007; 575: 218-220.
4. Milton A., Cooke J.A. & Johnson M.S.: Accumulation of lead, zinc, and cadmium in a wild population of *Clethrionomys glareolus* from an abandoned lead mine. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2003; 44: 405-4
5. Sánchez-Chardi A., López-Fuster M.J., Nadal J. Bioaccumulation of lead, mercury and cadmium in the greater white-footed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): sex- and age-depend variation. Environ. Pollut. 2007; 145: 7-6
6. Безель В.С. Экологическая токсикология: популяционный и биоценоотический аспекты. Екатеринбург: Екатеринбург: Гошицкий; 20(in Russian)
7. Давыдова Ю.А., Мухачева С.В. Промышленное загрязнение не увеличивает частоту нефропатологий у рыжей полевки. Экология. 2014; 4: 278-2(in Russian)
8. Мухачева С.В. Воспроизводство населения рыжей полевки в градиенте техногенного загрязнения среды. Зоол. журн. 2001; 80 (12): 1509-15(in Russian)
9. Damek-Poprava M., Sawicka-Kapusta K. Histopathological changes in the liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metal emissions from the steelworks and zinc smelter in Poland. Environ. Res. 2004; 96: 72-
10. Zakrzewska M. Effect of lead on postnatal development of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1988; 17: 365-371.
11. Туликова Н.В. Методы изучения природных очагов болезней человека. М.: Медицина; 19(in Russian)
12. Кузнецов Г.В., Михайлин А.П. Особенности питания и динамики численности рыжей полевки в условиях широколиственного леса. М.: Наука; 19(in Russian)
13. Scharpf L.G., Hill I.D., Wright P.L., Plank J.B., Keplinger M.L., Calandra J.C. Effect of sodium nitrilotriacetate on toxicity, teratogenicity, and tissue distribution of cadmium. Nature. 1972; 239: 231-234.
14. Sutou S., Yamamoto K., Sendota H., Tomomatsu K., Shimizu Y., Sugiyama M. Toxicity, fertility, teratogenicity, and dominant lethal tests in rats administered



cadmium subchronically. *J. Toxicity studies. Ecotox. Environ. Safety.* 1980; 4: 39-

15. *Barański B., Stetkiewicz I., Sitarek K., Szymczak W.* Effects of oral, subchronic cadmium administration on fertility, prenatal and postnatal progeny development in rats. *Arch. Toxicol.* 1983; 54 (4): 297-302.
16. *Baranski B.* Effect of exposure of pregnant rats to cadmium on prenatal and postnatal development of the young. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 1985; 29(3): 253-262.

## REFERENCES:

1. Talmage S.S., Walton B.T. Small mammals as monitors of environmental contaminants. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1991; 119: 47-1
2. *Sawicka-Kapusta K., Świergosz R., Zakarzewska M.* Bank voles as monitors of environmental contamination by heavy metals. A remote wilderness area in Poland imperiled. *Environ. Pollut.* 1990; 67: 315-3
3. *Bezel V.S., Koutchenogii K.P., Mukhacheva S.V., Savchenko T.I., Chankina O.V.* Using of synchrotron radiation for study of multielemental composition of the small mammal diet and tissues. *Nucl. Instr. & Meth. in Physics Res.* 2007; 575: 218-220.
4. *Milton A., Cooke J.A. & Johnson M.S.:* Accumulation of lead, zinc, and cadmium in a wild population of *Clethrionomys glareolus* from an abandoned lead mine. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2003; 44: 405-4
5. *Sánchez-Chardi A., López-Fuster M.J., Nadal J.* Bioaccumulation of lead, mercury and cadmium in the greater white-footed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): sex- and age-depend variation. *Environ. Pollut.* 2007; 145: 7-6
6. *Bezel V.S.* Ecological toxicology:

17. *Simmons D.L., Valentine D.M., Bradshaw W.S.* Different patterns of developmental toxicity in the rat following prenatal administration of structurally diverse chemicals. *J. Toxicol. Environ. Health* 1984; 14: 121-1
18. *Литвинов Н.Н., Казачков В.И., Астахова Л.Ф.* К вопросу о дозоэффективной зависимости эмбриотоксического действия хлористого кадмия. *Гигиена и санитария.* 1988; 2: 86-(in Russian)
19. *Казачков В.И., Гасимова З.М., Астахова Л.Ф.* Модифицирующее

- population and biocenotic aspects. *Yekaterinburg: Gosckiki;* 20(in Russian).
7. *Davydova Y.A., Mukhacheva S.V.* Industrial pollution does not cause an increased incidence of nephropathies in the bank vole (in Russian) *Rus. J. of Ecol.* 2014; 4: 278-2
8. *Mukhacheva S.V.* The reproduction of bank vole in the gradient of anthropogenic pollution (in Russian). *Zoologicheskii zhurnal.* 2001; 80 (12): 1509-1517.
9. *Damek-Poprava M., Sawicka-Kapusta K.* Histopathological changes in the liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metal emissions from the steelworks and zinc smelter in Poland. *Environ. Res.* 2004; 96: 72-
10. *Zakrzewska M.* Effect of lead on postnatal development of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1988; 17: 365-371.
11. *Tupikova N.V.* Methods of studying the natural foci of human disease. *Moscow: Meditsina;* 19(in Russian)
12. *Kuznetsov G.V., Mikhailin A.P.* Peculiarities of feeding and population dynamics of bank vole in a broad-leaved forest. *Moscow: Nauka;* 19(in Russian)
13. *Scharpf L.G., Hill I.D., Wright P.L.,*

- действие свинца на эмбриотоксичность кадмия. *Гигиена и санитария.* 1992; 2: 60-(in Russian)
20. *Paksy K., Varga B., Lázár P.* Effect of cadmium on female fertility, pregnancy and postnatal development in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 1996; 84 (2): 119-130.
21. *Саломейна Н.В., Машак С.В.* Структурные основы материнско-плодовых отношений при химическом воздействии в эмбриогенезе. *Медицина и образование в Сибири.* 2012; available at: <http://ngmu.ru/cozo/mos/article/>

- Plank J.B., Keplinger M.L., Calandra J.C.* Effect of sodium nitrilotriacetate on toxicity, teratogenicity, and tissue distribution of cadmium. *Nature.* 1972; 239: 231-234.
14. *Sutou S., Yamamoto K., Sendota H., Tomomatsu K., Shimizu Y., Sugiyama M.* Toxicity, fertility, teratogenicity, and dominant lethal tests in rats administered cadmium subchronically. *J. Toxicity studies. Ecotox. Environ. Safety.* 1980; 4: 39-
15. *Barański B., Stetkiewicz I., Sitarek K., Szymczak W.* Effects of oral, subchronic cadmium administration on fertility, prenatal and postnatal progeny development in rats. *Arch. Toxicol.* 1983; 54 (4): 297-302.
16. *Baranski B.* Effect of exposure of pregnant rats to cadmium on prenatal and postnatal development of the young. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 1985; 29(3): 253-262.
17. *Simmons D.L., Valentine D.M., Bradshaw W.S.* Different patterns of developmental toxicity in the rat following prenatal administration of structurally diverse chemicals. *J. Toxicol. Environ. Health* 1984; 14: 121-1
18. *Litvinov N.N., Kazachkov V.I., Astakhova L.F.* On the question depending

- abauthors.php?id=580
22. *Rus M., Checui M.* Teratogenic and embryo toxic effects induced by heavy metals in mice: the quest for a recent and more precise classification of fetal skeletal anomalies in mouse strains. *Roman. Biotechn. Lett.* 2014; 19 (3): 9330-9338.
23. *Мухачева С.В., Безель В.С.* Тяжелые металлы в системе мать-плацента-плод у рыжей полевки в условиях загрязнения среды выбросами медеплавильного комбината. *Экология.* 2015; 6: 444-4(in Russian)

- "doze - effect" by embryo toxic influence of cadmium chloride. *Hygiene and sanitaria.* 1988; 2: 86-(in Russian).
19. *Kazachkov V.I., Gasimova Z.M., Astakhova L.F.* Modifying effects of lead on the embryotoxicity of cadmium. *Hygiene and sanitaria.* 1992; 2: 60-(in Russian)
20. *Paksy K., Varga B., Lázár P.* Effect of cadmium on female fertility, pregnancy and postnatal development in the rat. *Acta Physiol. Hung.* 1996; 84 (2): 119-130.
21. *Salomeina N.V., Mashak S.V.* Structural bases of maternal-fetus relationship in chemical exposure during embryogenesis. *Medicina i obrazovanie v Sibiri.* 2012; available at: <http://ngmu.ru/cozo/mos/article/abauthors.php?id=580> (in Russian)
22. *Rus M., Checui M.* Teratogenic and embryo toxic effects induced by heavy metals in mice: the quest for a recent and more precise classification of fetal skeletal anomalies in mouse strains. *Roman. Biotechn. Lett.* 2014; 19 (3): 9330-9338.
23. *Mukhacheva S.V. Bezel V.S.,* Heavy metals in the mother-placenta-fetus system in bank voles under conditions of environmental pollution from copper plant emission. *Rus. J. of Ecol.* 2015; 46 (6): 564-572.

*V.S. Besel, S.V. Mukhacheva*

## THE USE OF EXPERIMENTAL TOXICOLOGICAL DATA FOR EVALUATION OF THE STATE OF NATURAL POPULATIONS OF SMALL MAMMALS

Federal State Budgetary Institution of Science, Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, 620144, Yekaterinburg, Russian Federation

An attempt was made to estimate the dimension of direct toxic effects of exposure to Cd on the basis of researches on reproductive parameters in small mammals in natural populations ( on the example of red-backed vole) inhabiting localities of large-scale non-ferrous metal plants and comparison of results obtained with outcome of toxicological experiments ( chronic exposure of female rats to Cd ). It was expected that at the existing pollution levels, embryonic losses caused by direct toxic effect of Cd shouldn't exceed 7%; however actual losses significantly exceeded extrapolation results. Distinctions observed are caused by impact of external and internal factors influencing reproductive potential on fulfillment of reproduction of animals in natural populations.

**Keywords:** *pollution of the environment, cadmium, natural populations, red -backed vole, embryonic losses, toxicological experiment.*

Материал поступил в редакцию 16.10.2015 г.

УДК 595.324.089.1

# ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЕТВИСТОУСОГО РАЧКА *Ceriodaphnia affinis* В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Р.А. Ложкина, И.И.Томилина*

ИБВВ РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт биологии внутренних вод (ФГБУ ИБВВ)  
им. И.Д. Папанина РАН, 152742 пос. Борок,  
Ярославская обл., Российская Федерация

**И**сследовано влияние летальных и сублетальных концентраций лантана на выживаемость, рост и репродуктивные показатели ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* в остром и хроническом экспериментах.

**Ключевые слова:** редкоземельные элементы, лантан, токсичность, цериодафнии.

**Введение.** Интенсивное развитие новых технологий на основе использования редкоземельных элементов (РЗЭ) и все более возрастающая потребность в них привели в последнее время к заметному расширению масштабов их производства, а также расширению ассортимента содержащей их продукции и областей её применения. РЗЭ используются в различных отраслях техники: радиоэлектронике, приборостроении, машиностроении, химической промышленности, металлургии, сельском хозяйстве и др. [1].

Крупнейшими запасами РЗЭ (около 80%) в мире обладает Китай [2]. Россия является вторым по счету поставщиком РЗЭ, владея 20% мировых запасов. В последние десятилетия резко возросли добыча РЗЭ и их использование в промышленности и быту [3]. В связи с этим возросли масштабы их поступления в окружающую среду, в первую очередь в водоемы [4]. Увеличение содержания лантана и других РЗЭ в результате их использования для повышения урожайности сельскохозяйственных растений зарегистрировано в поверхностных водах Китая [3]. На площади более 1 млн га в течение 1993 года было применено в качестве удобрения более 1030 тонн РЗЭ [5]. Лантан и другие РЗЭ были обнаружены и в отходах сточных вод при добыче золота и урана, т.е. эти элементы могут попадать в водные экосистемы [6].

Несмотря на широкое использование РЗЭ, информации об их токсичности для водных организмов недостаточно [7,8,9]. В России установлены ПДК для питьевой воды для Eu (0,3 мг/л) и Sm

(0,024 мг/л) [10], для пресной воды – La (0,01 мг/л) [11].

**Цель исследования** – оценить жизнеспособность представителя пресноводного зоопланктона ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg при действии водорастворимых форм лантана.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали лантан сернокислый 8-водный  $\text{La}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Исследуемые концентрации в диапазоне 0,16 – 3,53 мкг La/л получали путем последовательного разведения отстоянной водопроводной водой (рН 7.0-7.5, общая жесткость 4.0-4.5 мМэкв/л  $\text{Ca}_2+$  и  $\text{Mg}_2+$ ) насыщенного раствора сернокислого лантана с концентрацией 446,88 мкг La/л, приготовленного на дистиллированной воде. Растворимость лантана в воде – 2,33 г/100 см<sup>3</sup> при 20°C [12]. Реальные концентрации лантана на момент постановки опыта измеряли при помощи масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой ICP-MS DRC-e [13].

В качестве тест-объекта использовали ветвистоусых рачков из лабораторной культуры *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Эксперименты проводили в соответствии со стандартной методикой [14].

Предварительно определяли летальные концентрации La (диапазон от 1,79 – 30,9 мкг La/л) при экспозиции 48 ч в остром опыте в 3-х кратной повторности. Для этого в каждый стаканчик с 50 мл раствора отсаживали по 10 экземпляров молоди, возраст которой составлял < 24 ч. Сред-

**Ложкина Роза Андреевна (Lozhkina Roza Andreevna)**, старший лаборант лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУ ИБВВ им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Российская Федерация, lozhkina.roza@yandex.ru

**Томилина Ирина Ивановна (Tomilina Irina Ivanovna)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУ ИБВВ им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Российская Федерация, tomi@ibiw.yaroslavl.ru

ную летальную концентрацию  $LC_{50}$  устанавливали графически с использованием пробит-анализа [14].

Действие сублетальных концентраций лантана исследовали в хроническом эксперименте, охватывающем весь жизненный цикл рачков. Генетически однородных рачков в первые сутки от рождения рассаживали в стеклянные стаканчики с 9 мл раствора по 1 экз. в каждый и наблюдали на протяжении 70 суток. Исследовали выживаемость, время наступления первого помета, продолжительность жизненного цикла и индивидуальную плодовитость животных. Рассчитывали максимальную и среднюю продолжительность жизни, суммарную плодовитость (общее количество молоди, полученное от одной самки в течение всей жизни), интенсивность размножения (суммарная плодовитость самки, отнесенная к ее продолжительности жизни в сутках) [15]. В ходе эксперимента животных кормили раз в два дня в момент смены воды зелеными водорослями *Chlorella vulgaris* в концентрации 250–300 тыс. кл/мл [14].

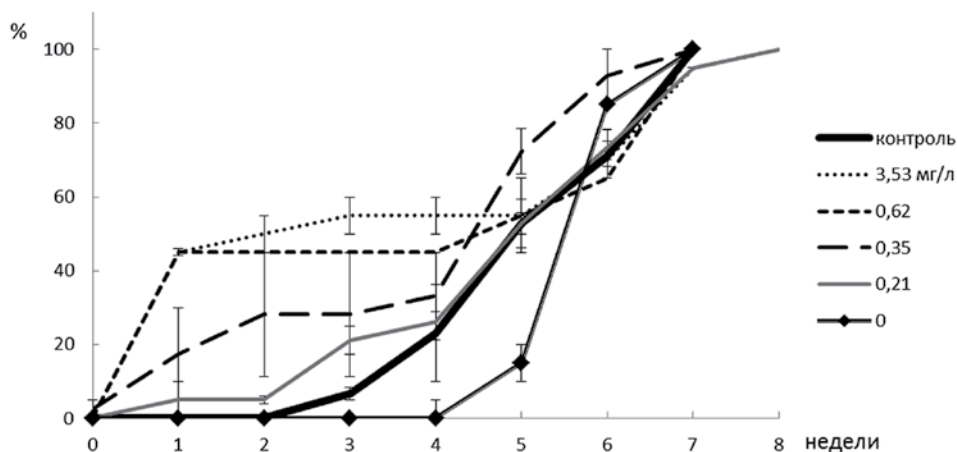
Хронические эксперименты выполняли в двух повторностях. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру воды –  $21 \pm 3^\circ\text{C}$ , pH 7,5 – 8,0, растворенный кислород – на уровне насыщения, световой режим при освещении лампами дневного света – 16 ч свет: 8 ч ночь. Контрольную группу тест-животных содержали в аналогичных условиях в отстоянной водопроводной воде без добавления La.

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ( $\bar{x} \pm SE$ ). Достоверность различий оценивали методом дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при уровне значимости  $p \leq 0.05$ . Результаты обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения

Microsoft Office Excell и STATGRAPHICS Plus 2.1.

**Результаты и обсуждение.** Предварительные исследования позволили установить  $LC_{50}$  за 48 ч экспозиции для *C. affinis*, которая составила 4,28 мкг La/л. В первые сутки хронического эксперимента интенсивная гибель цериодафний отмечена в растворах с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л, в то время как при 0,35, 0,21 и 0,16 мкг La/л гибели не наблюдали (рис. 1). Наиболее полным отражением степени комфортности условий существования и их адекватности биологическим потребностям организма служит продолжительность его жизни [15]. В эксперименте наблюдали широкую вариабельность сроков продолжительности жизни от 3 до 68 суток. Наименьшая вариабельность этого показателя зарегистрирована для самой низкой концентрации серноокислого лантана (табл.1). Средняя продолжительность жизни рачков в его растворах с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л была наименьшей (табл. 1). Достоверных отличий данного показателя от контрольных значений в растворах с концентрациями 0,16–0,35 мкг La/л не зарегистрировано. Средняя продолжительность жизни зависела от концентрации вещества и с её увеличением снижалась ( $r = -0.35$ ,  $p = 0.0001$ ).

Линейные размеры половозрелых особей при действии растворов серноокислого лантана в концентрациях 3,53, 0,62 и 0,21 мкг La/л были достоверно ниже контрольных в 1-ю (рис. 2а) и 3-ю неделю эксперимента. Особенно существенные различия просматривались в самой высокой концентрации лантана, в которой размеры взрослых особей не достигали контрольных на всем протяжении эксперимента. В ходе дальнейшего эксперимента при влиянии остальных концентраций разница уменьшалась, к концу 5-й недели размеры выравнивались. Можно предположить, что



**Рис.1.** Влияние лантана на смертность цериодафний в условиях хронического эксперимента  
Примечание: по оси абсцисс – недели, по оси ординат – процент гибели.

это является следствием фенотипической адаптации организма к продолжающемуся токсическому воздействию. Линейные размеры вылупляющейся молодежи отличались только в 1-ю неделю эксперимента (рис. 26). Отмечена достоверная стимуляция размеров молодежи в 1-3-ю неделю эксперимента в низких концентрациях лантана. Поскольку промеры проводили в первые сутки после рождения, можно предположить, что малые концентрации оказывали стимулирующее действие на стадии эмбрионов.

Растворы сернокислого лантана влияли и на репродуктивные показатели цериодафний. У особей, экспонированных в растворах токсиканта с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л, отмечено увеличение продолжительности периода до первого вымета потомства на 2 суток по сравнению с контрольными экземплярами и особями, экспонированными в растворах с более низкими концентрациями. Максимальная суммарная плодовитость за время наблюдения зарегистрирована в растворах токсиканта с концентрацией 0,16 мкг La/л, минимальная – 3,53 мкг La/л (табл.1). Статистических отличий от контроля не зарегистрировано при экспонировании рачков в 0,62, 0,35 и 0,21 мкг La/л. Таким образом, раствор сернокислого лантана с концентрацией 3,53 мкг La/л оказывает угнетающее действие на репродуктивную функцию рачков *C. affinis*. Максимальная интенсивность размножения обнаружена в растворах

с концентрациями 0,16 и 0,21 мкг La/л, минимальная – 3,53 мкг La/л (табл. 1).

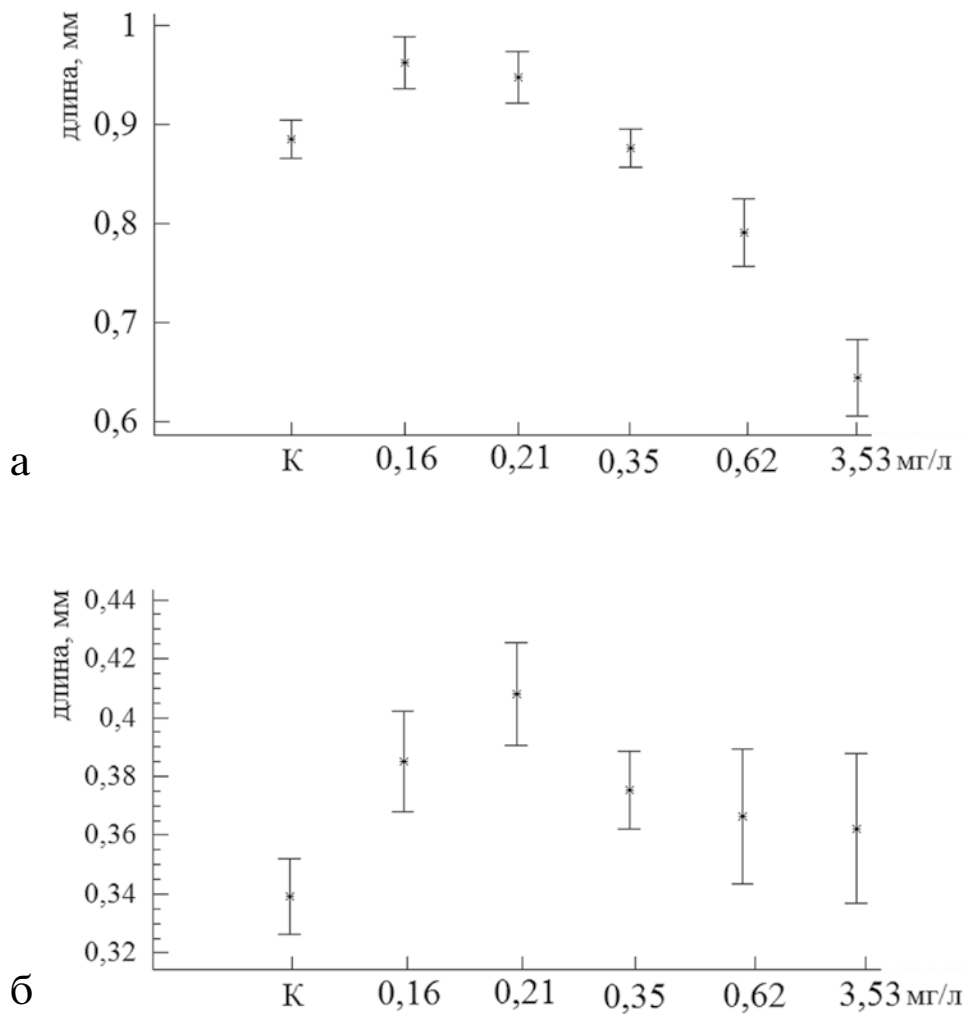
При попадании в водоемы РЗЭ могут поступать в водные организмы. Выбор в качестве тест-объекта цериодафний для оценки токсических свойств этих элементов представляется оправданным, т.к. ветвистоусые рачки относятся к организмам-фильтраторам, наиболее чувствительным к действию загрязняющих веществ. В литературе имеется мало данных о влиянии РЗЭ на функционирование водных организмов. Известно, что жесткость воды может изменять способность гидробионтов усваивать РЗЭ, воздействуя на растворимость, форму и физико-химические свойства соединений элементов, и как следствие, влияет на их биодоступность [17]. В большинстве случаев карбонатная жесткость способствует снижению токсичности РЗЭ вследствие образования нерастворимых карбонатов. Так для *Daphnia carinata* 48-ч LC<sub>50</sub> лантана составила 43 мкг/л при концентрации CaCO<sub>3</sub> 22 мг/л по сравнению с 1180 мкг/л при содержании CaCO<sub>3</sub> 160 мг/л [7]. В настоящем исследовании 48-часовая LC<sub>50</sub> лантана для *C. affinis*, составила 4,28 мкг La/л, что может быть связано как с видовой чувствительностью тест-организма, так и жесткостью питьевой водопроводной воды на уровне 72,4 – 90,5 мг/л по данным аналитического центра ИБВВ РАН (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.512040).

Таблица 1

**Влияние растворов лантана на продолжительность жизни и репродуктивные показатели рачков *Ceriodaphnia affinis***

Концентрация, мг/л	Продолжительность жизни, сут	Суммарная плодовитость, экз	Интенсивность размножения, экз/сут
Контроль	40,4±1,6 17,0-62,0	196,3±8,4 20,0-295,0	4,9±0,2 1,2-7,0
0,16	42,0±1,0 31,0-48,0	228, 5±8,6 167,0-291,0	5,5±0,2 3,6-6,6
0,21	36,6±2,9 9,0-56,0	194,5±16,2 34,0-300,0	5,3±0,2 3,8-6,6
0,35	36,7±2,9 7,0-68,0	170,0±14,9 5,0-286,0	4,4±0,2* 0,7-6,8
0,62	27,3±4,9* 3,0-54,0	202,0±22,0 4,0-295,0	4,4±0,4 0,6-6,3
3,53	24,8±4,9* 3,0-60,0	107,8±16,3* 2,0-186,0	2,6±0,3* 0,4-3,4

Примечание: числитель – средние значения и их ошибки, знаменатель – минимальное и максимальное значения, \* - достоверное отличие значений от контроля при p=0.05



**Рис.2.** Линейные размеры цериодафний в первую неделю эксперимента  
Примечание: а - взрослые, б - молодь.

Существует несколько потенциальных механизмов токсического воздействия РЗЭ на водные организмы, однако его точный механизм остается до конца неясным [7]. К основным факторам, определяющим экологическую опасность РЗЭ, относятся их концентрации в окружающей среде и биодоступность для организмов. Известно, что для ветвистоусых рачков основной путь поглощения РЗЭ – поступление через карапакс. Рачки активно поглощают кальций во время каждого цикла линьки до полного затвердения панциря, и то обстоятельство, что механизм поглощения  $La_{3+}$  в биологических системах сходен с таковым для  $Ca_{2+}$ , может приводить к нарушению нормального течения процесса линьки. Это, скорее всего, способствует проникновению  $La_{3+}$  во внутреннюю среду и возникновению токсических эффектов для организма [18]. Увеличение периода между линьками впоследствии может влиять на плодовитость рачков [7], приводить к увеличению возраста половой зрелости и уменьшению максимальной плодовитости [19].

Таким образом, проведенное исследование показало, что лантан в исследуемых концентрациях, в особенности 3,53 мкг La/l, влияет на продолжительность жизни и репродуктивные показатели *Ceriodaphnia affinis*.

**Заключение.** Сернокислый лантан в концентрациях 0,16 до 3,53 мкг La/l влиял на выживаемость, продолжительность жизни, рост, развитие, плодовитость рачков *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в сроки естественной продолжительности их жизни до 68 суток.  $LC_{50}$  за 48 ч составила 4,28 мкг La/l. Концентрации 0,62 и 3,53 мкг La/l снижали выживаемость и среднюю продолжительность жизни рачков, увеличивали срок первого вымета. Замедление роста отмечено в концентрациях 0,21-3,53 мкг La/l, однако на протяжении всего периода наблюдения оно имело место только в 3,53 мкг La/l. Эта же концентрация статистически достоверно снижала репродуктивную функцию рачков, в то время как концентрация 0,16 мкг La/l стимулировала размножение цериодафний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баренбойм Г.М., Авандеева О.П., Коркина Д.А. Редкоземельные элементы в водных объектах (экологические аспекты) // Вода: химия и экология. 20№ С. 42-56.
2. Brown P.H., Rathjen A.H., Graham R.D., Tribe D.E. Rare earth elements in biological systems. In: Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. Gschneidner Jr., K.A., Eyring, L. (Eds.). 19Elsevier, Amsterdam. P. 423 - 452.
3. Li Z.J., Zhang Z.Y., Wang Y, Li F.L. Zhao Y.L., Chai Z.F. Uptake and elimination of lanthanum by exised roots of *Triticum aestivum* L. // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 20V. 272 (3). P. 523-5
4. Pavlov D.F., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Pancratova Yu. Distribution of trace elements in freshwater ecosystem compartments of man-made Rybinsk Reservoir (Central Russia) using epithermal neutron activation analysis. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2005.N P.72-75.
5. Tribe D.E., Robards K.H., Reghenzani J.R., Asher C.J. Rare earth in Chinese agriculture. Part B: application of lanthanum to agricultural plants. In: Proceedings of the Rare Earths in Agriculture Seminar, Australian Academy of Technological Sciences and Engineering, 19National Sciences and Technology Centre, Canberra. 25 p.
6. Noller B.N. The identification of constituents in waste waters from gold mining using ICP-MS // *Int. J. Surface Mining Reclam. Environ.* 19V. P. 95 - 99.
7. Barry M.J., Meehan B.J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata* // *Chemosphere*. 20V. P. 1669-1674.
8. Jin X., Chu Z., Yan F., Zen Q. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* // *Limnologica*. 20V. P. 86-93.
9. Sun H., Wang X.-R., Wang L.-S. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck: influence of chemical species. *Chemosphere*. 19V. P. 1753-1760.
10. СанПин 2.1.4.1074-Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. 20http://www.stroyoffis.ru/sanpin\_sanitar/sanpin\_2\_1\_4\_1074\_01/sanpin\_2\_1\_4\_1074\_01.php
11. Рыбальский Н.Г. Экологические аспекты экспертизы изобретений: справочник эксперта и изобретателя. – М.:ВНИИПИ, 19- Ч.- С.139.
12. Таблица растворимости солей, кислот и оснований при разных температурах, http://dictionary.sensagent.com/Solubility\_table/en-en/
13. Taylor H.E. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques. San Diego: Academic Press, 20 294 p.
14. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости цериодафний. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.032М., АКВАРОС, 20- 56 с.
15. Томилина И.И., Гремячих В.А., Гребенюк Л. П., Клевлева Т. Р. Влияние нано-, микрочастиц и ионов цинка на пресноводных гидробионтов разных трофических уровней // Биология внутр. вод. 20№ С.93-102.
16. Filenko O.F., Isakova E.F. Gershkovich D.M. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilleborg in a laboratory culture // *Inland water biology*. 20V. P. 283-286.
17. Cooney J.D. Freshwater tests. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand G.M. (Ed.). 19Environmental Fate and Risk Assessment, second ed. Taylor & Francis, London. P. 71-98.
18. Das T., Sharma A., Geeta T. Effects of lanthanum in cellular systems // *Biol. Trace Element Res.* 19V.P. 201- 228.
19. Caswell H., Hastings A. Fecundity, developmental time, and population growth rate: an analytical solution // *Theoret. Population Biol.* 19V.P. 71- 79.

## REFERENCES:

1. Barenboym G.M., Avandeeva O.P., Korkina D.A. Rare earth elements in water bodies (environmental aspects) // *Water: chemistry and ecology*, 20№ S. 42-(in Russian).
2. Brown P.H., Rathjen A.H., Graham R.D., Tribe D.E. Rare earth elements in biological systems. In: Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. Gschneidner Jr., K.A., Eyring, L. (Eds.). 19Elsevier, Amsterdam. P. 423 - 452.
3. Li Z.J., Zhang Z.Y., Wang Y, Li F.L. Zhao Y.L., Chai Z.F. Uptake and elimination of lanthanum by exised roots of *Triticum aestivum* L. // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 20V. 272 (3). P. 523-5
4. Pavlov D.F., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Pancratova Yu. Distribution of trace elements in freshwater ecosystem compartments of man-made Rybinsk Reservoir (Central Russia) using epithermal neutron activation analysis. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2005.N P.72-75.
5. Tribe D.E., Robards K.H., Reghenzani J.R., Asher C.J. Rare earth in Chinese agriculture. Part B: application of lanthanum to agricultural plants. In: Proceedings of the Rare Earths in Agriculture Seminar, Australian Academy of Technological Sciences and Engineering, 19National Sciences and Technology Centre, Canberra. 25 p.
6. Noller B.N. The identification of constituents in waste waters from gold mining using ICP-MS // *Int. J. Surface Mining Reclam. Environ.* 19V. P. 95 - 99.
7. Barry M.J., Meehan B.J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata* // *Chemosphere*. 20V. P. 1669-1674.
8. Jin X., Chu Z., Yan F., Zen Q. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* // *Limnologica*. 20V. P. 86-93.
9. Sun H., Wang X.-R., Wang L.-S. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck: influence of chemical species. *Chemosphere*. 19V. P. 1753-1760.
10. СанПин 2.1.4.1074- Drinking water. Hygienic requirements for water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control. 2010 http://www.stroyoffis.ru/sanpin\_sanitar/sanpin\_2\_1\_4\_1074\_01/sanpin\_2\_1\_4\_1074\_01.php (in Russian).
11. Rybal'skiy N.G. Environmental aspects of examination of inventions: a guide expert and inventor. – М.:ВНИИПИ, 19- Ч.- S.1(in Russian).
12. Table solubility of salts, acids and bases at various temperatures, http://dictionary.sensagent.com/Solubility\_table/en-en/
13. Taylor H.E. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques. San Diego: Academic Press, 20 294 p.
14. Methods of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge, waste mortality and fertility change ceriodaphnia. Federal reestr (FR). FR.1.39.2007.032M., АКВАРОС, 20- 56 s. (in Russian).
15. Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Grebenyuk L. P., Klevleeva T. R. Influence of nano- and microparticles of zinc ions on freshwater aquatic organisms of different trophic levels // *Biologiya vnutr. vod.* 20№ S.93-1(in Russian).
16. Filenko O.F., Isakova E.F. Gershkovich D.M. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilleborg in a laboratory culture // *Inland water biology*. 20V. P. 283-286.
17. Cooney J.D. Freshwater tests. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand G.M. (Ed.). 19Environmental Fate and Risk Assessment, second ed. Taylor & Francis, London. P. 71-98.
18. Das T., Sharma A., Geeta T. Effects of lanthanum in cellular systems // *Biol. Trace Element Res.* 19V.P. 201- 228.
19. Caswell H., Hastings A. Fecundity, developmental time, and population growth rate: an analytical solution // *Theoret. Population Biol.* 19V.P. 71- 79

R.A. Lozhkina, I.I. Tomilina

### THE EFFECT OF LANTHANUM ON BIOLOGICAL PARAMETERS OF CRUSTACEANS CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG IN CHRONIC EXPERIMENTS

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

The effect of lethal and sub-lethal concentrations of lanthanum on the survival, growth and reproductive parameters of cladoceran *Ceriodaphnia affinis* in acute and chronic experiments are presented.

**Keywords:** rare earth elements, lanthanum, toxicity, *Ceriodaphnia*

Переработанный материал поступил в редакцию 18.08.2015 г.

## ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

### **АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ ГРЕБЕНЮК**

(к 50-летию со дня рождения)

9 января 2016 года исполнилось 50 лет заместителю председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, члену редакционной коллегии журнала «Токсикологический вестник» доктору медицинских наук, профессору Александру Николаевичу Гребенюку.

А.Н. Гребенюк родился в поселке Заречный Белярского района Свердловской области. В 1989 году с отличием окончил факультет подготовки врачей для Сухопутных и Ракетных войск Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова по специальности «лечебное дело». После окончания академии в течение трех лет проходил службу в войсках на должности начальника медицинского пункта – начальника лазарета полка. С 1992 по 1995 год учился в адъюнктуре при кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии под руководством профессора Н.А. Смирнова и академика РАН профессора Г.А. Софронова. После окончания адъюнктуры и успешной защиты кандидатской диссертации в 1995 году был назначен на должность преподавателя кафедры военной токсикологии и медицинской защиты академии, в 1998 году занял должность старшего преподавателя. Весь этот период наряду с проведением учебных занятий с курсантами и слушателями академии выполнял обязанности нештатного начальника учебной части кафедры, что позволило ему детально изучить все аспекты учебно-методической работы в медицинском вузе. В 1999 году ему присвоено ученое звание доцента, и он был назначен заместителем начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты. В 2002 году защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук, в 2003 году ему было присвоено ученое звание профессора по кафедре военной токсикологии и медицинской защиты. С 2007 по 2014 год проходил службу в должности начальника кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии – главного токсиколога-радиолога Министерства обороны



Российской Федерации. Наряду с руководством кафедрой и токсикологической службой, с января по август 2013 года исполнял обязанности заместителя начальника Военно-медицинской академии по учебной и научной работе. После демобилизации из рядов Вооруженных сил РФ в сентябре 2014 года в течение года работал ректором Института дополнительного профессионального образования Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России. С сентября 2015 года по настоящее время является заместителем директора ООО «Специальная и Медицинская Техника» по научной работе, а по совместительству – заведующим лабораторией токсикологии Северо-Западного научного центра гигиены и общественного здоровья Роспотребнадзора.

Профессор А.Н. Гребенюк – высококвалифицированный преподаватель с глубокой теоретической подготовкой и большим практическим опытом работы. Хорошо владеет методическими приемами ведения различных видов учебных занятий, чтения лекций, приема зачетов и экзаменов. Уже более 20 лет он

умело и с большим успехом проводит занятия по токсикологии, радиобиологии и медицинской защите со всеми категориями курсантов, студентов и слушателей Военно-медицинской академии. Влюбленный в свою специальность, он широко пропагандирует токсикологические знания как в России, так и за рубежом. В 2005-2008 годах он читал лекции по токсикологии и радиобиологии студентам медицинского факультета Санкт-Петербургского университета, с 2010 года по настоящее время преподает токсикологию, радиобиологию и медицинскую защиту в Санкт-Петербургской химико-фармацевтической академии. Неоднократно приглашался для чтения лекций и проведения семинаров в различные учебные и медицинские учреждения России, на испытательные полигоны, объекты по хранению и уничтожению химического оружия, в университеты Беларуси и Чехии. Его лекции всегда вызывают большой интерес и пользуются заслуженным успехом у слушателей.

Наряду с чтением лекций и проведением учебных занятий, А.Н. Гребенюк активно участвует в подготовке учебной литературы. Является одним из авторов учебника «Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита» (СПб: Фолиант, 2004), учебника «Военно-полевая хирургия» и Национального руководства по военно-полевой хирургии, автором 7 учебных пособий, имеющих гриф-рекомендацию Учебно-методического объединения по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России. В январе этого года свет увидел учебник «Токсикология и медицинская защита» (СПб: Фолиант, 2016), подготовленный при непосредственном участии и под редакцией профессора А.Н. Гребенюка, рекомендованный Федеральным институтом развития образования Министерства образования и науки РФ в качестве базового учебника по токсикологии для студентов и курсантов медицинских и фармацевтических вузов (факультетов).

Широко известны и научные достижения А.Н. Гребенюка. Круг его научных интересов чрезвычайно широк и охватывает практически все актуальные проблемы военной и экстремальной токсикологии. Хорошо известны его исследования в области организации медицинского обеспечения химической безопасности, оказания помощи пострадавшим при пожарах, химических авариях и террористических актах, изучения патогенеза интоксикаций и обоснования антидотной терапии острых отравлений, экотоксикологии. Результаты его исследований опубликованы в более чем 170 статьях в рецензируемых научных журналах и 12 монографиях, среди которых «Нейтрофил и экстремальные

воздействия» (СПб: ВМедА, 1998), «Медицинское обеспечение работ в районах затопления химического оружия» (СПб: Изд-во «Ъ», 2009) и др. Он является идейным вдохновителем, организатором и одним из авторов серии книг «Токсикология для врачей» (СПб: Фолиант, 2004-2012), куда вошли монографии «Спирты», «Нефтепродукты», «Токсичные компоненты пожаров», «Фтор и его соединения» и др. Его научные разработки защищены 7 патентами на изобретения и 2 свидетельствами о государственной регистрации программ для ЭВМ. По материалам своих исследований неоднократно выступал с докладами на научных конференциях и конгрессах, в том числе и международного уровня.

Как главный токсиколог-радиолог Минобороны России он принимал непосредственное участие в разработке нового комплектно-табельного оснащения медицинской службы Вооруженных сил РФ, в создании и принятии на снабжение новых аптек первой помощи и другого медицинского имущества, в подготовке и издании Формуляра лекарственных средств медицинской службы МО РФ, ряда руководств, указаний и рекомендаций для войсковых врачей, в числе которых «Профилактика, клиника, диагностика и лечение острых отравлений в войсках» (2010), «Методические указания по порядку применения медицинских средств противохимической защиты» (2011), «Методические рекомендации по оказанию медицинской помощи личному составу при поражении продуктами горения» (2012) и др. В качестве одного из руководителей медицинской службы Вооруженных сил РФ достойно представлял отечественную токсикологию на конгрессах по военной медицине, проходивших в Нигерии, Нидерландах, Чехии, Индонезии, Черногории, Германии, активно участвовал в работе международных совещаний по военной и экстремальной медицине в Бельгии, Японии, Сербии, Франции, Таиланде.

Будучи весьма авторитетным ученым и активным человеком, профессор А.Н. Гребенюк проводит большую работу в общественных и научных организациях. Является членом Президиума и заместителем председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, заместителем председателя Санкт-Петербургского научного общества токсикологов, вице-президентом Российского радиобиологического общества, членом научного совета РАН по радиобиологии. Член редакционной коллегии журналов «Токсикологический вестник», «Радиационная биология. Радиоэкология», «Acta Medica» (Hradec Kralove), входит в состав трех диссертационных советов по защите док-



торских и кандидатских диссертаций. Большим интересом у научной общественности пользуются Санкт-Петербургские конференции по актуальным проблемам токсикологии и радиобиологии (2001, 2004, 2008, 2011, 2015), в организации и проведении которых он всегда принимает активное участие. Не менее важное место в его деятельности занимает подготовка научно-педагогических кадров высшей квалификации: под его научным руководством выполнены и защищены 6 докторских и 19 кандидатских диссертаций, еще 2 диссертации готовятся к защите.

Профессор А.Н. Гребенюк – ветеран подразделений особого риска РФ, врач высшей квалификационной категории по специальностям «Токсикология» и «Организация здравоохранения и общественное здоровье», лауреат пре-

мии «Благотворительного фонда В. Потанина» как победитель конкурса среди преподавателей высших учебных заведений Министерства обороны РФ. Отмечая свой первый Юбилей, он и сегодня остается на передовых рубежах отечественной токсикологии, продолжая активную преподавательскую, научно-исследовательскую и общественную работу.

**Коллеги и ученики сердечно поздравляют Александра Николаевича Гребенюка с 50-летием, желают ему счастья, крепкого здоровья, новых успехов в его плодотворной творческой деятельности на благо нашей Родины.**

*Всероссийская общественная организация токсикологов*

*Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»*

## ОСТАПЕНКО ЮРИЙ НИКОЛАЕВИЧ

(к 75-летию со дня рождения)

23 января 2016 г. исполнилось 75 лет Юрию Николаевичу Остапенко.

Остапенко Ю.Н., кандидат медицинских наук, доцент, работает в системе здравоохранения более 45 лет и имеет большой опыт работы в оказании амбулаторно-поликлинической, лечебно-профилактической, скорой медицинской, госпитальной и реанимационно-анестезиологической помощи. С 1971 г. основным направлением профессиональной деятельности Ю.Н.Остапенко является клиническая токсикология. В совершенстве владея вопросами экстренной диагностики и оказания неотложной медицинской помощи при отравлениях на догоспитальном этапе, в стационаре, при массовых острых отравлениях, Ю.Н.Остапенко является ведущим специалистом в области клинической токсикологии и опытным организатором здравоохранения, главным внештатным специалистом токсикологом как Департамента здравоохранения г. Москвы (с 1986 г.), так и Министерства здравоохра-



ния Российской Федерации (с 2008 г.), членом Правления Всероссийской общественной организации токсикологов и членом Европейской ассоциации токсикологических центров и клинических токсикологов.

Под руководством Ю.Н.Остапенко в 1977 г. в г. Москве была организована выездная консультативная токсикологическая бригада анестезиологии и реанимации. По инициативе и при содействии Ю.Н.Остапенко разрабо-

тан Порядок оказания медицинской помощи при острых экзогенных химических отравлениях в г. Москве». Организована уникальная городская система оказания медицинской помощи больным с отравлением, включающая 3 специализированных центра и круглосуточную телефонную информационно-консультативную помощь.

Возглавляя Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-практический токсикологический центр Федерального медико-биологического агентства» с 1995 г. и являясь с 2015 г. руководителем отдела федерального банка по острой химической патологии, Ю.Н.Остапенко успешно сочетает практическую лечебно-диагностическую деятельность с организационной и научной работой. Под его непосредственным руководством разработаны информационные, нормативно-методические и технологические основы специализированной медицинской помощи населению при острых химических воздействиях для 43 центров/отделений острых отравлений, работающих в 39 основных промышленных субъектах Российской Федерации и образующих национальную систему токсикологической помощи, осуществляются меры медицинской токсикологической помощи, включая информационно-консультативную поддержку специалистов и населения, в том числе при чрезвычайных ситуациях.

Ю.Н.Остапенко оказывает научно-методическое руководство и координирует деятельность органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации по совершенствованию организации токсикологической помощи населению. Под его руководством разработаны Приказы Министерства здравоохранения Российской Федерации от 08.01.02 № 9 «О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи населению Российской Федерации», от 21.02.05 № 152 «О дальнейшем развитии информационно-консультативной токсикологической помощи населению Российской Федерации» и от 15.11.2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями». Данные разработки послужили также основой создания новой отраслевой статистической отчетности для обеспечения органов управления здравоохранением на федеральном и территориальном уровнях сведениями о токсикологической ситуации в различных субъектах Российской Федерации.

В настоящее время основным направлением работы Ю.Н.Остапенко является повышение эффективности медицинской помощи при отравлениях на основе разработки медико-экономических стандартов в области клинической токсикологии, способствующих достижению нового качественного уровня специализированной помощи пострадавшим от химических воздействий.

В течение последних лет по заданию Министерства здравоохранения Российской Федерации под руководством Ю.Н.Остапенко как главного внештатного специалиста токсиколога разработаны 17 стандартов и протоколов оказания стационарной токсикологической помощи. Кроме того, в качестве главного токсиколога Департамента здравоохранения г. Москвы Ю.Н.Остапенко разработаны московские городские стандарты догоспитальной и стационарной медицинской помощи больным с острыми химическими отравлениями. В рамках государственного задания Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации разрабатываются стандарты медицинской помощи больным с острыми и хроническими химическими отравлениями.

Ю.Н.Остапенко совмещает научную и практическую деятельность с подготовкой квалифицированных кадров по специальности, являясь с 1986 г. по настоящее время доцентом кафедры клинической токсикологии Российской медицинской академии последипломного образования Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ю.Н.Остапенко пользуется большим уважением и имеет высокий авторитет у российских и зарубежных специалистов, занимающихся вопросами токсикологии и смежных дисциплин. Постоянно и активно участвует в семинарах и конгрессах, проводимых Международной программой химической безопасности в качестве представителя Российской Федерации, а также приглашенного консультанта-токсиколога Всемирной организации здравоохранения, на высоком уровне отстаивая позиции отечественных ученых и преимущества системы организации медицинской помощи при острых отравлениях в Российской Федерации. Является автором более 300 научных публикаций. За монографию «Чрезвычайные ситуации химической природы (химические аварии, массовые отравления: медицинские аспекты)» присуждена премия МЧС России.

Ю.Н.Остапенко – врач-токсиколог высшей категории, член Центральной аттестацион-

ной комиссии Министерства здравоохранения Российской Федерации..

За заслуги в области здравоохранения неоднократно объявлялась благодарность Министра здравоохранения (1998, 2001, 2004 гг.), награжден отраслевым знаком «Отличнику здравоохранения», почетной грамотой Минздравсоцразвития (2007 г.). В 2011 г. присвоено почетное звание «Заслуженный врач Российской Федерации». В 2014 г. награжден медалью «За заслуги перед отечественным здравоохранением».

Желаем дорогому Юрию Николаевичу Остапенко крепкого здоровья и успешного продолжения его активной научно-практической и педагогической деятельности.

**ФГБУ «Научно-практический токсикологический центр Федерального медико-биологического агентства»**  
**ГУЗМ «НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы**  
**ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Министерства здравоохранения Российской Федерации**  
**Всероссийская общественная организация токсикологов**  
**Межрегиональная общественная организация «Ассоциация клинических токсикологов»**  
**Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»**

## ШАФРАН ЛЕОНИД МОИСЕЕВИЧ

(к 80-летию со дня рождения)

18 февраля 2016 года исполнилось 80 лет ШАФРАНУ Леониду Моисеевичу, доктору медицинских наук, профессору, Заслуженному деятелю науки и техники Украины, Почетному работнику морского и речного флота Украины, первому заместителю директора ГП «Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта» Минздрава Украины (Одесса).

За 50 лет своей активной и разносторонней научной деятельности он внес существенный вклад в развитие морской медицины, медицины транспорта, адаптации человека в экстремальных условиях производственной и окружающей среды, промышленной, транспортной и биохимической токсикологии, гигиены, токсикологии, биодеструкции и токсикологии горения полимерных материалов. Ему принадлежат приоритетные работы по токсиколого-гигиеническим аспектам перевозки опасных грузов, обоснованию категории транспортной токсичности, обоснованию принципов системного нормирования опасных грузов в штатных условиях и аварийных ситуациях.

Л.М. Шафран родился в г. Коростень Житомирской области, Украина, в семье служащих. В 1954 г. окончил среднюю школу с медалью в г. Черновцы. Далее вся жизнь связана с Одессой, где в 1954 г. поступил и в 1957 г. окончил с отличием Военно-морское медицинское училище. После увольнения в запас в связи с сокращением Вооруженных сил СССР в 1959 г. поступил и в 1966 г. окончил лечебный факультет Одесского государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова с отличием



и, одновременно, в 1964 г. – биологический факультет Одесского государственного университета им. И.И. Мечникова с отличием.

С 1959 г. работал помощником эпидемиолога, врачом Бассейновой санэпидстанции Черноморско-Азовского водздравотдела. В июле 1965 г. организовал и возглавил Бассейновую токсикологическую лабораторию Черноморско-Азовского водздравотдела, которая вскоре стала научно-практическим центром медицины водного транспорта на Южном, а затем и других морских и речных бассейнах страны.

Тесные творческие связи у коллектива лаборатории сложились с Центральными НИИ морского флота и технологии судостроения, НПО «Прометей», «Алмаз», «Рубин». НПО «Энергия», Черно-

морским, Латвийским и рядом других пароходств, судостроительными и судоремонтными предприятиями на всех морских бассейнах страны. Наряду с большим объемом проводимых в лаборатории химико-аналитических и экспериментальных исследований, сотрудники выполняли их непосредственно на судах в длительных морских рейсах, участвовали в производственных испытаниях на береговых объектах и в приемке судов в эксплуатацию. Сам Л.М. Шафран совершил в 1964-1992 гг. десятки морских рейсов в качестве судового врача и врача-исследователя, в том числе кругосветное плавание на т/х «Котовский». Результаты исследований легли в основу ряда положений и медицинских приложений к Международному кодексу морской перевозки опасных грузов (IMDG Code), отечественных «Правил морской перевозки опасных грузов» (МОПОГ) трех изданий 1968, 1977 и 1990 гг., Санитарных правил для морских, речных судов и портов СССР, обоснования максимально допустимых сроков непрерывного плавания, внедрения новых режимов труда и отдыха плавсостава, эксплуатации судов сокращенными экипажами, разработки системы профессионального психофизиологического отбора моряков, профилактики нейротоксикозов у членов экипажей 4-х поколений судов-газовозов и химовозов, системы гигиенической регламентации полимеров и лакокрасочных материалов судостроительного, транспортного назначения, для надводных, подводных и космических объектов, в том числе принципов создания композиций с заданными гигиеническими свойствами.

Этому способствовали тесные творческие связи и научно-методическая помощь ученых Одессы, Киева, Москвы, Ленинграда, Риги, Ростова на Дону и др. городов. Это обеспечило высокий научный уровень и практическую значимость, результативность выполняемых НИР, получивших высокую оценку у нас в стране и за рубежом, а также послужило одной из предпосылок открытия в 1978 г. в Одессе Филиала НИИ гигиены водного транспорта (Москва), а в 1988 г. – Всесоюзного НИИ гигиены водного транспорта Минздрава СССР (с 1992 г. – Украинский НИИ медицины транспорта Минздрава Украины). С этими учреждениями связана вся последующая научная деятельность Л.М. Шафрана как заведующего отделом, заместителя директора по научной работе и первого заместителя директора института. Установленные в то время международные научные связи с учеными более 20 стран мира частично поддерживаются по настоящее время.

Л.М. Шафран является автором более 600 научных работ, в том числе 18 монографий, руководств и справочников, около 30 авторских свидетельств и патентов. В 1968 г. он защитил кандидатскую, в 1982 г. – докторскую диссертацию, в 1985 г. ему

присвоено звание профессора, а в 2005 г. – Заслуженного деятеля науки и техники Украины. Создал международно признанную школу гигиенистов и токсикологов на транспорте. Под его руководством защищено 7 докторских и более 20 кандидатских диссертаций. Этот перечень успешно пополняется.

Ведет активную научную общественную деятельность, являясь членом правлений Украинских научных обществ гигиенистов, токсикологов, председателем ассоциации микроэлементологов Украины, членом экспертного совета ДАК МОН Украины, членом специализированного совета при Институте медицины труда НАМН Украины, председателем комиссии по гигиене и токсикологии полимерных материалов Комитета по вопросам гигиенического регламентирования Минздрава Украины, входит в редакции и редакционные советы ряда отечественных и зарубежных научных периодических изданий. В 1967-1976 гг. он являлся экспертом Международной морской организации при ООН (ИМО), в 1975-1980 гг. – членом Консультативного совета ВОЗ по охране здоровья моряков, был приглашенным профессором в Болгарии, Германии, Казахстане, России, является действительным членом (академиком) ряда общественных Международных Академий, в том числе Экологии и безопасности жизнедеятельности (МАНЭБ), Человека в аэрокосмических системах (МАЧАКС), Судостроения. Он является почетным профессором Всероссийского НИИ железнодорожной гигиены, был принят в члены Международной ассоциации морских врачей, Американского химического общества, Российского общества медицинской элементологии.

За плодотворную научную деятельность Л.М. Шафран награжден орденом «Знак Почета» и 3 медалями СССР, 5 медалями ВДНХ СССР, значком «Отличник здравоохранения», медалью им. М.В. Ломоносова (МАНЭБ), серебряной медалью им. Бернарда Нохта Института морской медицины и тропических болезней в Гамбурге, Почетным дипломом Института морской медицины в Гданске, грамотами Министерства здравоохранения и Министерства внутренних дел Украины.

Свое 80-летие Л.М. Шафран встречает в активной форме, полон научных планов, творческими идеями и начинаниями, участвует в подготовке научных кадров высшей квалификации.

**Сердечно поздравляем дорогого Л.М.Шафрана с юбилеем! Желаем крепкого здоровья, неиссякаемой энергии, успехов во всех начинаниях.**

*Правление Всероссийской общественной организации токсикологов  
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»*

*Друзья, коллеги и ученики*

# БЮЛЛЕТЕНЬ

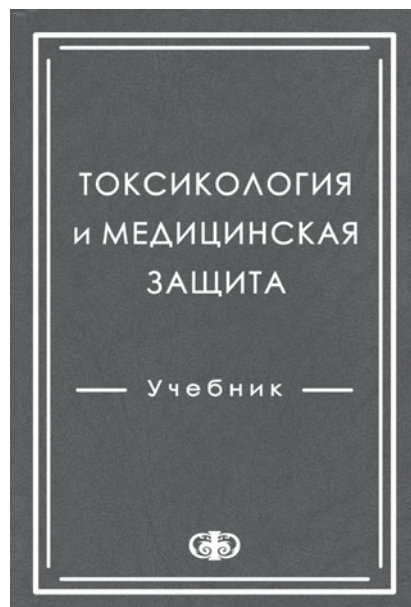


*Российского регистра потенциально  
опасных химических  
и биологических веществ*

## ▶ НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

**Гребенюк А.Н., Аксенова  
Н.В., Антушевич А.Е. и др.  
Токсикология и медицин-  
ская защита: Учебник / под  
ред. А.Н. Гребенюка. – СПб.:  
Фолиант, 2016. – 672 с. : ил.  
ISBN 978-5-93929-263-4**

Учебник подготовлен в соответствии с учебной программой по токсикологии, радиобиологии и медицинской защите для студентов и курсантов медицинских вузов (факультетов). В нем изложены цели, задачи, структура, основные понятия и термины токсикологии и радиобиологии, общие закономерности взаимодействия организма человека с химическими веществами и ионизирующими излучениями, основные формы токсических процессов и радиационных поражений. Приведена классификация отравляющих и высокотоксичных веществ, которые могут стать причиной поражения людей при экстремальных воздействиях, описан механизм их действия, патогенез и клинические проявления интоксикации, принципы диагностики и лечения острых отравлений. Дана характеристика источников ионизирующих излучений, представляющих опасность для здоровья человека, изложены основы биологического действия радиации, патогенез и клинические проявления радиационных поражений, развивающихся при внешнем, внутреннем, сочетанном и комбинированном воздействии. Подробно описаны современные подходы к реализации мероприятий медицинской защиты от действия поражающих



факторов радиационной и химической природы. Учебный материал изложен в 28 главах, каждая из которых завершается вопросами для контроля полученных знаний. Для облегчения восприятия приведенного материала учебник иллюстрирован 103 таблицами и 103 рисунками. Завершает учебник список основной и дополнительной литературы, включающий современные учебные пособия и руководства по токсикологии, радиобиологии и медицинской защите.

Учебник предназначен для курсантов военно-медицинских учебных заведений и студентов, обучающихся по специальностям высшего профессионального образования группы «Здравоохранение» с освоением программы военной подготовки. Кроме того, учебник может быть использован для подготовки студентов медицинских и фармацевтических вузов по учебной дисциплине «Безопасность жизнедеятельности. Медицина катастроф (Медицина чрезвычайных ситуаций)», а также в ходе послевузовского и дополнительного профессионального образования врачей различных специальностей.

Рецензентами учебника выступили начальник медицинского факультета Института ФСБ России (Нижний Новгород) доктор медицинских наук, профессор В.И. Андрухин; начальник учебного военного центра при Ростовском государственном медицинском университете доктор медицинских наук, про-

фессор Д.Н. Елисеев; заведующий кафедрой токсикологии, экстремальной и водолазной медицины Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова доктор медицинских наук, профессор В.В. Шилов. Издание рекомендовано федеральным государственным автономным учреждением «Федеральный институт развития образования» (ФГАУ «ФИРО») Министерства

образования и науки РФ в качестве учебника для использования в учебном процессе образовательных учреждений, реализующих программы высшего образования по специальностям «Лечебное дело», «Медико-профилактическое дело», «Фармация», а также военно-учетным специальностям «Лечебное дело наземных войсках», «Медико-профилактическое дело», «Фармация».

## РЕЦЕНЗИЯ на монографию П.Ф. Забродского «Иммунотоксикология фосфорорганических соединений»

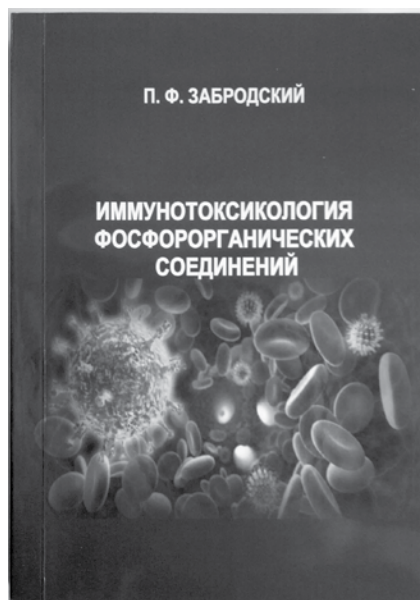
**Забродский П.Ф.**  
**Иммунотоксикология**  
**фосфорорганических**  
**соединений. - Саратов:**  
**Издательство «Саратовский**  
**источник», 2016. - 289 с.**

Монография доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации П.Ф. Забродского «Иммунотоксикология фосфорорганических соединений» посвящена рассмотрению токсических и иммунотоксических свойств фосфорорганических соединений (ФОС), в частности, боевых отравляющих веществ и инсектицидов.

Исследовано комбинированное действие различных ФОС и их антидотов на врожденный и адаптивный иммунитет. Проведена оценка влияния иммуномодуляторов на иммунные реакции, сниженные интоксикацией ФОС. В монографии представлены данные литературы и, в основном, собственных исследований о механизмах действия ФОС на систему иммунитета, а также способах коррекции постинтоксикационных нарушений иммунного гомеостаза.

Книга состоит из предисловия, 14 глав и заключения, содержит 81 таблицу, 36 иллюстраций. Список использованных источников отечественной и зарубежной литературы составляет 610 наименований.

В предисловии к монографии отмечено, что исследование воздействия ФОС, а также их комбинированного действия с антидотами на показатели врожденного и адаптивного имму-



нитета, а также изучение возможностей коррекции нарушенных гуморальных и клеточных иммунных реакций как в случае острых, так и хронических интоксикаций является одной из актуальных проблем токсикологии. Это определяется использованием ФОС в сельском хозяйстве, промышленности, медицине, быту, продолжающимся уничтожением фосфорорганическими отравляющими веществ (реализация Федеральной целевой программы «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации»), возможностью химически опасных аварий с поражением людей, а также ростом интоксикаций дан-

ными антихолинэстеразными соединениями, формирующими вторичные иммунодефицитные состояния. В настоящее время нельзя исключить применение ФОС в качестве химического оружия (боевых отравляющих веществ), в террористических и криминальных целях. В 60 странах мира за 20 лет зарегистрировано более 34000 отравлений ФОС, при этом 73% случаев отравлений связано с их употреблением. В России больные с острыми отравлениями ФОС составляют до 3% пациентов, поступающих в специализированные токсикологические центры. Из них в лечебных учреждениях погибает в настоящее время 20-24% больных. Несомненно, что в танатогенезе при отравлениях ФОС существенную роль играет нарушение патогенетических механизмов иммунного статуса.

В первых 3-х главах монографии приведены основные положения иммунологии и иммуно-

токсикологии, описаны экспериментальные методы оценки доиммунных факторов резистентности организма и иммунного статуса, дана общая характеристика ФОС.

Последующие главы книги посвящены изучению влияния острой и хронической интоксикации ФОС на врожденный и адаптивный иммунитет, комбинированному действию различных ФОС и их антидотов, а также ФОС и иммуномодуляторов на показатели системы иммунитета, механизмам иммунотоксического действия ФОС.

В главе 4 описано изменение показателей неспецифической резистентности организма (врожденного иммунитета) под влиянием ФОС. Описан открытый автором феномен, который реализуется вследствие «холинергического противовоспалительного пути (механизма)»: показано, что активация ацетилхолином 7 $\alpha$ -холинорецепторов (7 $\alpha$ ACHR) макрофагов, моноцитов и нейтрофилов при интоксикации ФОС приводит к подавлению продукции ими провоспалительных цитокинов, вызывающему снижение летальности животных при сепсисе и различных инфекционных процессах.

В 5-й и 6-й главах описаны характеристика иммуномодуляторов, иммуномодулирующие свойства Т-активина, имунофана и полиоксидония, их влияние на показатели врожденного иммунитета; 7-я глава посвящена влиянию ФОС на адаптивный иммунитет.

В главе 8 и 9 рассмотрены соответственно острое действие ФОС при их комбинированном действии с антидотами на показатели врожденного и адаптивного иммунитета; в главе 10 описано изменение функции Th1- и Th2-лимфоцитов, кооперации Т- и В-лимфоцитов, концентрации в крови кортикостерона, активности ацетилхолинэстеразы лимфоцитов, состояния перекисного окисления липидов под влиянием острой интоксикации ФОС в комбинации с антидотами; в главе 11 рассмотрена коррекция нарушений иммунного статуса после острого действия ФОС в комбинации с антидотами.

Изучению клеточных иммунных реакций, продукции цитокинов после хроническом действии ФОС, а также фармакологической коррекции выявленных изменений посвящена глава 12. В 13-й главе описано влияние хронической интоксикации ФОС на гуморальные иммунные реакции, кооперацию Т- и В-лимфоцитов и содержание цитокинов в крови, а так-

же коррекция постинтоксикационных нарушений.

В последней 14-й главе рассмотрены изменение функции Th1- и Th2-лимфоцитов, концентрации в крови кортикостерона, активности эстераз Т-лимфоцитов, состояния перекисного окисления липидов после хронической интоксикации ФОС.

Автор вполне справедливо отмечает в разделе «Заключение», что монография не дает полных ответов на далеко неоднозначные и иммунологические феномены при воздействии ФОС. Нерешенность многих вопросов, противоречивость и неоднозначность результатов исследований механизмов нарушения показателей врожденного иммунитета, а также иммуногенеза при острой и хронической интоксикации ФОС предполагает дальнейшее изучение этой проблемы.

Несомненная актуальность темы монографии, обзор большого числа источников литературы, высокий методический уровень собственных исследований автора, достоверность полученных результатов, обоснованность выводов позволяет рассматривать работу П.Ф. Забродского как значительный вклад в развитие существующих представлений о механизмах дисфункции системы иммунитета при интоксикации ФОС, в том числе, при комбинированном действии данных соединений и их антидотов, способах фармакологической коррекции постинтоксикационных нарушений иммунного статуса.

Книга имеет большую теоретическую значимость и практическую ценность.

Монография адресована токсикологам, иммунологам, фармакологам, биологам, физиологам, терапевтам и химикам.

**Член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук,  
профессор Б.А. Курляндский  
Доктор медицинских наук,  
профессор Х.Х. Хамидулина**

## НАС СПРАШИВАЮТ

**Производители стеклоомывающих жидкостей обращаются с просьбой дать компетентное обоснование действующих ограничений на использование метилового спирта в производстве незамерзающих жидкостей на территории Российской Федерации, т.к. искусственно формирующееся препятствие для производства, связанное с использованием данной продукции не по назначению, не может считаться обоснованием и правовой основой для ограничения использования метанола.**

### **Ответ:**

Основой регулирования обращения метанола является санитарно-гигиеническое законодательство.

В соответствии с п. 3.22 СП 2.3.3.2892-11 «Санитарно-гигиенические требования к организации и проведению работ с метанолом» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 12 июля 2011 г. N 99) не допускается использование метанола при изготовлении стеклоомывающих жидкостей.

Метанол – сильный яд, обладающий направленным действием на нервную и сердечно-сосудистую системы, зрительные нервы, сетчатку глаз. Поражение зрения (вплоть до слепоты) возможно при всех способах поступления вещества в организм.

Пары метилового спирта, попадающие в салон автомобиля через систему вентиляции и отопления, способны причинить серьезный вред здоровью водителя и пассажира. По данным литературы концентрация паров вещества в салоне может превышать предельно допустимую концентрацию метанола в воздухе рабочей зоны 5 мг/м<sup>3</sup> (ГН 2.2.5.1313-03 «Химические факторы производственной среды. Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 30.04.2003 № 76; ПДК<sub>раб.з.</sub> м.р. 15 мг/м<sup>3</sup>, с.с. 5 мг/м<sup>3</sup>, пары, 3 класс опасности) примерно в 4 раза. Кроме того, пары метанола могут оседать на внутренних поверхностях салона автомобиля.

При вдыхании продукта у человека наблюдается головная боль, головокружение, тошнота, ощущение «серого тумана» перед глазами, резкое снижение остроты зрения, першение в горле, кашель, рассеянное внимание, шум в ушах; в тя-

желых случаях – состояние возбуждения, судороги. Развитие симптомов отравления возможно через 12-24 ч.

Метанол обладает резко выраженными кумулятивными свойствами, способен к накоплению и может задерживаться в организме до 7-8 суток после однократного воздействия.

Оказывает выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей, проникает через неповрежденные кожные покровы.

Концентрации, обладающие минимальным токсическим действием (пороги действия) метанола: при ингаляционном воздействии для человека порог обонятельного ощущения (ПКзап.) 4,1 мг/м<sup>3</sup>, пороговая концентрация по раздражающему действию на слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей (ПКр.) 4,5 мг/м<sup>3</sup>. Порог изменения световой чувствительности глаза (ПКсв.ч.) 3,53 мг/м<sup>3</sup>. Порог по изменению биоэлектрической активности головного мозга (ПКээг) 1,17-1,46 мг/м<sup>3</sup>.

Принимая во внимание высокую степень кумуляции метанола в организме, при длительном повторном воздействии вещества возможно развитие необратимых изменений внутренних органов – структур головного мозга, что приводит к нарушению мозгового кровообращения (изменения артериального давления, гипертонический криз, инсульт), а также печени, поджелудочной железы. Кроме того, возможны нарушения со стороны репродуктивной функции.

