

Федеральное медико-биологическое агентство

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства
(ФГУП "НИИ ГПЭЧ" ФМБА России).

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства»
(ФГБУН ИТ ФМБА России).

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный институт
особо чистых биопрепаратов Федерального медико-биологического агентства»
(ФГУП «НИИ ОЧБ» ФМБА России).

Совет молодых ученых и специалистов ФМБА России (СМУС ФМБА России).
Совет молодых ученых ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России
(СМУ ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА).

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Сборник трудов
III всероссийской научной
конференции молодых ученых

под общей редакцией
д.м.н., профессора А.С. Радилова и
д.м.н., профессора В.Р. Рембовского



г. Санкт-Петербург,
2018

Медико-биологические аспекты химической безопасности : Сборник трудов III всероссийской научной конференции молодых ученых / Под общей редакцией д.м.н., профессора А.С. Радилова и д.м.н., профессора В.Р. Рембовского. – СПб., 2018. – 177 с.

В сборник включены тезисы докладов, подготовленные молодыми учеными научных организаций ФМБА России, Роспотребнадзора, Министерства обороны РФ, Министерства образования и науки РФ, Российской академии наук и Национальной академии наук Беларуси.

В материалах представленных тезисов отражены результаты научных исследований в области токсикологии, гигиены, фармакологии, профпатологии, аналитической и органической химии.

Сборник предназначен для широкого круга специалистов, занятых в сфере медицины, биологии и химии.

Редакционный совет:

проф., д-р мед. наук *А.С. Радилов*, проф., д-р мед. наук *В.Р. Рембовский*,
канд. хим. наук *А.И. Уколов*, *Е.А. Мурашко*, *П.Н. Сорокоумов*, *Д.М. Кочура*

© Радилов А.С., научное
редактирование, 2018
© НИИ ГПЭЧ, 2018

Уважаемые участники конференции, молодые ученые!

Приветствуем Вас на III Всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности», организованной по инициативе Совета молодых ученых ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Медико-биологические исследования, выполняемые Вами, носят уникальный характер, имеют важное значение для развития отечественной и мировой науки. Дают новый импульс как в традиционных направлениях токсикологии, гигиены, иммунологии, фармакотерапии, спортивной и других отраслях медицины, так и при формировании междисциплинарных исследований в новых областях молекулярной диагностики, системной биологии, аналитической токсикологии, биофармацевтики, биоинформатики и других инноваций.

Желаем Вам больших успехов в научно-исследовательской деятельности, удачи в творческом поиске, крепкого здоровья, счастья, благополучия.

С глубоким уважением,

И.о директора ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА
России, лауреат премии Правительства РФ
в области науки и техники, профессор,
доктор медицинских наук
А.С. Радилов

Научный руководитель ФГУП НИИ ГПЭЧ
ФМБА России, заслуженный деятель
науки Российской Федерации, лауреат
Государственной премии РФ, профессор,
доктор медицинских наук
В. Р. Рембовский

СОДЕРЖАНИЕ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

И.Г. Зенкевич

ПРИНЦИПЫ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГОМОЛОГИЧЕСКИХ РЯДОВ (НА ПРИМЕРЕ ДИАЛКИЛФОСФОНАТОВ И ТРИАЛКИЛФОСФИТОВ)	13
--	----

В.Р. Рембовский, Л.А. Могиленкова

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ПОДХОД КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ НАУЧНОЙ ИНТЕГРАЦИИ В СИСТЕМЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.....	16
--	----

Е.И. Савельева

СОВРЕМЕННЫЕ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРАКТИКЕ ЛАБОРАТОРИИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ.....	18
--	----

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Секция «Аналитическая и органическая химия»

О.Л. Балабанова, В.В. Шилов, А.Н. Лодягин, С.И. Глушков, А.М. Григорьев

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ α -ПИРРОЛИДИНОВАЛЕРОФЕНОМ (PVP).....	20
---	----

П.А. Воронина, А.А. Щипалкин, Е.Д. Рован, С.М. Рамш, В.А. Кузнецов

СИНТЕЗ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В РЯДУ ЗАМЕЩЕННЫХ 1,3-ДИГИДРО-2-ОКСО-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-КАРБОКСАМИДОВ	22
--	----

И.С. Один, П.А. Мельников, Ю.В. Вахитова, А.А. Голованов

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,3-ТРИАЗОЛА	23
--	----

Я.А. Дубровский, А.Ю. Горбунов, Н.Ю. Роговская, Е.А. Мурашко,

П.П. Бельтюков, В.Н. Бабаков

ПРОТЕОМНЫЙ ПОДХОД ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ БИОТОКСИНОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....	25
---	----

С.А. Захаренкова, В.В. Абзианидзе, В.А. Кузнецов, Ю.Г. Тришин

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ С-6 ПРОИЗВОДНЫЕ ПРИРОДНОГО ФЕОСФЕРИДА А: СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	26
---	----

И.Н. Исаев, В.Г. Мандыч, И.В. Коваленко, К.В. Андреев, А.В. Глазков, С.Н. Кобцов

ОСОБЕННОСТИ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ОБЪЕКТАХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ.....	28
---	----

А.А. Колобов, М.П. Смирнова, А.А. Колобов

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ПРЕПАРАТА ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ D-ЛИЗАРГАМА	29
--	----

С.Д. Колюбакин

ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ТЕХНОГЕННЫХ	
---	--

ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ДЛЯ ДАТИРОВКИ ПРОИЗВЕДЕНИЙ МАСЛЯНОЙ ЖИВОПИСИ НА ПРИМЕРЕ DDT И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ.	30
<u>Д.М. Кочура</u> , Д.В Криворотов, В.А. Кузнецов РАЗРАБОТКА ВЭЖХ-МЕТОДА ОЦЕНКИ ЛИПОФИЛЬНОСТИ ЦНС АКТИВНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ.....	32
<u>М.В. Крысько</u> , Ю.В. Слустовская, О.Ю. Стрелова ОБНАРУЖЕНИЕ ДИФЕНГИДРАМИНА В ПРИРОДНО ОКРАШЕННЫХ И ОБЕСЦВЕЧЕННЫХ ВОЛОСАХ (ШЕРСТИ) С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	34
<u>Е.А. Мурашко</u> , Я.А. Дубровский, П.П. Бельтюков, В.Н. Бабаков ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ИНГИБИРОВАНИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В КРОВИ И ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА.....	36
<u>Е.В. Никитин</u> , С.Е. Грибкова, В.А. Калашников, А.М. Григорьев, И.А. Родин ОБНАРУЖЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ НОВОГО ПСИХОАКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА ФУРАНИЛФЕНТАНИЛА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ	38
<u>Т.И. Пушкарева</u> , И.Г. Зенкевич ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ 4-ИЗОПРОПИЛФЕНОЛА КИСЛОРОДОМ ВОЗДУХА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ.....	40
<u>Т.С. Салль</u> , Е.В. Демьянова, Е.С.Щербакова, А.В.Жахов, А.М.Ищенко, С.И.Ситкин, Т.Я.Вахитов ВЫЯВЛЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БИОМАРКЕРОВ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК HEPG2.....	42
<u>О.Д. Смирнова</u> , К.В. Паламарчук, И.В. Калашникова, Д.А. Бокарева, В.Ю. Мусатова, С.А. Семенов, Т.А. Нугманова РОСТ TRICHODERMA ASPERELLUM НА СРЕДАХ С НАНОЧАСТИЦАМИ И МАГНИТНЫМИ МЕТАЛЛОПОЛИМЕРНЫМИ НАНОКОМПОЗИТАМИ.....	44
В.В. Баюшева, <u>Д.Н. Соболев</u> МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ИНСЕКТИЦИДОВ КЛАССА ФИНИЛПИРАЗОЛОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ.....	47
М.В. Ларькина, <u>М.Р. Фейсханов</u> ХИМИКО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ДЕТЕЙ	49
<u>В.И. Шмурак</u> , Е.Д. Кессених, М.Д. Шачнева, Л.К. Густылева, Т.И. Алюшина, Н.Л. Корягина, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ДЕСТРУКЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС	51

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ.

Секция «Экспериментальная и клиническая токсикология»

<u>Т.И. Станиславович</u> , Т.И. Кузьмина УЧАСТИЕ КЛЕТОК ГРАНУЛЕЗЫ КОРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ПРОЛАКТИНА
--

НА КОМПЕТЕНЦИЮ К РАЗВИТИЮ ООЦИТОВ, НЕ ЗАВЕРШИВШИХ ФАЗУ РОСТА IN VIVO.....	54
<u>С.М. Кириллова, В.Г. Михайлов, С.Л. Ветошкин, А.Ю. Исаева</u> РЕАЛИЗАЦИЯ ОСНОВ ТОКСИКОЛОГИИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ РАБОТ ПО ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОБЪЕКТОВ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ.....	56
<u>О.И. Ачкасова, А.А. Борунов</u> АКТУАЛЬНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ АНАЛОГОВ 1-МЕТИЛ-4-ФЕНИЛ-1,2,3,6-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СИНДРОМА.....	58
<u>А.В. Беляева</u> ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НОВОЙ КОМБИНАЦИИ ВЕЩЕСТВ, В СОСТАВ КОТОРОЙ ВХОДЯТ КАНДЕСАРТАН И РЕСВЕРАТРОЛ.....	60
<u>Е.С. Денисенко, Н.П. Горбунов, А.В. Жахов, А.М. Ищенко</u> ПОЛУЧЕНИЕ ГЕМОСОРБЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО УДАЛЕНИЯ АНАФИЛАТОКСИНА C5a ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ.....	62
<u>С.А. Камшилин</u> СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ IN VIVO И IN VITRO АНАЛЬГЕТИКА НА МЕМБРАНУ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ КРЫС	64
<u>Т.А. Кострова, К.М. Щепеткова, Е.А. Золотоверхая</u> ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО МЕЛАТОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ	66
<u>Л.В. Лянгинен, Д.С. Лисицкий, А.С. Мелехова, А.В. Бельская,</u> <u>М.В. Михайлова, А.А. Бондаренко</u> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ИЗУЧЕНИЯ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.....	68
<u>Г.В.Александров, М.Е.Михеева, М.С.Захаров, А.С.Кириянова, А.Б.Румянцева,</u> <u>О.Э.Хуттунен, А.Э.Полянская</u> ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НОВОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ.....	69
<u>В.Е. Соболев</u> АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ЖИВОТНЫЕ МОДЕЛИ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	71
<u>Д.А. Новичкова, Т.И. Кузьмина</u> ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДОМА В ООЦИТАХ SUS SCROFA DOMESTICUS	72
<u>И.Б. Сиваченко, В.Л. Филиппов, Ю.А. Середкин</u> КРИТЕРИИ ОТБОРА НАСЕЛЕНИЯ г. БАЙКОНУР ДЛЯ УГЛУБЛЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ	74

<u>Е.О. Синегубова, И.А. Дубровина, В.А. Мясников</u> КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ РИБОСОМ- ИНАКТИВИРУЮЩИХ БЕЛКОВ НА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ IN VITRO	75
<u>Л.М. Соседова, Е.А. Титов, М.А. Новиков</u> МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНКОМПОЗИТОВ МЕТАЛЛОВ	77
<u>П.Г. Толкач</u> МОДЕЛЬ ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЁГКИХ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ПРОДУКТАМИ ПИРОЛИЗА ХЛОРСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕРОВ....	79
<u>В.А.Торопов, О.Н.Шалаева, Е.К.Рощина, С.И.Ситкин, Т.Я.Вахитов</u> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ, СПОСОБСТВУЮЩИХ ВОССТАНОВЛЕНИЮ ОРГАНИЗМА ПРИ ДИСБИОЗЕ, ХИМИЧЕСКОМ И РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ	80
<u>В.Б. Филимонов, Л.В. Янно, В.Н. Бакина</u> ИССЛЕДОВАНИЕ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ В ПЕРИОД ЛИКВИДАЦИОННЫХ РАБОТ	82
<u>А.И. Уколов, А.С. Радилов</u> ТОКСИКОМЕТАБОЛОМИКА ГИДРОКСИЛАМИНА	84
<u>Э.В. Чермашенцева</u> ВОЗДЕЙСТВИЕ БИОМАССЫ ТОКСИЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА DAPHNIA MAGNA STRAUS	86
<u>И.В. Чистякова, Т.И. Кузьмина, Т.Г. Хонина</u> ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛГЛИЦЕРОЛАТА КРЕМНИЯ НА ПРОСПЕКТИВНЫЕ ПОТЕНЦИИ К РАЗВИТИЮ IN VITRO ДОНОРСКИХ ООЦИТОВ И ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ BOS TAURUS	88
<u>И.С. Плотникова, Е.В. Штрыкова</u> ПРОБЛЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИМ ПИТАНИЕМ РАБОТНИКОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОРПОРАЦИИ ПО КОСМИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «РОСКОСМОС» НА ПРИМЕРЕ ПЕРСОНАЛА ФИЛИАЛА ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИТАРНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ «ЦЕНТР ЭКСПЛУАТАЦИИ ОБЪЕКТОВ НАЗЕМНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ» - «ЦЕНТР ЛИКВИДАЦИИ МЕЖКОНТИНЕНТАЛЬНЫХ БАЛЛИСТИЧЕСКИХ РАКЕТ» (далее – филиал ФГУП «ЦЭНКИ» - ЦЛ МБР).....	90

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

<u>Т.И. Алюшина, Н.Л. Корягина, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева,</u> <u>Н.С. Хлебникова, А.С. Радилов</u> ТЕХНОЛОГИЯ СУХИХ ПЯТЕН В ДИАГНОСТИКЕ ПОРАЖЕНИЙ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ОТРАВЛЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ	93
<u>Н.В. Баландин, В.Д. Гладких</u> СРЕДСТВА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ В ТЕРАПИИ И МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ЭКЗОГЕННЫХ ОТРАВЛЕНИЙ	94

<u>Е.А. Белинская, С.Е. Мазина, Г. В. Зыкова</u> ВЫЯВЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ К 2,3,7,8-ТЕТРАХЛОРДИБЕНЗО-П-ДИОКСИНУ И БЕНЗ[А]ПИРЕНУ	96
<u>Т.А. Григорьева, Д.С. Новикова, М.А. Гуреев, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович</u> СЛЕПОЙ ДОКИНГ В РАЗРАБОТКЕ МУЛЬТИТАРГЕТНОГО ИНГИБИТОРА Р-ГЛИКОПРОТЕИНА И MDM2	98
<u>Д.М. Гусев, А.С. Бунев, А.А. Голованов</u> СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ О-, S- и N-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ.....	99
<u>Д.В. Арефьева, М.А. Дохов, В.Е. Стернин, Г.Ф. Ваулин, А.В. Петушок</u> ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЕКТОВ УТИЛИЗАЦИИ СУДОВ АТОМНОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ РАДИАЦИОННОЙ И ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ	100
<u>Д.А.Егорова, И.В.Чурилова</u> ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА РЕКСОД® ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ РАЗВИТИЯ ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАДИОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ И ЛЕЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ОРФАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	102
<u>В.Ю. Конева</u> ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК У РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ.....	104
<u>Е.И. Короткевич, Е.Г. Тихонова</u> РАЗРАБОТКА НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	105
<u>Д.В. Кострюкова, Е.И. Короткевич, В.Н. Прозоровский, Т.И. Торховская, Н.В. Медведева, О.М. Ипатова</u> ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОЙ КОМПОЗИЦИИ НАНОФОРМЫ ХЛОРИНА E6 C ПРОНИКАЮЩИМ ПЕПТИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIRO.....	107
<u>А.Н. Ларионов, А.С. Лякин, М.В. Ферезанова, И.В. Артемьев, А.С. Кочкин</u> ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СНИЖЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ МЫШЬЯКСОДЕРЖАЩИХ ВОДНЫХ ОТХОДОВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ОБЪЕКТАХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ	109
<u>Н.Н. Мартинович, В.В. Абзианидзе, Д.М. Кочура, Д.В. Криворотов, В.А. Кузнецов</u> СИНТЕЗ ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ФОСФАТНЫХ ЭФИРОВ	111
<u>А.С. Мелехова, Д.С. Лисицкий, К.О. Войцехович, А.В. Бельская, М.В. Михайлова, А.А. Бондаренко</u> ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ФЕНИЛКАРБАМАТОМ	113
<u>Д.С. Новикова, Т.А. Григорьева, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович</u> СТАБИЛЬНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ БЕЛОК-БЕЛКОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИНДОЛИНОНОВОГО РЯДА.....	114
<u>Д.Д. Орлова, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович</u> РАСПАД N-ОСНОВАНИЙ МАННИХА В СТРУКТУРЕ РЕКАТИВАТОРОВ ОНКОСУПРЕССОРА P53 – НЕДОСТАТОК ИЛИ ПРЕИМУЩЕСТВО?	116

<u>Е.Д. Рован, П.А. Воронина, А.А. Щипалкин, П.П. Бельтюков</u> ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ИНГИБИРОВАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЗАМЕЩЕННЫМИ 1,3-ДИГИДРО-2-ОКСО-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-КАРБОКСАМИДАМИ.....	117
<u>А.Д. Руссу</u> ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ЗАЩИТА PLANKTOTHRIX AGARDHII В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО НОНИЛФЕНОЛОМ.....	118
<u>П.Н. Сорокоумов, Е.И. Савельева, А.С. Радилов</u> НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ФАРМАКОКИНЕТИКЕ МЕЛЬДОНИЯ.....	120
<u>М.П. Ступникова, О.М. Демидов, Е.В. Филатов</u> МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ОПТИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ L- И D-РИБОЗЫ, ОСНОВАННЫЙ НА РАЗЛИЧИИ В СКОРОСТИ ПРОТЕКАНИЯ РЕАКЦИЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИЗОМЕРОВ С ЦИКЛОГЕКСАНОМ	122
<u>Л.С. Чистый, Ю.В. Челуснова</u> ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНИМОСТИ МЕТОДА ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПРОТЕКАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.....	124
<u>Е.Ю. Чистякова, С.В. Оковитый</u> АКТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ИНТЕРМЕДИАТЫ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ	126
<u>М.Д. Шачнева, Н.Л. Корягина, Е.И. Савельева, А.И. Уколов, Е.Д. Кессених,</u> <u>Н.С. Хлебникова, А.С. Радилов</u> УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРА ТАБУНА - ФТОРТАБУНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОМАСС- СПЕКТРОМЕТРИИ	128

ЗАОЧНОЕ УЧАСТИЕ

<u>А.Ю. Горбунов, Е.П. Подольская, В.Н. Бабаков</u> МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ДИКЛОФЕНАКА ПУТЕМ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ НА TiO ₂	131
<u>И.Б. Сиваченко, Д.С. Медведев, Ю.А. Серёдкин</u> КРАЙНЕ ВЫСОКОЧАСТОТНАЯ ТЕРАПИЯ КАК МЕТОД ВОССТАНОВЛЕНИЯ В СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ	132
<u>М.Ф. Шишонок</u> ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО КОМФОРТА РАБОЧИХ I ГРУППЫ КОНТАКТА С ФОВ НА ОБЪЕКТЕ УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ В г. ПОЧЕП ЗА 2016Г. И 2017Г.	134
<u>Л.П. Эрдниев, Я.А. Степанов, Е.Ю. Андреева, И.В. Мокшанов,</u> <u>И.А. Ермолаева, Н.В. Степанова</u> МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕГАЗАЦИИ ОБЪЕКТОВ ПОСРЕДСТВОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ НА ПРОСТЕЙШИХ.....	136
<u>И.А. Гемуа</u> ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕСТНОЙ НЕЙРО- И МИОТОКСИЧНОСТИ 0,5% БУПИВАКАИНА У КРЫС	138

И.Э. Ушал, Е.В. Светкина, Е.А. Колобова ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТА ЦИТОХРОМА P450 - CYP3A4 ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПРИЕМЕ СИЛДЕНАФИЛА	140
И.Э. Ушал, Е.В. Светкина, Е.А. Колобова АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ДЕТОКСИКАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОРГАНИЗМА СОТРУДНИКОВ ГПС МЧС РОССИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ.....	141
Е.А. Антипов Д.В. Иващенко К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ РЕЦЕПТОРНОГО СВЯЗЫВАНИЯ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ ..	143
А.А. Борунов, О.И. Ачкасова К ВОПРОСУ О НЕОБХОДИМОСТИ РАЗРАБОТКИ ЭКСПРЕСС-МЕТОДОЛОГИИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКОГО РЯДА	145
В.В. Смирнов, М.Ю. Комбарова, Э.Ю. Гюльмамедов ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИСТОЧНИКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА ОБЪЕКТА ПО УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ «ПОЧЕП»	147
Н.А. Егоров, А.Е. Чиков, Н.В. Криницын, Д.С. Медведев МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА.....	149
Н.А. Кабакова, Л.В. Янно, О.А. Прохоренко, О.М. Татарина, Е.Л. Ефимова ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У РАБОТНИКОВ ЗАНЯТЫХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ.....	150
М.В. Крылова, Г.В. Быховец ОТСТАВЛЕННЫЕ ПОСТНАГРУЗОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ КРОВИ У СПОРТСМЕНОВ ЕДИНОБОРЦЕВ	152
В.В. Немец, Е.Д. Рован, В.Е. Соболев, В.И. Шмурак, В.В. Гарнюк КРЫСЫ «АКТИВНЫЕ ДОМИНАНТЫ» ПРЕДРАСПОЛОЖЕНЫ К ПРОЯВЛЕНИЮ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДЛИТЕЛЬНОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА.....	153
Д.Г. Оськина ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОЙ СМЕСИ «КрипОкса 80/20»	154
Е.Г. Трапезникова, Н.Ю. Петров, А.Н. Павлова ВЛИЯНИЕ СТАРТОВОЙ ЧСС НА УСПЕШНОСТЬ СОРЕВНОВАТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У СКЕЛЕТНИСТОВ.....	156
Т.А. Федорова, Л.В. Янно СВОЙСТВА НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КАК ФАКТОРЫ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ЗДОРОВЬЕ ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ ВО ВРЕДНЫХ УСЛОВИЯХ ТРУДА	157
В.И. Шмурак, О.И. Орлова, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ ПАТОЛОГИИ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В МОЧЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ	159

Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников, Л.П. Точилкина СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ АЗИДОПЕНТОНА И ОСНОВНОЙ СВИНЦОВО-НИКЕЛЕВОЙ СОЛИ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ.....	160
Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСНОВНОЙ СВИНЦОВО-НИКЕЛЕВОЙ СОЛИ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ.....	162
Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников, Л.П. Точилкина ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРОРАЛЬНОЙ ЭМБРИОТОКСИЧНОСТИ АЗИДОПЕНТОНА	164
Ю.И. Великородная, А.А. Масленников, А.А. Коба СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ 3,3-БИС(ХЛОРМЕТИЛ)ОКСЕТАНА	165
Ю.И. Великородная, А.А. Масленников, А.В. Рябова ОСОБЕННОСТИ СУБХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТИЛКАРБИТОЛА И НИТРАТА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ.....	167
А.В. Рябова, А.А. Масленников ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОКСАЗИНА	169
А.В. Рябова, А.А. Масленников СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОКСАЗИНА И ПОЛИВИНИЛНИТРАТА	170
Ю.М. Гармаза, А.В. Тамашевский КЛЕТОЧНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ЦИНКА.....	172
Т.В. Щербаков, В.В. Шилов, М.А. Юдин ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИДНЫХ ДНК ПОСЛЕ ПОДОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ МАЛАТИОНОМ.....	174
Авторский указатель.....	176

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ПРИНЦИПЫ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГОМОЛОГИЧЕСКИХ РЯДОВ (НА ПРИМЕРЕ ДИАЛКИЛФОСФОНАТОВ И ТРИАЛКИЛФОСФИТОВ)

И.Г. Зенкевич

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, г. Санкт-Петербург
e-mail: izenkevich@yandex.ru

До настоящего времени органические соединения некоторых гомологических рядов остаются недостаточно подробно охарактеризованными хроматографическими (индексы удерживания на стандартных фазах, RI) и масс-спектрометрическими (масс-спектры ИЭ) аналитическими параметрами. Основными возможными причинами этого могут быть:

- отсутствие информации об их токсичности и других биологических свойствах;
- отсутствие информации о возможном присутствии таких соединений или их аналогов в природных объектах;
- сложности и неоднозначности синтеза;
- невозможность непосредственного хроматографического разделения (необходимость дериватизации);
- ошибки идентификации II-го рода (неверное отнесение к соединениям других рядов, обладающим сходными аналитическими параметрами).

Подобная ситуация неизбежно приводит к парадоксу: если какие-либо соединения не выявлены в ходе анализа, то причинами этого может быть, а) их физическое отсутствие в образцах, б) невозможность хроматографического разделения, в) отсутствие аналитической информации, г) ошибочная идентификация и другие.

Для выявления рядов, характеризующихся недостаточным информационным обеспечением можно использовать подробные современные базы данных, например, [1]. К таким рядам относятся эфиры неорганических многоосновных и кислые эфиры органических поликарбоновых кислот, в том числе моноалкилфталаты [2], диалкилфосфонаты (часто называемые диалкилфосфитами) [3], триалкилфосфиты [4] и другие. Из кислых эфиров неорганических кислот, прямой газохроматографический анализ которых невозможен, можно отметить диалкилфосфаты [5].

Масс-спектрометрические инварианты гомологических рядов – статистически обработанные масс-спектры ионных серий. Это совокупности 14 пар чисел $I_y \pm s_y$ [$\Sigma(I_y) = 100\%$], представляющих собой суммарные интенсивности сигналов (в % ионного тока), относящихся к одним и тем же гомологическим группам y ($0 \leq y \leq 13$) в сочетании с соответствующими стандартными отклонениями s_y [6]. В символике теории чисел $y \equiv m/z(\text{mod}14)$, $x = \text{int}(M/14)$ (M – молекулярная масса аналита), $m/z = 14x + y$. Сравнение масс-спектров ионных серий позволяет установить объективные различия фрагментации

изобарных диалкилфосфонатов и триалкилфосфитов на уровне не конкретных гомологов, а рядов в целом (в подстрочных индексах указаны стандартные отклонения):

Диалкилфосфонаты: 7₄, 11₅, 0, 4₄, 0, 1₁, 0, 0, 1₁, 5₅, 2₂, 9₉, 4₃, 56₁₂

Триалкилфосфиты: 4₄, 13₁₀, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 11₈, 6₆, 4₄, 10₁₀, 52₁₇

Таким образом, в масс-спектрах диалкилфосфонатов по сравнению с триалкилфосфитами более интенсивны сигналы гомологических групп $y = 3$ и 11, а групп 9, 10 и 12 – менее. По значениях $\Sigma(s_y)$ 46 и 59 диалкилфосфонаты и триалкилфосфиты относят к рядам с невысокой воспроизводимостью спектров ионных серий. Это отражает заметные вариации фрагментации гомологов в зависимости от структуры алкильных радикалов.

Параметр x четырнадцатиричного представления массовых чисел позволяет непосредственно сопоставлять масс-спектрометрические и газохроматографические данные в форме гомологических инкрементов индексов удерживания:

$$i_{RI} = RI - 100x = RI - 100 \text{int}(M/14) \quad (1)$$

Если сигналы молекулярных ионов не регистрируются в масс-спектрах ИЭ, то предварительно определенные значения i_{RI} позволяют определять молекулярные массы любых гомологов характеризуемого ряда с использованием преобразованного соотношения (1):

$$M = 0.14 (RI - i_{RI}) + y \quad (2)$$

Кроме того, значения i_{RI} являются важным дополнением к известным ранее критериям полярности органических соединений, так как выражают связь их молекулярных масс с хроматографическими параметрами удерживания. Например, указанные ниже ряды легко расположить в порядке увеличения их полярности:

Гомологический ряд	y	Число охарактеризованных гомологов	$i_{RI} \pm s_{RI} (0)^*$	$i_{RI} \pm s_{RI} (1)^*$
Триалкилфосфаты	0	6 [1]	-256 ± 45	-
Триалкилфосфиты	12	36 [4]	-235 ± 52	$-258 \pm 25^{**}$
Алкилнитриты	5	9 [1]	-113 ± 6	-143 ± 17
Алкилнитраты	7	14 [1]	$+7 \pm 8$	-50 ± 12
Диалкилфосфонаты	12	27 [3]	$+29 \pm 9$	-4 ± 10

*) Значения 0 или 1 (в скобках) означают суммарное число разветвлений углеродного скелета в алкильных фрагментах молекул; **) без стандартных отклонений указаны единичные значения i_{RI} .

Литература

- [1] The NIST 17 Mass Spectral Library (NIST17/2017/EPA/NIH). Software/Data Version (NIST17); NIST Standard Reference Database, Number 69, June 2017. National Institute of

Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: июнь 2018 г.).

- [2] *Зенкевич И.Г., Фахретдинова Л.Н.* Хроматографическая и хромато-масс-спектральная характеристика моноэфиров дикарбоновых кислот // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 12. С. 1296-1307.
- [3] *Зенкевич И.Г., Носова В.Э.* Хромато-масс-спектрометрическая характеристика диалкилфосфитов // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 9. С. 000-000 (*в печати*).
- [4] *Зенкевич И.Г., Носова В.Э.* Особенности обнаружения триалкилфосфитов в составе реакционных смесей и их хроматомасс-спектрометрическая характеристика // Масс-спектрометрия. 2018. Т. 15. № 2. С. 139-151.
- [5] *Зенкевич И.Г., Носова В.Э.* Ограничения газохроматографического анализа соединений с активными атомами водорода. Диалкилфосфаты // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20. № 4. С. 307-313.
- [6] *Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В.* Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986. 176 с.
- [7] *Зенкевич И.Г.* Особенности использования дифференциальных характеристик органических соединений для их групповой идентификации // Журн. общей химии. 2017. Т. 87. № 4. С. 665-676.

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ПОДХОД КАК ОСНОВА
СОВРЕМЕННОЙ НАУЧНОЙ ИНТЕГРАЦИИ В СИСТЕМЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО
ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В.Р. Рембовский, Л.А. Могиленкова

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: gpech@fmbamail.ru

Реализация Федеральных целевых программ по обеспечению химической безопасности порождает объединение в единой системе теоретических и экспериментальных исследований, прикладных и фундаментальных знаний в смежных отраслях науки. Создание на основе междисциплинарного подхода эффективно функционирующей управленческой системы медико-биологического сопровождения работ с опасными химическими веществами (ОХВ) в условиях взаимодействия представителей различных дисциплин и научных организаций ФМБА России и других ведомств предоставляет широкие возможности для решения данной проблемы на химически опасных объектах (ХОО). Она централизованно используется в ФМБА России (3 ГУ СССР) при ракетно-космической деятельности, начиная с 60-х годов XX века.

Междисциплинарные научно-практические исследования, применяемые организациями ФМБА России при санитарно-гигиенической оценке деятельности ХОО, базируются на системном подходе (таблица), сформулированном в виде общей теории систем, теории самоорганизации (синергетика), информационном обеспечении, анализе неопределенностей.

Таблица – Основные этапы развития теории междисциплинарных исследований

Научный подход	Начало развития	Теория	Основатели
Системный	1937 г.	общая теория систем	Людвиг фон Берталанфи
Информационное обеспечение управления	1948 г.	кибернетика	Н. Винер
Изучение сложных систем	1969 г. (1986 г.)	синергетика	Г. Хакен (И. Пригожин)
Анализ риска	1992 г. (1982 г., 1991 г.)	рискология	У. Бек (М. Дуглас, Н. Луман)

Концепция междисциплинарных исследований влияния ОХВ на здоровье человека направлена на выявление общей тенденции зависимости «доза – время – эффект» в условиях токсикологических экспериментов, эколого-гигиенических и клинико-эпидемиологических обследований когорт наблюдения, оценку совокупности индивидуальных (групповых) особенностей ответной реакции организма с использованием методов персонифицированной медицины и ее нового направления – персонализированной токсикологии.

Главным признаком междисциплинарности является подчинённость между взаимодействующими дисциплинами. «Ведущей» является дисциплина, с позиции которой проводится трактовка результатов научного исследования объекта. «Ведомая» дисциплина при этом предоставляет свой методологический аппарат.

Основными принципами междисциплинарного подхода при обеспечении химической безопасности Российской Федерации являются:

- Системность – изучение условий формирования экологической опасности (риска) с позиции целостности системы «химический фактор – среда обитания – здоровье человека».
- Комплексность – установление взаимосвязи понятий и методологии отдельных дисциплин при выявлении причинно-следственной связи влияния химического фактора на организм человека для принятия управленческих решений по профилактике и устранению этого воздействия в единой системе обеспечения химической безопасности.
- Междисциплинарная коммуникативность – создание метаязыка, новых форм коммуникационных связей, продуктивное сотрудничество между представителями смежных научных дисциплин и заимствование идей и навыков из одной дисциплины представителями другой для разработки и внедрения комплекса перспективных методов биомониторинга новых ОХВ (токсикокинетики, детоксикационных, метаболических процессов, генетически обусловленного поддержания гомеостаза и т.д.), ранней диагностики их воздействия на организм.
- Приоритет ценности здоровья человека и охраны среды его обитания в разработке системы управленческих решений по обеспечению химической безопасности.

Применение междисциплинарного подхода требует нового типа специализации, основанной на использовании аналитических исследований и интеграции знаний специалистов смежных научных дисциплин, организованной в соответствии со связями структурного характера изучаемых субъектов и объектов при работах на ХОО.

Для успешной деятельности молодые ученые, работающие в системе химической безопасности, должны постоянно осваивать огромный поток разнообразной информации, разрабатывать и внедрять новый метаязык, перспективные методологии, методы исследований, лечебно-профилактические средства в практику. Ведущую роль в области гигиены, токсикологии, экологической химии, профпатологии будут иметь специалисты «синтетики» — универсальные ученые, обладающие широкой научной эрудицией, интуицией, высокой концентрацией интеллекта и выдающимися организаторскими способностями в разработке новых идей, мировоззренческих установок, наиболее эффективных мер охраны здоровья человека и среды его обитания. Резервы для подготовки кадров соответствующего уровня в ФМБА России имеются.

СОВРЕМЕННЫЕ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРАКТИКЕ ЛАБОРАТОРИИ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Е.И. Савельева

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: gpech@fmbamail.ru

Хроматомасс-спектрометрия (ХМС) завоевывает лидирующие позиции при решении задач, связанных с обнаружением и идентификацией токсичных и сильнодействующих органических соединений в сложных матрицах. Токсичные химикаты (ТХ) в объектах окружающей среды и пробах биологического происхождения обнаруживаются преимущественно в виде продуктов трансформации. Обзорный и целевой протоколы ХМС анализа, реализуемые при идентификации неизвестного ОВ или продуктов превращений известного ТХ, соответственно, непрерывно совершенствуются. Количество информации, получаемой в рамках ХМС анализа, и ее достоверность повышаются, а затраты труда, времени, а иногда и других ресурсов снижаются. Тандемная масс-спектрометрия (МС/МС) используется как более доступная альтернатива масс-спектрометрии высокого разрешения. Расширяются базы справочных характеристик МС, МС/МС спектров и параметров удерживания, уточняются их расчетные оценки, повышается производительность обработки масс-хроматограмм, снижаются пределы обнаружения аналитов. Расширяется спектр исследуемых матриц и определяемых с помощью ХМС анализа маркеров ТХ. Количественное определение нескольких маркеров одного ТХ или даже ряда ТХ в рамках одной процедуры становится обычной практикой. Определение аналитов «списками», называемое иногда кассетным анализом, послужило толчком к развитию метода кассетного дозирования при оценке периодов выведения биомаркеров ТХ из организма в экспериментах на лабораторных животных. Методы кассетного дозирования особенно актуальны для оценки периодов возможного обнаружения в биопробах биомаркеров веществ, подпадающих под различные ограничительные списки, что актуально в химико-токсикологическом анализе, допинговом контроле, криминалистике. В наших экспериментах показано, что при исследовании медленной фазы элиминации взаимным влиянием веществ, объединенных в одной кассете, можно пренебречь. Если ранее в рамках одной методики определяли близкородственные соединения, то теперь обычной практикой становится определение в составе одной кассеты аналитов разной химической природы. В докладе будут представлены научные и методические решения лаборатории аналитической токсикологии в практике следового определения ТХ и продуктов их трансформации в сложных матрицах.

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ. СЕКЦИЯ «АНАЛИТИЧЕСКАЯ И
ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ»**

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ

α -ПИРРОЛИДИНОВАЛЕРОФЕНОМ (PVP)

О.Л. Балабанова^{1,2}, В.В. Шилов^{2,3}, А.Н. Лодягин⁴, С.И. Глушков⁴, А.М. Григорьев⁵
¹ГБУЗ Ленинградский областной наркологический диспансер, химико-токсикологическая лаборатория; Ленинградская область, Всеволожский район, д. Новое Девяткино 19/1;
²ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья», г.Санкт-Петербург;
³ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России, г.Санкт-Петербург;
⁴ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе», г.Санкт-Петербург;
⁵ГБУЗ МО «Бюро судебно-медицинской экспертизы», судебно-химическое отделение; г. Москва.
e-mail: o.l.ya@mail.ru, chrzond4250@yandex.ru

Согласно данным Европейского центра мониторинга за наркотиками и наркотической зависимостью (EMCDDA), число новых психоактивных средств, появившихся и распространяемых в мире, возросло более, чем в 7 раз за период с 2005 по 2016 гг. [1]. Синтетические катиноны – одна из основных групп психоактивных средств, лидирующая, наряду с синтетическими каннабиноидами, как по числу новых соединений, так и по количествам, изымаемым органами контроля в Европе.

Несмотря на многочисленность группы синтетических катинонов (более 110 новых соединений формально зарегистрированы EMCDDA за указанный период), их популярность среди потребителей чрезвычайно различна. Так, согласно нашим наблюдениям, в РФ одним из наиболее часто обнаруживаемых соединений является PVP (α -PVP, α -пирролидиновалерофенон, 1-фенил-2-(пирролидин-1-ил)пентан-1-он).

Необходимо отметить, что синтез и некоторые свойства PVP впервые были описаны в 1963 г [2]. Однако, его присутствие на европейских рынках отмечается с 2012 г. PVP, нередко распространяемый как «соли для ванн» является стимулятором центральной нервной системы. Основными способами приема является оральный, внутривенный и интраназальный; дозировки составляют примерно 1-25 мг. В странах Европы в период с 2012 по 2015 гг. было зафиксировано более 20 случаев острых отравлений, имеющих летальный исход и связанных с употреблением PVP [3]. Оборот PVP запрещен в РФ и контролируется в 16 странах Евросоюза [3].

Определение PVP в биологических средах сводится к применению методов газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС и ЖХ-МС/МС, соответственно), хотя метод ГХ-МС менее предпочтителен ввиду малой информативности спектров электронной ионизации, характерных для PVP и его производных. Дополнительным ограничением метода является возможность образования хроматографических артефактов. Тем не менее, метод ГХ-

МС относительно несложен в аппаратном исполнении, дешев, и поэтому практичен и распространен.

В данной работе мы представляем результаты выявления более 60 предполагаемых метаболитов PVP, принадлежащих к фазам метаболизма I и II в пробах мочи людей, собранных при проведении химико-токсикологического освидетельствования и при аутопсии. Определение структурных характеристик метаболитов выполняли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения.

Литература

- [1] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction // EMCDDA–Europol, 2016 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA, 2017. URL: http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/4724/TDAN17001ENN_PDFWEB.pdf
- [2] Thomae K. (1963), ‘ α -pyrrolidino ketones’, patent specification 933507; Wander A. (1963), ‘ α -Pyrrolidino valerophenones’, patent specification 927475.
- [3] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction // EMCDDA–Europol, Report on the risk assessment of 1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one (α -pyrrolidinovalerophenone, α -PVP), 2016.
URL: <http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/2934/TDAK16001ENN.pdf>.

СИНТЕЗ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В РЯДУ ЗАМЕЩЕННЫХ 1,3-ДИГИДРО-2-ОКСО-1H-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-КАРБОКСАМИДОВ

П.А. Воронина¹, А.А. Щипалкин², Е.Д. Рован², С.М. Рамш¹, В.А. Кузнецов²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)", Санкт-Петербург

²Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства
e-mail: paulina291731@gmail.com

Замещенные бензимидазолы проявляют свойства агонистов 5-HT₄ и антагонистов 5-HT₃ серотониновых рецепторов [1, 2]. Данные рецепторы отвечают за когнитивные функции головного мозга и регуляцию дыхания. Также эти соединения являются потенциальными ингибиторами ацетилхолинэстеразы. Ингибирование ацетилхолинэстеразы повышает уровень ацетилхолина в организме, отвечающего за нормальное осуществление нервно-мышечной передачи, которая нарушается при нейродегенеративных заболеваниях [3].

Нами разработан универсальный подход к синтезу производных 1,3-дигидро-2-оксо-1H-бензимидазол-1-карбоксамидов на основе реакции нуклеофильного замещения в *o*-динитробензолах, что позволило получить широкий ряд потенциально биологически активных замещенных бензимидазолонов.

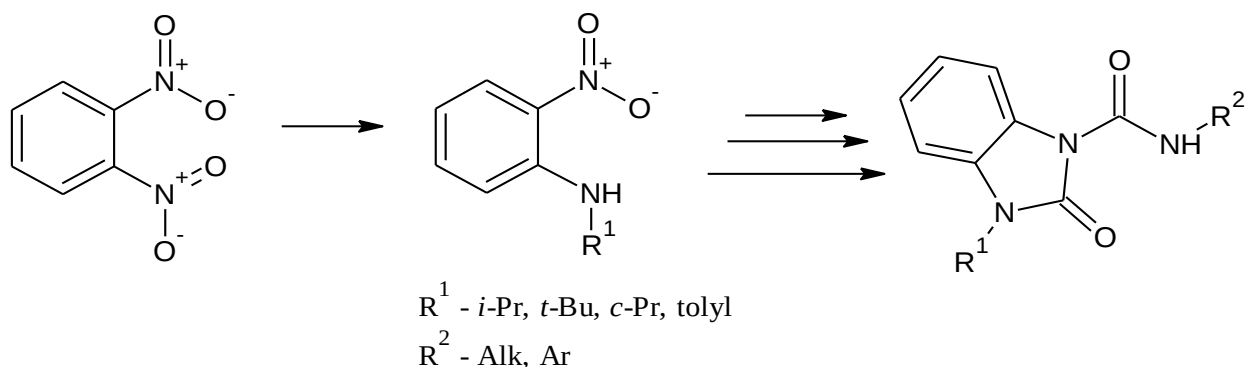


Рисунок 1 – Общая схема синтеза замещенных 2,3-дигидро-2-оксо-1H-бензимидазол-1-карбоксамидов

Для полученных соединений был проведен первичный скрининг ингибирующей активности человеческой ацетилхолинэстеразы с использованием модифицированной планшетной методики Эллмана, который показал положительные результаты.

Литература

- [1] Turconi M. et al // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 2101-2108.
- [2] Galeotti N. et al // J. Pharmacol exp Ther. 1998. V. 286. № 3. P. 1115-1121.
- [3] Катунина Е. А и др. // *Фарматека*. 2009. № 15. С. 52-54.

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,3-ТРИАЗОЛА

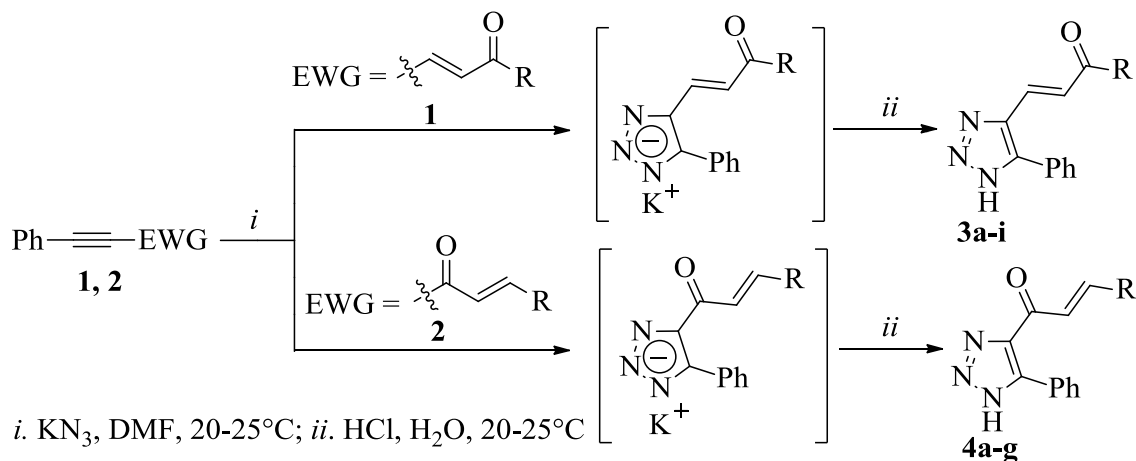
И.С. Один¹, П.А. Мельников¹, Ю.В. Вахитова², А.А. Голованов¹

¹Тольяттинский государственный университет;

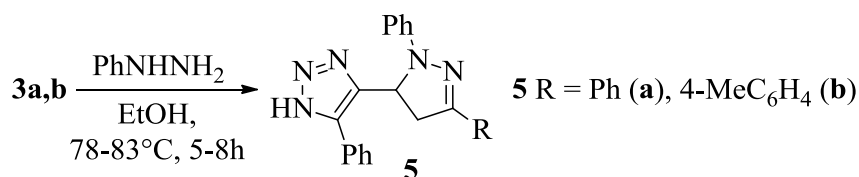
²Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН

e-mail: aleksandgolovanov@yandex.ru

Полиненасыщенные соединения, содержащие неравноценные электрофильные центры, являются ценными прекурсорами в синтезе и модификации биологически активных гетероциклов [1,2]. Нами изучены реакции азид-алкинового циклоприсоединения енинонов **1** и **2** [3]. Взаимодействие с KN_3 в ДМФА при комнатной температуре завершается менее чем за 1 час, при этом с выходами 82–98% образуются халконы **3a–e** и **4a–g**. Соединения **3** легко вступают в реакцию с гидрохлоридом фенилгидразина. В результате с выходами 82 и 89% соответственно получены производные **5a,b**.



1,3 R = Ph (**a**), 4-MeC₆H₄ (**b**), 4-MeOC₆H₄ (**c**), 4-ClC₆H₄ (**d**), Thiophene-2-yl (**e**). **2,4** R = Ph (**a**), 4-MeC₆H₄ (**b**), 4-MeOC₆H₄ (**c**), 4-ClC₆H₄ (**d**), 3-BrC₆H₄ (**e**), 4-Me₂NC₆H₄ (**f**), Thiophene-2-yl (**g**)



Цитотоксичность соединений **3**, **4** и **5** исследовалась на культурах эмбриональных клеток почки человека линии HEK293 и на клеточной линии Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия) (таблица).

Величины LC_{50} для триазольных халконов **3a–e** лежат в пределах 9–25 мкМ для HEK293 и 7–16 мкМ для Jurkat. Для халконов **4a–g** эти величины находятся в пределах 0.2–23 и 0.03–54 мкМ соответственно. Установлено, что наибольшей цитотоксичностью обладают халконы **3e**, **4e** и **4f**. Следует отметить, что LC_{50} по отношению к раковым клеткам

Jurkat для халкона **4f** имеет самое низкое значение. Для этого же соединения LC_{50} по отношению к здоровым клеткам *HEK293* почти в 14 раз выше.

Таблица – Параметры цитотоксичности производных 1,2,3-триазола

Соединение	IC ₅₀ , мкМ		Соединение	IC ₅₀ , мкМ	
	<i>HEK293</i>	<i>Jurkat</i>		<i>HEK293</i>	<i>Jurkat</i>
3a	20.05	16.05	4c	2.14	2.88
3b	20.54	13.81	4d	13.93	15.95
3c	25.04	16.42	4e	7.64	9.11
3d	16.36	12.06	4f	0.235	0.03
3e	9.23	7.27	4g	46.99	54.34
4a	14.93	13.81	5a	33.74	40.09
4b	23.66	24.23	5b	15.12	18.73

Таким образом, было экспериментально показано, что 3-(5-фенил-1*H*-триазол-4-ил)-1-арилпроп-2-ен-1-оны, 1-(5-фенил-1*H*-триазол-4-ил)-3-арилпроп-2-ен-1-оны и 5-фенил-4-(1-фенил-3-арил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-5-ил)-1*H*-1,2,3-триазолы обладают ярко выраженной цитотоксичностью по отношению к раковым клеткам *Jurkat*.

Литература

- [1] Pramanik M.M.D., Kant R., Rastogi N. // *Tetrahedron*. 2014. V. 70. P. 5214–5220.
- [2] Голованов А.А., Один И.С., Вологжанина А.В., Бекин В.В., Небритова А.Е. // *Журн. орг. химии*. 2014. Т. 50. №2. С. 963–967.
- [3] Голованов А.А., Один И.С. // *Журн. орг. химии*. 2015. Т. 51. №3. С. 460–461.

ПРОТЕОМНЫЙ ПОДХОД ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ БИОТОКСИНОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Я.А. Дубровский, А.Ю. Горбунов, Н.Ю. Роговская, Е.А. Мурашко, П.П. Бельтюков,
В.Н. Бабаков

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: dubrovskiy.ya@gmail.com

Растительные и бактериальные белковые токсины относятся к числу наиболее опасных ядов и часто превосходят по токсичности, синтезированные боевые отравляющие вещества. Биотоксины, такие как рицин и сакситоксин, рассматриваются в качестве потенциальных агентов для биотерроризма и включены в первый список Конвенции о запрещении химического оружия.

Рицин относится к рибосом-инактивирующим белкам и состоит из двух цепей, соединенных между собой дисульфидной связью. Масса молекулы составляет от 60 до 65 кДа. А-цепь обладает каталитической активностью и относится к N-гликозидазам, в то время как Б-цепь – лектин. Основной сложностью при идентификации рицина является его высокая гомологичность с другим белком агглютинином *Ricinus communis*, состоящий из двух А – цепей и двух Б – цепей, и масса молекулы порядка 120 кДа. При сравнении аминокислотных последовательностей идентичность этих белков в А – и Б – цепях составляет 93% и 84%, соответственно. Несмотря на такое сродство, разница в токсической дозе между рицином и агглютинином *Ricinus communis* составляет 100-1000 раз в зависимости от способа попадания в живой организм.

Организация по Запрещению Химического Оружия (ОЗХО) указывает на то, что для определения веществ из списка №1 Конвенции о запрещении химического оружия необходимым является метод хромато-масс-спектрометрии как обеспечивающий достаточную селективность и чувствительность.

Предложен «Bottom-up» протеомный подход для идентификации рицина в объектах окружающей среды и выбраны триптические протеотипические пептиды, необходимые для достоверного количественного определения рицина (таблица 1). Денатурированный рицин не является токсичным, для определения токсичной формы рицина может быть использован фрагмент T24A-ss-T1B, дисульфидной связью соединяющий А и Б цепи между собой. Метод оценки цитотоксичности образцов на гепатоме человека линии HepaRG с использованием системы xCELLigence (ACEA Biosciences, San Diego, CA, USA) был выбран в качестве дополнительного.

Таблица 1 - Аминокислотные последовательности протеотипических пептидов рицина и их масс-спектрометрические характеристики

Фрагмент	Аминокислотная последовательность	(M+H) ⁺	(M+2H) ²⁺
T7a	VGLPINQR	896.5312	448.7692
T10a	YTFAFGGNYDR	1310.5800	655.7936
T6b	SNTDANQLWTLK	1390.6961	695.8517
T18b	NDGTILNLYSGLVLDVR	1862.0018	931.5045

Разработанный подход позволил успешно определить рицин и оценить его токсичность в образцах, предоставленных Организацией по Запрещению Химического Оружия в рамках второго тренировочного теста по определению биотоксинов.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ С-6 ПРОИЗВОДНЫЕ ПРИРОДНОГО ФЕОСФЕРИДА А: СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

С.А. Захаренкова¹, В.В. Абзианидзе¹, В.А. Кузнецов¹, Ю.Г. Тришин²

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

² Санкт-Петербургский Государственный университет промышленных технологий и дизайна.

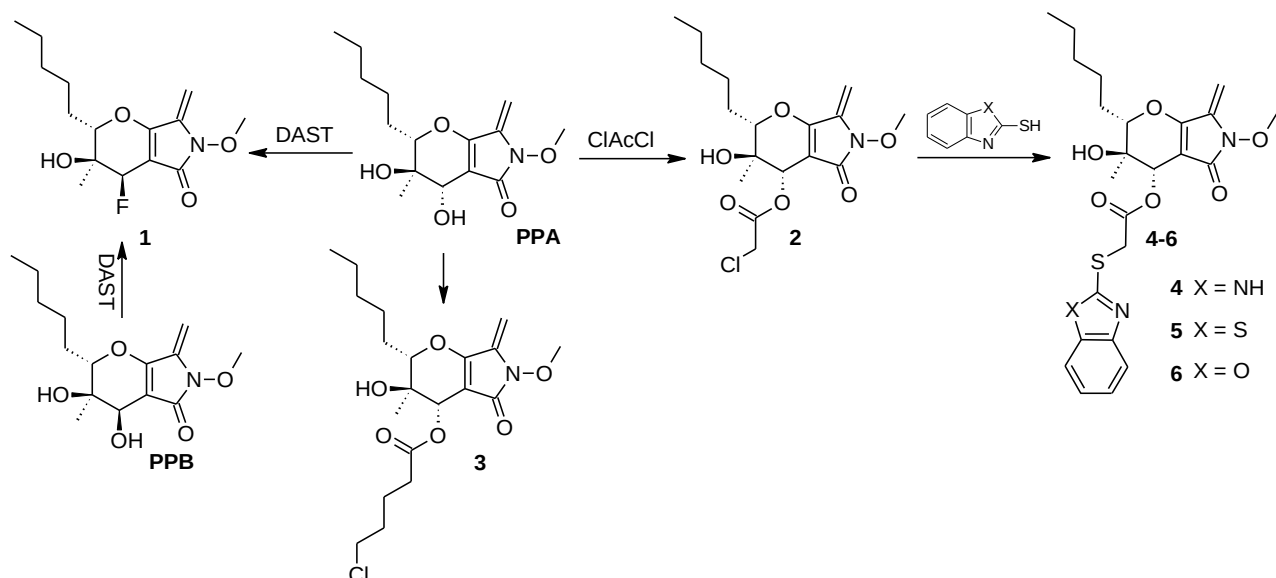
Высшая школа технологии и энергетики, Санкт-Петербург

e-mail: sofya.zakharenkova@gmail.com

Поиск новых лекарственных субстанций для лечения рака является важнейшей задачей медицинской химии. Одно из эффективных направлений решения этой задачи - синтез веществ, обладающих высоким противоопухолевым эффектом и нетоксичных для здоровых клеток, на основе природных соединений. К числу таких соединений относится феосферид А (РРА), выделенный из твердой культуры гриба *Phoma* sp. N 19 в 2011 году во Всероссийском институте защиты растений.

Нами синтезирована серия производных РРА за счет участия в реакциях вторичной гидроксильной группы при атоме С-6 гетероцикла. Оценено влияние введенных структурных фрагментов в молекулах на цитотоксическую активность на 9 раковых клеточных линиях и на эмбриональных фибропластах человека (ФЭЧ).

С помощью фторирующего агента DAST получено фторпроизводное 1. Оба феосферид А и феосферид В (РРВ) дали одинаковый продукт фторирования.



Для сравнения длины ω -хлорацетоксильного заместителя на биологическую активность [1] синтезировано соединение **3**. Замещением хлора в ω -хлорацетоксильных радикалах получена серия меркаптобензогетероциклических производных **4-6**.

Синтезирован ряд аминопроизводных **7-13**, **AV-6**.

Противораковая активность всех синтезированных соединений оценена на 10 клеточных линиях: HCT-116, PC3, MCF-7, A549, ФЭЧ, K562, NCI-H929, Jurkat, THP-1, RPMI8228. В качестве положительного контроля использовали препарат полусинтетического происхождения – этопозид. В таблице приведены выборочные данные испытаний.

Соединение	Адгезивные культуры клеток, IC ₅₀ (мкМ)				Суспензионные культуры клеток, IC ₅₀ (мкМ)		
	HCT-116	PC3	A549	ФЭЧ	K562	NCI-H929	RPMI8228
5			5,9	11		0,4	
AV-6	0,47	0,2		4	0,54	0,2	0,25
Этопозид	22	2,7	>100	>100	9,4	0,9	4,8

Соединение **5** оказалось токсичнее контрольного вещества на двух клеточных линиях: A549 и NCI-H929, а **AV-6** - на пяти клеточных линиях: HCT-116, PC3, K562, NCI-H929 и RPMI8228. В настоящее время проводятся дальнейшие биологические испытания синтезированных веществ.

Литература

[1] Abzianidze, V. V. et al // Mendeleev Communications. 2017. V. 27, № 5. P. 490-492.

ОСОБЕННОСТИ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ОБЪЕКТАХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

И.Н. Исаев, В.Г. Мандыч, И.В. Коваленко, К.В. Андреев, А.В. Глазков, С.Н. Кобцов
Федеральное бюджетное учреждение «Федеральное управление по безопасному хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли Российской Федерации», г. Москва
e-mail: fubhuho@mil.ru

На этапе вывода объектов по уничтожению химического оружия (ХО) из эксплуатации, при разрушении зданий и сооружений вероятно образование в воздухе аэрозолей дезинтеграции материалов, образующихся при дроблении строительных конструкций. Важнейшим компонентом аэрозоля является строительная пыль, представляющая собой совокупность твердых частиц, находящихся во взвешенном состоянии в воздухе рабочей зоны, которая оказывает неблагоприятное воздействие на организм работающих. Источником опасности является не столько пыль сама по себе, сколько вредные химические вещества, сорбированные на поверхности и внутри частиц пыли. В целях контроля состояния воздуха рабочей зоны во время демонтажа оборудования и зданий потребовалось разработать методики измерений массовых концентраций отравляющих веществ в воздухе, содержащем материалы дезинтеграции строительных конструкций.

При разработке указанных выше методик был выбран газохроматографический метод. Механизм выполнения анализа основан на концентрировании контролируемого вещества из воздуха на сорбционной трубке, термодесорбционного ввода пробы в газовый хроматограф, разделения анализируемых компонентов в хроматографической капиллярной колонке и детектирования с использованием пламенно-фотометрического детектора (ПДФ) по каналу фосфора (λ -525 нм).

Однако данный метод не учитывает отравляющее вещество, адсорбированное на частицах пыли, которое, согласно прогнозу, может внести определяющий вклад в токсическое воздействие техногенной среды на человека. В связи с этим необходимо решить вопрос о способе удержания частиц пыли и экстракции с них отравляющего вещества.

Для удержания зараженных частиц пыли использовали аэрозольные фильтры, закрепленные в тефлоновой насадке.

Сделано предположение, что можно проводить экстракцию вещества с дисперсных частиц аэрозолей, содержащихся в воздухе рабочей зоны после дезинтеграции материалов строительных конструкций зданий и сооружений, непосредственно на фильтре, нанося на него после завершения отбора пробы воздуха с частицами аэрозоля растворитель или смесь растворителей для извлечения. Смесь растворителей и порядок экстракции были определены экспериментальным путем и подобрано их оптимальное соотношение.

Принцип, заложенный в методиках, на примере зомана, реализуется следующим образом. Зоман во время отбора пробы воздуха на сорбционную трубку, заполненную сорбентом Тенах-ТА, перед которой установлен фильтр, концентрируется на ней. Сорбированный на дисперсных частицах зоман задерживается на фильтре, с которого его после цикла пробоотбора экстрагируют пропусканием в потоке воздуха смеси гексан:хлористый метилен в соотношении 30 : 70 с последующим концентрированием анализируемого вещества на сорбционной трубке. Далее сконцентрированный зоман десорбируется в термодесорбере, разделяется в кварцевой капиллярной колонке с нанесенной 5% - фенил и 95 % - метилсилоксановой фазой и детектируется с помощью ПФД по каналу фосфора.

Таким образом, разработанное методическое обеспечение позволяет производить измерения массовых концентраций отравляющих веществ в воздухе рабочей зоны, содержащем материалы дезинтеграции строительных конструкций, в целях осуществления производственного контроля за соблюдением санитарно-гигиенических норм и правил.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ПРЕПАРАТА ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ D-ЛИЗАРГАМА

А.А. Колобов, М.П. Смирнова, А.А. Колобов

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых
биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург

e-mail: kolobov_a@hpb-spb.com

Нами был разработан препарат пептидной природы для терапии острых нарушений мозгового кровообращения (ОМНК) D-Лизаргам (N α -ацетил-D-Lys-Lys-Arg-Arg-амид). В модели ОМНК на крысах введение тетрапептида снижает раннюю летальность и отек головного мозга, ускоряет восстановление двигательной и ориентировочно-исследовательской активности. В модели нормобарической гипоксии на мышцах введение тетрапептида увеличивает время их жизни. Целью данной работы стало установления механизма действия N α -ацетил-D-Lys-Lys-Arg-Arg-амида.

Предположили, что механизм действия тетрапептида заключается в ингибировании некроза клеток ГМ и ассоциированного с ним воспаления или в ингибировании апоптоза повреждённых, но ещё не отмерших нервных клеток. Для подтверждения этой гипотезы в модели ОМНК на крысах изучили влияние тетрапептида на маркеры некроза (уровень нейрон-специфической энолазы NSE, белка S-100), воспаления (уровень про- и противовоспалительных цитокинов) и апоптоза (уровень фрагментированности ДНК в клетках головного мозга).

Уровень маркеров цитолиза NSE и S-100 в очаге ишемического поражения у крыс на фоне введения тетрапептида снижался в 7 и 8 раз соответственно. Кроме того, уровни

провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α снижись на 20% и 33% соответственно, а уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 возрастал на 48%. Известно, что интенсивность релизинга NSE и S-100 прямо коррелирует с объемом очага некротической гибели нейронов при ишемии головного мозга. Поэтому снижение уровня этих маркеров цитолиза указывает на подавление некроза нервной ткани при введении N α -ацетил-D-Lys-Lys-Arg-Arg-амида. Изменение цитокинового профиля свидетельствует о снижении ассоциированного с некрозом воспаления.

На фоне введения D-Лизаргама количество фрагментированной ДНК в нейронах коры лобной доли мозга крыс снижалось в 1,5 раза. Это указывает на то, что введение препарата предотвращает апоптотическую гибель нейронов.

Механизм антиапоптотического действия тетрапептида изучен *in vitro* в модели индуцированного апоптоза на клетках нейробластомы человека SH-SY5Y. Обработка D-Лизаргамом привела с одной стороны к снижению уровня ключевого маркера апоптоза активной формы каспазы-8, а с другой стороны к активации киназы Akt1, что ведёт к ингибированию ряда элементов активации апоптоза.

Таким образом, N α -ацетил-D-Lys-Lys-Arg-Arg-амид подавляет развитие некроза и апоптоза нервных клеток при острых нарушениях мозгового кровообращения. Вероятным механизмом его действия является активация сигнального пути PI3K/Akt/mTOR.

ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ДЛЯ ДАТИРОВКИ ПРОИЗВЕДЕНИЙ МАСЛЯНОЙ ЖИВОПИСИ НА ПРИМЕРЕ DDT И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ.

С.Д. Колубакин

Государственный Эрмитаж, Санкт-Петербург;

Научно-исследовательский независимый центр экспертиз им. А. Бенуа, Санкт-Петербург

e-mail: sskkdd@yandex.ru

В настоящее время одним из самых сложных объектов экспертизы материалов, веществ и изделий продолжает оставаться станковая масляная живопись. На рынке произведений искусства и даже в государственных музейных собраниях регулярно выявляются живописные произведения, которые, случайно или преднамеренно, имеют ложную атрибуцию по времени их создания и, как следствие, ложную историческую и материальную ценность (подделки). При этом некоторые создатели поддельных работ настолько хорошо копируют палитру и профессиональный стиль имитируемых художников, что высокое качество их произведений вводит в заблуждение даже очень опытных искусствоведов. В результате эксперты в данной области вынуждены использовать в своей работе самые современные методы анализа, включая газовую хромато-масс-спектрометрию.

Из основных групп материалов, обычно используемых при создании поддельных живописных масляных произведений самым сложным является имитация связующего. Масляное связующее, основу которого составляет натуральное высыхающее растительное масло, не может быть использовано второй раз или сохранено в неизменном виде в течение десятков и сотен лет. Сразу после выделения из растительного сырья в высыхающем масле начинается необратимый процесс старения (окислительной полимеризации), который идёт на протяжении сотен лет и может быть замедлен или ускорен, но не остановлен. После высыхания масляной плёнки её химический состав не может быть изменён без физического разрушения всего лакокрасочного слоя, ведь масляное связующее сохраняет в своём составе только те вещества, которые в него попали изначально. Оно является как бы индикатором техногенного загрязнения окружающей среды на момент сбора растительного сырья и изготовления из него лакокрасочного материала. Это свойство масляного связующего может быть использовано для определения времени создания живописного произведения путём детектирования маркерных веществ, для чего хорошо применим метод ГХ-МС.

Такими маркерными веществами могут служить как специальные технологические добавки, так и случайные примеси, например, стойкие органические загрязнители, для которых есть достоверные данные по временному диапазону производства и применения. Возможность их детектирования складывается из возможной концентрации в анализируемом материале, устойчивости в процессе пробоподготовки, хроматографических характеристик на фоне основных компонентов связующего и характерного масс-спектра. В частности, всем этим требованиям удовлетворяет вещество DDT, повсеместно применявшееся в 50-70 гг XX века, а также его метаболиты, образующиеся в результате биохимических и технологических процессов. Нами установлено, что в масляной живописи могут быть идентифицированы как изомеры самого DDT, так и их метаболиты DDD, DDE и DDMU.

Данная методика была нами успешно использована при выполнении в 2017 г работы по заказу Государственного музея-заповедника «Ростовский кремль». Наряду со спектральными и изотопными исследованиями было проведено хромато-масс-спектрометрическое исследование 67 проб, отобранных с 32 художественных произведений русских художников, писавших в стиле «авангард» (Малевич, Экстер, Фальк, Кончаловский, Лентулов, Монин, Розанова и др). Все произведения датированы 1910-20-и гг. При этом была получена полная корреляция между результатами исследования всеми методами и выявлено 6 картин, связующее которых следует датировать второй половиной XX века, т.е. подделки.

Основные ограничения данной датировочной методики:

1. Сравнительно узкий временной период производства и массового применения DDT, который охватывает не более 30 лет с конца 1940-х до начала 1970-х гг.

2. Даже при соблюдении условия, что изучаемое художественное произведение относится к периоду 1950-70-е гг, в связующем могут отсутствовать DDT и его метаболиты. Т.е. отсутствие изучаемых маркеров не должно являться единственным доказательством.

3. Сложность отбора представительной пробы, которая должна содержать исключительно материалы авторской живописи.

4. Методика пока остаётся качественной или полуколичественной, т.к. обычно пробы очень малы, неоднородны, а соотношение связующего и пигмента неизвестно.

5. Полноценно и доказательно данная методика может быть использована только при исследовании связующего, образующего прочную водостойкую полимерную плёнку, в которую не могут проникнуть поздние реставрационные материалы, покровные лаки и напыления. Такими свойствами обладают масляное и белково-масляное (темперное) связующие. Гуашь, акварель, пастель и другие подобные материалы исследовать данным методом нельзя. Акриловые и другие синтетические полимерные связующие исследовать методом ГХ-МС можно (пиролитически), но не имеет смысла, т.к. они введены в состав художественных красок во второй половине XX века.

В настоящее время мы продолжаем активно применять и улучшать данную датировочную методику при исследовании произведений станковой масляной живописи.

РАЗРАБОТКА ВЭЖХ-МЕТОДА ОЦЕНКИ ЛИПОФИЛЬНОСТИ ЦНС АКТИВНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Д.М. Кочура, Д.В Криворотов, В.А. Кузнецов

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: zcaryg@gmail.com

Несмотря на медицинскую значимость опиоидных анальгетиков, их использование несет определенную опасность для жизни и здоровья человека, что диктует необходимость разработки и создания, более эффективных и безопасных лекарственных препаратов, действующих на центральную нервную систему (ЦНС), таких, как агонисты и антагонисты опиоидных рецепторов (ОР). Перенос молекул через гематоэнцефальный барьер (ГЭБ) в ткани ЦНС играет важную роль для всех лекарств, независимо от их терапевтической категории. С учетом того, что экспериментальное изучение кинетики этого процесса трудоемкая процедура, анализ липофильности фармакологических средств может быть первичным методом скрининга, прогнозирования и оценки их влияния на ЦНС. Практическое значение, с точки зрения медицинской химии, имеет величина коэффициента распределения, найденная в системе октанол/вода ($\log P$) при физиологическом pH крови человека ($pH=7,4$, $\log D_{7,4}$). Ее нахождение в оптимальном диапазоне $1 < \log D_{7,4} < 5$, как правило, обеспечивает эффективное

поступление фармакологических средств в целевые ткани ЦНС. Определение липофильности лекарственных соединений классическим методом «shakeflask» многофакторный и трудоемкий процесс, что затрудняет их сравнение. ВЭЖХ-метод, основанный на перераспределении веществ между C₁₈-липофильным сорбентом и водной фазой значительно лучше подходит для сравнительного анализа липофильности.

Цель работы разработка ВЭЖХ метода определения коэффициента распределения logP и его апробация на примере антагонистов опиоидных рецепторов.

Материалы и методы. Для расчета липофильности фармакологических средств использовали комплекс программного обеспечения ADME профилирования лекарственных соединений (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion) ACD/Percepta (ACD/Labs). Для экспериментального определения logP применяли метод роекомендованный ОЭСР: «Partition Coefficient (n-Octanol/Water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method» (1989 г.).

Результаты. Согласно методу, предложенному в ОЭСР для построения градуировочной кривой были выбраны соединения с известным logP (таблица), для которых были подобраны оптимальные условия их хроматографического разделения и детектирования: колонка Zorbax SB-C18 150 x 2,1 мм 1,8µm, элюент метанол: 0,1% раствор муравьиной кислоты в соотношении 1:1, температура колонки 37°C, в качестве детекторов использовались диодно-матричный и масс-спектрометрический детекторы. Для расчета коэффициентов удержания изучаемых веществ использовали формулу $k = (RT - T_0)/T_0$ (где: RT – время удержания компонента, T₀ – мертвое время). По результатам измерений строили калибровочный график зависимости logP от значений logk и в идентичных условиях проводили оценку коэффициента распределения модельного ряда опиоидов, таких как налоксон и папаверин.

Результат расчета коэффициента распределения модельных опиоидов (наллоксона и папаверина) показал, что простые соединения, используемые в методе ОЭСР для построения градуировочной кривой (HPLC 1), не адекватно описывают липофильность изучаемых соединений, содержащих основной атом азота и/или фенольный сайт. Поэтому, для оценки липофильности ЦНС-активных фармакологических средств предложили использовать в качестве стандартных соединений для построения калибровочного графика лекарственные средства с изученной липофильностью: налоксон, атропин и папаверин (таблица). Методику анализа оптимизировали с целью корректировки времён удержания компонентов - содержание метанола в элюенте снизили до 25%.

Обучающая выборка			Результаты измерений					
Калибровочные соединения	logP		Оцениваемые препараты	logP				Отн-но налоксона
	справ.	расч.		справ.	расч.	Эксп. HPLC 1	Эксп. HPLC 2	
методика ОЭСР (HPLC 1)			подложенная методика (HPLC 2)					
ацетанилид	1,0	0,84±0,52	налоксон	1,6	1,45±0,64	-3,56	1,43	1,00
2,4-динитрофенол	1,5	1,74±0,25	налтрексон	1,9	1,80±0,55	-2,65	1,63	1,14
нитробензол	1,9	1,95±0,20	атропин	1,8	1,53±0,37	-	2,10	1,47
бензол	2,1	2,22±0,15	налмефен	2,6	2,65±0,49	-0,42	2,32	1,62
хлорбензол	2,8	2,81±0,20	папаверин	2,9	3,74±0,50	-0,34	2,91	2,04
бромбензол	3,0	2,99±0,18	дипренорфин	3,6	2,21±0,57	-	2,95	2,06
дифениламин	3,4	2,97±0,29						
предложенная методика (HPLC 2)								
налоксон	1,6	1,45±0,64						
атропин	1,8	1,53±0,37						
папаверин	2,9	3.74±0.50						

Полученная калибровочная зависимость $\log P$ от логарифма коэффициента удержания имела линейный характер ($y = 0,9754 \cdot \log k + 1,7706$) и позволила найти коэффициенты распределения модельных антагонистов ОР близкие к расчетным или к описанным в литературе. Полученные результаты позволяют в стандартных условиях ранжировать рассмотренные опиоиды по изменению их лиофильности, что может быть использовано в разработке новых ЦНС-активных лекарственных препаратов, в том числе антагонистов опиоидных рецепторов.

ОБНАРУЖЕНИЕ ДИФЕНГИДРАМИНА В ПРИРОДНО ОКРАШЕННЫХ И ОБЕСЦВЕЧЕННЫХ ВОЛОСАХ (ШЕРСТИ) С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

М.В. Крысько, Ю.В. Слустовская, О.Ю. Стрелова
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
e-mail: krysko.marina@pharminnotech.com

Для большинства населения волосы воспринимаются как предмет внешнего облика. Однако волосы — это ещё и одна из информативных тканевых структур нашего организма. Их состояние может рассказать очень много о процессах, происходящих в организме. Волосы, как объект токсикологического исследования, имеют ряд преимуществ, наиболее важным из которых является накопление веществ во время роста волоса. На сегодняшний день в литературе данные относительно методик изолирования токсических веществ из волос достаточно ограничены и разнородны. В связи с этим, на кафедре фармацевтической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета была разработана методика гидролиза волос протеолитическими ферментами (химопсин,

химотрипсин, трипсин и папаин) для изолирования токсических веществ [Чувина, Н. А 2013, Слустовская, Ю.В. 2018].

В современном мире волосы ежедневно подвергаются различным механическим, термическим и химическим воздействиям, что может сказаться на их структуре. Согласно литературным данным, концентрация ксенобиотиков в волосах зависит от степени их пигментации. При окраске получение желаемого цвета волос происходит путем окисления цветообразующих компонентов. При этом происходит частичное разрушение естественного пигмента волос. В процессе окрашивания поверхность волоса становится открытой, и естественные пигменты удаляются в зависимости от природного цвета в большей или меньшей степени, а место, где находился пигмент волоса, занимает частица краски [Плотникова, И.Ю. 2010].

Целью нашей работы явилась апробация разработанных методик на природно окрашенной и обесцвеченной шерсти (волосах) и анализ влияния обесцвечивания на результаты химико-токсикологического исследования. Эксперимент проводили на лабораторных животных – морских свинках черной и рыжей окраски. Средняя масса 770 г. В течение 6 месяцев ежедневно внутривентрально через зонд животным вводили 10 мг/кг раствора дифенгидрамина, что соответствует суточной дозе для человека. На 28 день эксперимента шерсть у животных обесцветили с помощью профессионального красителя. После чего произвели отбор шерсти, срезая её хирургическими ножницами максимально близко к коже животного. Полученные навески шерсти промывали от внешних загрязнений водой очищенной, затем метанолом и провели ферментативный гидролиз ферментами химопсин, химотрипсин, трипсин и папаин [Слустовская, Ю.В. 2018]. Полученные извлечения анализировались методом ГХ-МС.

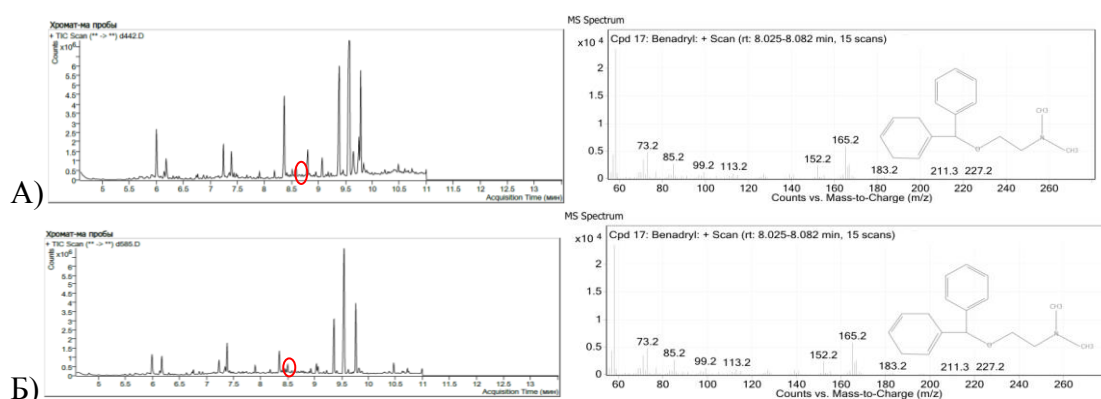


Рисунок 1 - Хроматограмма и масс-спектр из извлечения рыжей (А) и обесцвеченной рыжей (Б) шерсти после ферментативного гидролиз

Параллельно были проанализированы смывы с шерсти животных: в смывах не было обнаружено дифенгидрамина, это значит, что при обесцвечивании волос не происходит

вымывание токсиканта из структуры волоса. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Количественное содержание дифенгидрамина в извлечениях их образцов шерсти после ферментативного гидролиза (n=6, P=95 %)

Окраска шерсти	ХИМОПСИН	ХИМОТРИПСИН	ТРИПСИН	ПАПАИН
Черная	23,66 ± 3,26	32,24 ± 3,15	24,81 ± 4,17	23,64 ± 2,81
Черная об/цв	28,74 ± 1,07	25,87 ± 3,33	25,42 ± 4,48	34,72 ± 2,97
Рыжая	17,20 ± 2,48	19,95 ± 1,23	16,10 ± 2,74	18,74 ± 2,54
Рыжая об/цв	17,21 ± 1,43	18,61 ± 2,64	15,51 ± 2,00	22,48 ± 1,70

Пики эндогенных веществ природно окрашенной и обесцвеченной шерсти не совпадают по времени удерживания с пиком дифенгидрамина, т.е. продукты деградации природного пигмента и искусственные красители не оказывают влияние на интерпретацию результатов анализа.

Таким образом, методика ферментативного гидролиза может быть использована для изолирования веществ как из природно окрашенных, так и обесцвеченных волос (шерсти). Сравнивая результаты количественного содержания дифенгидрамина в шерсти, видно, что степень экстракции из обесцвеченной шерсти в 1,5-2 раза больше по сравнению со степенью экстракции его из природно окрашенной, что следует учитывать при интерпретации результатов. Все ферменты показали хорошие результаты на обесцвеченной шерсти, при этом фермент папаин оказался более эффективным. На природно окрашенной шерсти (черной и рыжей) лучше всего проходит ферментативный гидролиз химотрипсином.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ИНГИБИРОВАНИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В КРОВИ И ПЛАЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Е.А. Мурашко, Я.А. Дубровский, П.П. Бельтюков, В.Н. Бабаков

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: kate.murashko@gmail.com

Фосфонилированная бутирилхолинэстераза (БХЭ) может служить маркером отравления нервнопаралитическими агентами и пестицидами. Традиционным способом установления факта воздействия фосфорорганических веществ (ФОВ) на организм человека является мониторинг активности холинэстераз крови (ацетилхолинэстеразы эритроцитов и БХЭ), например, с применением метода Элмана [1]. Вместе с тем, сведения о снижении активности холинэстераз (в первую очередь, БХЭ) не дают ответа на вопрос о причинах снижения активности. Выявление снижения активности менее чем на 20% от нижней границы нормы не позволяет однозначно трактовать данный факт в качестве признака воздействия ФОВ. Снижение активности холинэстераз может наблюдаться не только под воздействием

ингибиторов, но и при патологических состояниях, таких как заболевания печени, анемия, острые инфекции, хроническая сердечная недостаточность и заболевания почек [2].

Предложен высокочувствительный метод определения ингибирования БХЭ, основанный на масс-спектрометрическом определении пептида, содержащего Сер¹⁹⁸ активного центра БХЭ, модифицированного остатком ФОВ. Для модельных экспериментов были использованы полученные от одного донора цельная кровь и плазма крови, затем экспонированные VR в концентрациях от 1 до 100 нг/мл.

Плазму отделяли от форменных элементов путём центрифугирования образцов консервированной крови при 1600g в течение 15 минут. БХЭ выделяли из плазмы крови с использованием магнитных микросфер с привитыми антителами к БХЭ. Выделенный белок подвергали ферментативному гидролизу в присутствии пепсина. Затем гидролизат анализировали методом ВЭЖХ-МСМС. В качестве маркера для определения количества необратимо ингибированной БХЭ использовали нонапептид ¹⁹⁵FGESAGAAS²⁰³, содержащий Сер¹⁹⁸, модифицированный остатком VR. Установлено, что площадь пика фосфонилированного пептида с m/z 930 Да линейно зависит от концентрации ФОВ в диапазоне от 1 до 20 нг/мл. Метод мониторинга множественных реакций (MRM) позволяет выявлять фосфонилированный пептид FGESAGAAS при низком уровне внесенного в плазму ФОВ – в концентрациях более 0,2 нг/мл. Модифицированный остатком VR пептид практически не подвергается спонтанному деалкилированию («старению») в течение месяца инкубации пробы при комнатной температуре и при 37°C. Степень ингибирования БХЭ определяли по величине отношения площади пика фосфонилированного пептида ¹⁹⁵FGESAGAAS²⁰³ в исследуемом образце к значению площади пика при полном (100%) ингибировании, которую определяли при внесении VR в большом избытке по отношению к содержанию БХЭ в плазме крови.

$$\text{Ингибирование БХЭ, \%} = \frac{S_{930}}{S_{930}(100\%)} \times 100$$

Ингибирование БХЭ, рассчитанное по данным масс-спектрометрии, имеет хорошую корреляцию с измерениями активности БХЭ, полученными методом Элмана. Предложенный подход к определению степени ингибирования БХЭ имеет преимущества перед решением аналогичной задачи с использованием метода Элмана: во-первых, выявление фосфонилированного нонапептида, содержащего Сер¹⁹⁸, определенно указывает на ингибирование БХЭ в результате воздействия ФОВ, даже при низкоуровневом воздействии, во-вторых, факт воздействия ФОВ устанавливается независимо от наличия данных об индивидуальном уровне базовой активности БХЭ.

Экспериментально установлено, что степень ингибирования БХЭ, определенная при внесении одинакового количества ФОВ в цельную кровь и плазму крови, различались на 10-15%. Наблюдаемый эффект может быть связан с неспецифической сорбцией липофильного ФОВ мембранами эритроцитов, а также ковалентным связыванием части ФОВ ацетилхолинэстеразой, входящей в состав мембран эритроцитов.

Литература

- [1] Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr, Feather-Stone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // Biochem Pharmacol. 1961. V.7. P. 88-95.
- [2] Sun J., Lynn B.C. Development of a MALDI-TOF-MS method to identify and quantify butyrylcholinesterase inhibition resulting from exposure to organophosphate and carbamate pesticides // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2007. V.18. P. 698-706.

ОБНАРУЖЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ НОВОГО ПСИХОАКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА ФУРАНИЛФЕНТАНИЛА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

1Е.В. Никитин, 1С.Е. Грибкова, 1В.А. Калашников, 2А.М. Григорьев, 3И.А. Родин.

¹Институт криминалистики Центра специальной техники ФСБ России, г. Москва.

²ГБУЗ Московской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы», г. Москва.

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, г. Москва.

e-mail: nikitin.com@mail.ru

Важную роль в обеспечении химической безопасности граждан Российской Федерации играет обнаружение и идентификация метаболитов новых психоактивных веществ при диагностике, профилактике и терапии острых и хронических отравлений. В последние годы заметно выросло число случаев смертельных отравлений фентанильными соединениями в Северной Америке, отмечено распространение данной тенденции в Европе и Российской Федерации [1].

К настоящему времени синтезировано более 200 аналогов фентанила, которые различаются по эффективности и продолжительности действия. Некоторые из них давно и успешно используются в медицине и ветеринарии для обезболивания. Низкая дозировка, высокая токсичность и случайная вариабельность состава фентанилсодержащих смесей, продаваемых на рынках наркотиков, являются причинами частых отравлений со смертельным исходом. Симптомы отравления структурными аналогами фентанила подобны действию больших количеств героина. Высокая аффинность производных фентанила к μ опиоидным рецепторам нередко делает неэффективным даже своевременное введение антидота. Несмотря на это, фентанилы пользуются спросом среди потребителей наркотических анальгетиков [2].

Диагностика употребления соединений фентанильного ряда должна включать процедуры их обнаружения в биологических объектах человека и, в первую очередь, в моче и крови, отбираемых при проведении контрольных или детоксикационных процедур, или при аутопсии. Подобный анализ обычно осложнен метаболизмом исходного соединения, нередко приводящем к малому содержанию или даже отсутствию его в биологических объектах. В этом случае для вынесения заключения необходимо обнаружение метаболитов.

В данном докладе обсуждаются хроматомасс-спектрометрические характеристики метаболитов нового психоактивного вещества фуранилфентанила (N-фенил-N-(1-(2-фенилэтил)пиперидин-4-ил)фуран-2-карбоксамид), имеющие практическое значение для их обнаружения методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии в биологических объектах.

Эксперимент. Объектами анализа были образцы сыворотки крови и мочи, полученные в эксперименте на лабораторных животных.

Поиск метаболитов и определение их структурных особенностей выполняли на жидкостном хроматографе Vanquish, соединенным с tandemным масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения Q Exactive HF (Thermo Fisher Scientific).

Подготовку проб образцов мочи и сыворотки крови к анализу проводили в три этапа: ферментативный гидролиз конъюгатов с глюкуроновой кислотой, последовательная экстракция при нейтральном и щелочном значении pH, и последующее концентрирование продуктов гидролиза для повышения чувствительности анализа.

Результаты. После внутримышечного введения раствора фуранилфентанила в моче крыс обнаружили ряд ранее не описанных метаболитов (рис. 1). Установлено, что хроматографические пики метаболитов, являющихся продуктами моногидроксилирования, образования дигидродиола и гидролиза (M1, M2 и M3) были наиболее интенсивны в течение всего времени наблюдения за экскрецией [3].

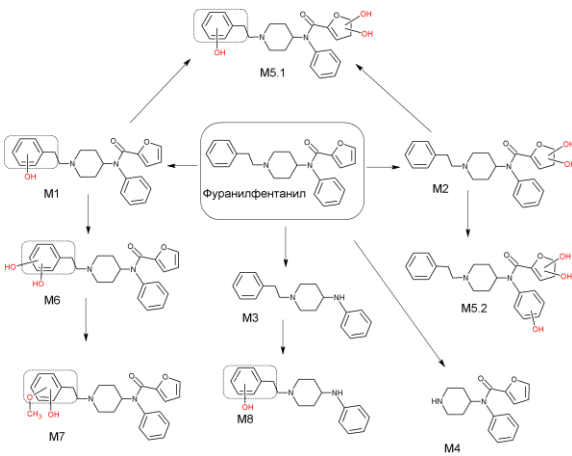


Рисунок 1 - Предполагаемая схема образования метаболитов фуранилфентанила у крыс

Название соединений	Моча крыс, отобранная через 24 часа с момента введения фуранилфентанила	Моча человека, посмертный образец
Фуранилфентанил	+	+
M1	+	
M2	+	+
M3	+	+
M4	+	+
M5.1	+	+
M5.2	+	
M6	+	
M7	+	
M8	+	+

Таблица 1 - Сводные данные по метаболитам, обнаруженным в моче крыс и человека

Используя хроматомасс-спектрометрические характеристики фуранилфентанила и его метаболитов, полученные при исследовании мочи крыс, в посмертных образцах крови и мочи человека обнаружили сам фуранилфентанил и ряд его метаболитов, подобных тем, которые нашли в моче крыс (табл. 1). Обнаружение этих соединений рекомендуется при проведении экспертных исследований биологических объектов для вынесения предположений о природе токсикантов.

Литература

- [1] United Nations Office On Drugs and Crime // UNODC - Fentanyl and its analogues-50 years on.
- [2] Katselou M. et al. // Forensic Toxicol, 2016. Vol. 34., № 2. P. 201–212.
- [3] Родин И.А. и др. // Масс-спектрометрия. 2017, № 14. С. 242–251.

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ 4-ИЗОПРОПИЛФЕНОЛА КИСЛОРОДОМ ВОЗДУХА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Т.И. Пушкарева, И.Г. Зенкевич
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: tatyana_pushkareva93@mail.ru

Окисление природных и техногенных органических соединений в водных средах растворенным кислородом воздуха представляет собой один из основных процессов их трансформации. Выявление закономерностей таких процессов необходимо для характеристики процессов деструкции экотоксикантов в различных объектах окружающей среды. Кроме того, это необходимо для понимания природы окислительных биохимических процессов *in vivo*. Закономерности окисления многих природных соединений до настоящего времени остаются до конца не выясненными из-за сложностей установления и систематизации структур многочисленных, в том числе нестабильных, продуктов. Примером таких соединений являются природные флавоноиды, например, кверцетин. Это определяет целесообразность характеристики процессов окисления более простых модельных соединений в аналогичных условиях [1].

4-Изопропилфенол **1** выбран в качестве простейшего объекта для моделирования процессов окисления органических соединений кислородом воздуха в водных средах, так как содержит атом водорода при третичном атоме углерода в α -положении к бензольному кольцу и гидроксильную группу в ядре, обеспечивающую возможность масс-спектрометрического детектирования продуктов окисления в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов [2]. Кроме того, это соединение моделирует поведение 4-замещенных алкилфенолов (4-октил-, 4-нонил-) – продуктов гидролиза их полиэтоксильных производных, используемых в

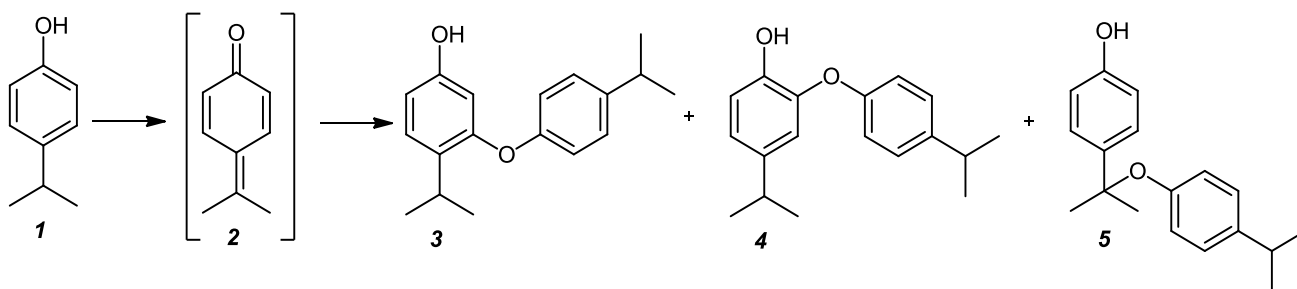
качестве неионогенных поверхностно-активных веществ [3], обладающих эндокринной токсичностью.

Задачи работы включали хромато-масс-спектрометрический анализ смесей продуктов окисления 4-изопропилфенола, их идентификацию и объяснение механизмов образования.

Окисление 4-изопропилфенола проводили в смеси водного раствора NH_4HCO_3 (25 мМ., $\text{pH} \approx 8.5$) и ацетонитрила (80:20 по объему) с концентрацией 4-изопропилфенола 1.0 мг/мл. После барботирования воздуха через 100 мл раствора со скоростью ~ 1 л/мин в течение 4 ч при рассеянном люминесцентном освещении и последующего контакта с воздухом в течение 1 суток без перемешивания продукты окисления 4-изопропилфенола в нем обнаружены не было. Для инициализации процесса окисления добавляли водный раствор аммиака (10%) до $\text{pH} \sim 10$ и дополнительно барботировали воздух в течение 1 ч.

Для идентификации продуктов окисления 4-изопропилфенола проводили хромато-масс-спектрометрический анализ реакционной смеси в режиме детектирования отрицательных ионов.

Показано, что в результате окисления 4-изопропилфенола **1** образуется существенно меньшее число продуктов, чем в случае кверцетина что соответствует большей селективности его окисления. Преобладающим компонентом оказывается соединение, формально соответствующее димеру, с молекулярной массой 270 Да, которому можно приписать две возможные структуры **3** и **4**. Такой димер образуется в результате нуклеофильного присоединения исходного 4-изопропилфенола к промежуточно образующемуся хинонметиду **2**.



Продукты свободнорадикального (кислородом воздуха) и электрохимического окисления органических соединений часто совпадают, поэтому целесообразно рассмотреть электрохимическое окисление **1**.

Электрохимическое окисление раствора 4-изопропилфенола (100 мкг/мл) проводили в смеси водного раствора ацетата аммония ($\text{pH} \sim 7.4$) и ацетонитрила (3:1 по объему) в электрохимической ячейке ROXY (Antec, Нидерланды) с допированным бором электродом Magic Diamond при 37°C и скорости потока 5 мкл/мин. Потенциал электрода варьировали от 2.5 до 3.5 В. Идентификацию продуктов окисления 4-изопропилфенола проводили хромато-масс-спектрометрически в режиме детектирования отрицательных ионов.

В результате электрохимического окисления были обнаружены продукты, образующиеся в результате нескольких циклов «окисление–присоединение» нуклеофильных реагентов, аналогичных окислению кислородом воздуха. Все продукты охарактеризованы значениями индексов удерживания в шкале реперных *n*-алкилфенилкетонов $C_6H_5COC_nH_{2n+1}$ ($n - 1-3$)².

Авторы выражают благодарность руководству ФГУП “НИИ ГПЭЧ” ФМБА России за возможность использования оборудования при выполнении настоящей работы.

Литература

- [1] Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. // *Журн. аналит. химии*. 2017. Т. 72. №10. С. 890-903.
- [2] Зенкевич И.Г., Пушкарева Т.И. // *Журн. общ. химии*. 2018. Т. 88. №1. С. 9-16.
- [3] Zenkevich I.G. et al // *J. Chromatogr. (A)*. 2009. V. 1216. P. 4097.

ВЫЯВЛЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БИОМАРКЕРОВ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК HEPG2

Т.С. Салль, Е.В. Демьянова, Е.С. Щербакова, А.В. Жахов, А.М. Ищенко, С.И. Ситкин,
Т.Я. Вахитов

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург
e-mail: sall@hpb-spb.com

Основными факторами риска развития неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) являются ожирение, диабет II типа и метаболический синдром, включая дислипидемию и гипертонию. Вторичными причинами развития НАЖБП могут являться лекарственные повреждения печени, отравление фосфором, продуктами нефтехимии, бледной поганкой и токсинами *Bacillus cereus*; загрязнение воздуха и воды пестицидами, тяжелыми металлами, полихлорированными соединениями [1,2]. В клинической практике диагностика НАЖБП осуществляется клиническими, лабораторными и инструментальными методами, крайне актуальным является выявление неинвазивных биомаркеров с помощью метаболомного анализа. Выявленные метаболиты могут обладать регуляторным действием: являться этиологическими факторами, предикторами или факторами ответа организма на заболевание.

Сыворотку крови отбирали у здоровых добровольцев ($n=10$) и пациентов мужского пола с гистологически подтвержденным неалкогольным стеногепатитом (НАСГ) ($n=11$). Исследования метаболома сыворотки крови проводили методом ГХ-МС на приборе GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu). Для хроматографирования использовали программируемый нагрев колонки от 50 до 290 °C со скоростью 10 °C/мин при начальной температуре колонки 50 °C (3

минуты), при конечной (290 °C) – 13 минут. Объем вводимой пробы – 100 мкл, деление потока 1:50, поток газа-носителя (гелий) через колонку – 1 мл/мин, температура инжектора и детектора – 280° C. Выравнивание сравниваемых хроматограмм проводили с использованием программы MetAlign. Деконволюцию и аннотацию метаболитов проводили с помощью программы, совмещенной с прибором, а также AMDIS, с использованием баз данных NIST, HMDB, GOLM, MassBank. Для анализа данных использовали методы PCA, PLS-DA, SVM и naïve Bayes.

Для оценки влияния выявленных метаболитов, в том числе микробного происхождения, на развитие НАЖБП использовали клетки гепатокарциномы HepG2 для создания модели стеатоза. Клетки HepG2 подвергали воздействию патофизиологически значимых концентраций пальмитиновой и олеиновой кислоты (0,5 мМ) в присутствии бычьего сывороточного альбумина, чтобы симитировать чрезмерный поток жирных кислот (ЖК) в гепатоциты. На данной модели тестировали действие комплекса бактериальных метаболитов. Степень накопления ЖК в гепатоцитах оценивали по интенсивности окраски липидов красителем Oil Red O с помощью спектрофотометра, воспаление оценивали по уровню IL-8 в культуральной жидкости с помощью метода ИФА.

В сыворотке крови методом ГХ-МС было идентифицировано более 360 метаболитов. Среди них аминокислоты и их производные, например, триптофан, валин, аланин, глицин, изолейцин, лейцин, треонин, пролин, серин, аспарагиновая кислота, кетолейцин, α-аминомасляная кислота, аминомалоновая кислота, пироглутаминовая кислота; аминокислоты: этаноламин; спирты: этанол, глицерин; одноосновные карбоновые кислоты: капроновая кислота, пеларгоновая кислота, каприновая кислота; двухосновные карбоновые кислоты, например, малоновая кислота, метилмалоновая кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота; оксикислоты: гликолевая кислота, молочная кислота, 3-гидроксимасляная кислота, 2-гидроксимасляная кислота, 3-метил-2-гидроксипантотановая кислота; салициловая кислота, 3-индол-пропионовая кислота и другие соединения.

Использование линейного классификатора, support vector machine, SVM, PLS-DA, а также naïve Bayes (Наивный байесовский классификатор) позволило разделить группы здоровых добровольцев и пациентов с НАСГ. В результате применения этих методов были выделены потенциальные биомаркеры НАСГ, например, пониженные концентрации мочевой кислоты и 3-индолпропионовой кислоты (ИПК), повышенная концентрация глюкозы.

При добавлении ЖК в культуры клеток HepG2 уровень липидов в гепатоцитах повышался в 2,6 раза по сравнению с контролем, а содержание IL-8 увеличивалось на 19%. Совместное внесение комплекса бактериальных метаболитов (Актофлор-С) с ЖК снижало накопление липидов на 4,5%, а уровень IL-8 уменьшался на 5%. Совместное культивирование

клеток с ЖК и α -кетоглутаратом не влияло на накопление липидов, но уровень IL-8 повысился на 20% относительно контроля (клетки с добавлением ЖК). При добавлении пропионовой, янтарной, капроновой кислот совместно с ЖК содержание липидов достоверно увеличилось на 19 - 27% по сравнению с контролем (группа с ЖК).

Литература

- [1] Kneeman J.M. // *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2012. V. 5. N 3. P. 199–207.
[2] Arciello M. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. N. 11. P. 22052-22066.

РОСТ TRICHODERMA ASPERELLUM НА СРЕДАХ С НАНОЧАСТИЦАМИ И МАГНИТНЫМИ МЕТАЛЛОПОЛИМЕРНЫМИ НАНОКОМПОЗИТАМИ

О.Д. Смирнова¹, К.В. Паламарчук¹, И.В. Калашникова¹, Д.А. Бокарева¹, В.Ю. Мусатова²,
С.А. Семенов², Т.А. Нугманова³

¹ – Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

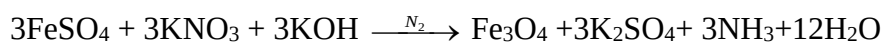
² – Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий)

³ – ООО «Биоин-НОВО», Москва

Интенсивное использование наночастиц в современных технологиях, в частности, в фармацевтическом производстве (например, для систем иммобилизации и пролонгированного действия препаратов) делает актуальными исследования влияния этих наночастиц на микробиоценозы. Данная работа посвящена исследованию влияния нескольких видов нетоксичных и химически инертных наночастиц, потенциально интересных для адресной доставки фармпрепаратов, – на ростовые свойства почвообразующего микромицета *Trichoderma asperellum*.

Использованный SiO₂ был выделен ультрафильтрационным мембранным концентрированием гидротермального раствора, полученным из скважин Мутновского вулкана в НИГТЦ ДВО РАН и обладал размерами частиц 5–16 нм, с максимумом распределения 9-10 нм. Углеродные многослойные нанотрубки (УНТ) имели размеры внешнего диаметра 49–72 нм (Dealtom, НПП «Центр нанотехнологий»), а в качестве сравнения с нанотрубками использован активированный уголь (АУ) производства АО «Фармстандарт» (Россия), растёртый в порошок до размеров порядка 1 мкм.

Ферромагнитные наночастицы Fe₃O₄, синтезированы осаждением с общей формулой:



Исследованные металлополимерные наноккомпозиты, обладающие собственным магнитным моментом и восприимчивостью, были получены в результате термического разложения итаконата и цитраконата железа, малеинатов кобальта (II), никеля (II) и железа в атмосфере аргона, которые представляют собой порошки, состоящие из двух структурных элементов: в органическую полимерную матрицу внедрены сферические наночастицы

Co₃O₄/CoO/ α -Co, NiO/ β -Ni или γ -Fe₂O₃ в полимерной оболочке структуры «ядро-оболочка» (рис. 1 б).

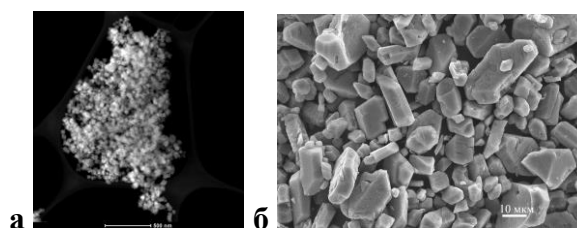


Рисунок 1 - СЭМ-изображение (а) наночастиц магнетита, (б) нанокompозита, полученного термолизом кислого малеината никеля (II)

Частицы вводились массовой навеске от 10^{-4} до 10^{-7} масс. д. в горячие среды Сабуро и Чапека, которые разливались по чашкам Петри в количестве 10 мл/чашку, остужались до загущения и затем засеивались жидкой культуры *Trichoderma asp.* (ООО «Биоин-НОВО»), порядка 10^2 КОЕ/чашку. В данном исследовании частицы стабилизировались от агрегации только диспергированием ультразвуком в режиме 24 кГц мощностью 280 Вт в течение 2 минут. На седьмой день культивации при 24° С по баллу, характеризующему площадь зарастания чашек и интенсивности окраски конидий, A_{nano-i} – был оценен вторичный рост культур β_{nano-i} относительно контрольной группы $A_{control}$, условно принимаемой за 100 баллов.

$$\beta_{nano-i} = \frac{A_{nano-i}}{A_{control}}$$

Полученные данные усреднялись (таблица 1). Для диапазонов концентраций порядка 10^{-6} массовых долей вторичный рост при большинстве типов частиц оказался интенсивнее, чем в контроле, - поэтому относительная оценка превысила 1.

Таблица 1 - Относительная интенсивность вторичного роста *Trichoderma asperellum* на среде с наночастицами (относительно контроля)

тип частиц и обозначение		концентрация в среде, массовая доля			
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Магнетит (МНЧ)	Fe ₃ O ₄	0,94	1,13	1,75	1
Термолиз малеината железа	Fe 13	0,73	1,03	1	1
Термолиз итаконата железа	Fe 23	0,83	0,96	0,86	1
Термолиз цитраконата железа	Fe 33	0,86	0,996	1,04	1,20
Термолиз малеината кобальта	Co 33	0,15	1,06	1,11	0,89
Термолиз малеината никеля	Ni 33	1	1,07	1,07	1,08
Гидротермальный кремнезём	SiO ₂	0,85	1,11	1,17	1,22
Углеродные нанотрубки	УНТ	0,80	0,90	1,05	1,20
Активированный уголь	АУ	0,70	0,80	0,90	1

Для проверки влияния наночастиц на процессы сорбции внешней среды клетками грибов были выбраны три красителя, обладающих различной локализацией в клетках: родамин 6Ж, Nile Red и Янус грин. Красители вводились в культуральную жидкость, а через различное

время отбирались пробы, клетки отмывали и лизировали при 29703 g. Супернатанты клеточных лизатов исследовали спектрофотометрически в диапазоне 350-750 нм для определения количества красителя по интенсивности его характеристической полосы поглощения, согласно калибровочным зависимостям, имеющим монотонный характер на исследуемом концентрационном диапазоне. Результаты отображены на *рис. 2*.

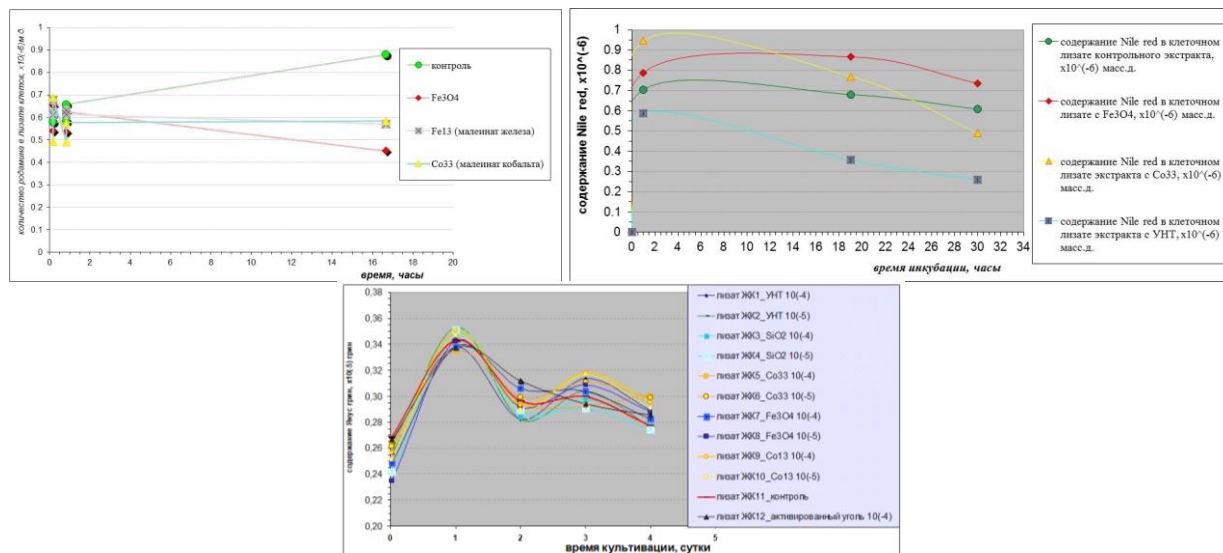


Рисунок 2 - Динамика содержания красителей в экстракте клеток *Trichoderma asperellum* в результате поглощения из культуральной жидкости в присутствии наночастиц.

Выводы. Среди нанокмпозитов, полученных термическим разложением карбоксилатов кобальта, никеля и железа токсичность для *Trichoderma asperellum* выявлена для частиц, полученных термическим разложением малеинатов, цитраконатов и итаконатов кобальта, в концентрациях в среде 10⁻⁴ массовых долей и выше. Все остальные наночастицы слабо угнетают рост микромицета в данном диапазоне концентраций. Все исследованные типы наночастиц неспецифически усиливают вторичный рост *Trichoderma asperellum* в концентрационном диапазоне порядка 10⁻⁶ массовых долей. Гипотеза о стимуляции более интенсивного поглощения окружающей среды при этом не подтвердилась, более того, на малых сроках инкубации с наночастицами поглощение красителей из внешней среды клетками чаще уменьшается. Процессы, стимулирующие усиление роста данного микромицета при концентрациях порядка 10⁻⁶ массовых долей в средах однозначно не выявлены и, вероятно, являются реакцией внутриклеточной стресс-мобилизации.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (пр. №16-03-00148).

МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ИНСЕКТИЦИДОВ КЛАССА ФИНИЛПИРАЗОЛОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

В.В. Баюшева, Д.Н. Соболев

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им.
Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Мытищи, Московская область

e-mail: analyt1@yandex.ru

Инсектициды — это пестицидные химические препараты, предназначенные для уничтожения вредителей сельскохозяйственных растений — насекомых, их яиц и личинок, для защиты продовольственных запасов и т.д. Препараты также используются в ветеринарии для борьбы с насекомыми - переносчиками болезней и эктопаразитами животных. Механизм действия инсектицидов класса фенилпиразолов заключается в блокировании ГАМК (гамма-аминомасляной кислоты) — нейромедиатора, который вступает во взаимодействие с рецепторами постсинаптической мембраны и тормозит возбуждательный процесс в нервной системе.

Фипронил — контактный инсектицид системного действия. Относится к классу фенилпиразолов, широко используются для борьбы с вредными насекомыми и разносчиками инфекций у домашних животных, скота, а также вредителями сельскохозяйственных культур, например пшеницы или ячменя, обладает слабой избирательностью. Ввиду высокой стабильности вещества класса фенилпиразолов могут накапливаться в объектах окружающей среды и, в последствии, представлять угрозу для нецелевых видов [1]. При попадании в организм фипронил в процессе метаболизма преимущественно окисляется до сульфона. Данный метаболит обладает длительным периодом полураспада, что, несомненно, представляет высокую опасность для биотических представителей биогеоценоза [2].

В настоящей работе представлены результаты исследования по разработке метода измерения остаточных количеств фипронила и фипронил-сульфона в мясе и субпродуктах птицы, а также яйцах и яичных продуктах.

Способ пробоподготовки основан на современной технологии QuEChERS: образец продуктов яичных сухих пищевых, взбитых яиц, измельченного мяса или субпродуктов птицы массой 10 г помещали в центрифужную полипропиленовую пробирку, пробы яиц, мяса и субпродуктов предварительно замораживали в морозильной камере при температуре -18°C . Добавляли в пробирку раствор уксусной кислоты (0,1 %) в ацетонитриле, в пробы меланжа и порошка яичного белка предварительно вносили по 10 см³ бидистиллированной воды, экстрагировали вещества в присутствии смеси солей для экстракции (4 г сульфата магния, 1 г хлорида натрия), интенсивно встряхивая. Затем пробу помещали на 10-15 мин в морозильную камеру, после центрифугировали в течение 5 мин (4000 оборотов/мин), аликвоту надосадочной жидкости очищали с применением дисперсионной твердофазной экстракции с

помощью набора сорбентов, содержащего первичный-вторичный амин, октадецилсилан и графитизированную сажу. После интенсивного встряхивания и последующего центрифугирования отбирали аликвоту, для анализа.

Содержание пестицидов анализировали методами капиллярной газо-жидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективными детекторами (хромато-масс-спектрометр «Agilent 5977A/7890B» и жидкостный хроматограф «Agilent 1290», снабженный детектором с тройным квадруполом «Agilent 6460»). Метод ВЭЖХ ввиду дороговизны оборудования недоступен для большинства аналитических лабораторий, но обладает высокой чувствительностью, и был использован для подтверждения достоверности полученных газохроматографическим анализом результатов.

Достигнутый предел обнаружения 0,002 мг/кг обеспечивает контроль гигиенического норматива 0,005 мг/кг [3], градуировочная характеристика линейна в диапазоне 0,002 – 0,05 мкг/см³ (коэффициент корреляции – 0,9987), соотношение сигнал-шум на пределе обнаружения составляет 20:1. Полнота извлечения варьирует в интервале от 87 до 104%, среднее квадратичное отклонение – от 8,0 до 13%.

На основании проведенных исследований, обобщения и статистической обработки результатов, сформированы Методические указания по определению остаточных количеств фипронила и метаболита фипронил-сульфона в яйцах, продуктах яичных сухих пищевых, мясе и субпродуктах птицы методом капиллярной газожидкостной хроматографии, утвержденные в установленном порядке по разделу 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Созданный метод гармонизирован с международными требованиями к аналитическому контролю остаточных количеств пестицидов и направлен на обеспечение безопасности сельскохозяйственной продукции.

Литература

- [1] Попова А.Ю. и др. // *ЗНУСО*. 2018. Т. 301. №4. С.10-14.
- [2] van der Sluijs JP. et al // *Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning*. 2015. V. 3. P. 148-154.
- [3] *ГН 1.2.3539-18. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень)*, 2018.

ХИМИКО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ
ПРОДУКЦИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ДЕТЕЙ

М.В. Ларькина, М.Р. Фейсханов

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены
им.Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи, Россия

e-mail: analyt1@yandex.ru

В современном мире решающим фактором экономического, политического и социального развития является сохранение здоровья людей, и, прежде всего, здоровья подрастающего поколения. Дети являются одной из уязвимых групп населения с точки зрения влияния внешних факторов природной среды. В этой связи предъявляются высокие требования к материалам, входящих в состав товаров, предназначенных для использования детьми, в том числе игрушек.

Среди ассортимента игрушек, представленных, на рынке большое распространение получили изделия на основе резино-латексных композиций. В процессе их производства, в качестве вулканизаторов, применяют цимат и этилцимат, относящиеся к классу дитиокарбаматов. Цимат и этилцимат являются веществами, обладающими сенсibiliзирующим действием.

В целях защиты жизни и здоровья детей и лиц, присматривающих за ними, был утвержден Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 008/2011 «О безопасности игрушек», устанавливающий допустимые значения уровней миграции этих веществ в водную среду. (максимально допустимые количества миграции (ДКМ) в водную среду - 0,5 мг/дм³ и цимата - 0,6 мг/дм³) [1]. Миграция цимата и этилцимата из резиновых игрушек в водную среду, в случае превышения установленных значений, может приводить к проявлению токсического действия.

В соответствии с Планом разработки методических документов по вопросам организации федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения на 2017-2019 годы (приказ Роспотребнадзора № 671 от 18.08.2017) была поставлена задача разработки методических указаний по измерению концентрации цимата и этилцимата в водных вытяжках для контроля ДКМ указанных веществ в водной среде.

Основным методом для определения соединений класса дитиокарбаматов является капиллярная газожидкостная хроматография (ГЖХ) [2]. Исходя из физико-химических свойств цимата и этилцимата: низкой растворимости в воде и низкой летучести, проведение прямой идентификации методом ГЖХ невозможно. Перевод их в растворимую натриевую соль, с последующим восстановительным кислотным гидролизом в присутствии хлорида олова (II) с образованием сероуглерода, позволяет провести количественное определение в

равновесной фазе с применением пламенно-фотометрического детектора (ПФД), специфичного на серу. Особенностью ПФД является логарифмическая зависимость площади пика ($LgS; S, мВ \cdot с$) от концентрации ($LgC; C, мкг/см^3$), которая была установлена на основе анализа растворов сероуглерода в бензоле. В исследованиях использован газовый хроматограф «Кристалл 2000 М» с приставкой для дозирования равновесного пара (ДРП).

Принимая во внимание тот факт, что гидролиз дитиокарбаматов проходит неколичественно, образующийся сероуглерод не полностью концентрируется в паровой фазе, а также введение в хроматограф аликвоты паровой фазы, проведены параллельные исследования модельных водных вытяжек с расчетом коэффициента K , характеризующего поправку значений, полученных путем анализа прямого ввода сероуглерода в бензоле и парофазного анализа: $y = Kx$.

Коэффициент (K) включается в расчет найденного содержания цимата/этилцимата в пробе водной вытяжки.

Метод апробирован на образцах резиновых игрушек, случайно приобретенных на потребительском рынке. Приготовление водных вытяжек для определения цимата и этилцимата проводили согласно п. 3.83 ГОСТ 25779-90 «Игрушки. Общие требования безопасности и методы контроля».

Предел обнаружения цимата или этилцимата составил $0,1 мкг/дм^3$. В исследованных игрушках указанные вещества не идентифицированы, что свидетельствует об их безопасности.

Литература

- [1] Технический Регламент Таможенного союза ТР ТС 008/2-11 «О безопасности игрушек».
- [2] Ракитский В.Н. и др. // Методические проблемы химико-аналитического обеспечения безопасности продукции, выращенной с применением дитиокарбаматов// *Международный научно-исследовательский журнал*. 2014. Т. 4. С.21-22.
- [3] Березняк И.В. и др. // *Материалы XII Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей*. 2017. С. 465-468.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ДЕСТРУКЦИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ
СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

В.И. Шмурак, Е.Д. Кессених, М.Д. Шачнева, Л.К. Густылева, Т.И. Алёшина,
Н.Л. Корягина, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: vladimir.shmurak@gmail.com

Начатая в 1996 году Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации» была завершена в 2017 году. В рамках Программы было создано семь объектов по уничтожению, которые были оснащены оборудованием и обеспечены современной инфраструктурой. За 21 год выполнения программы, бюджет, включая строительство более 400 домов, 20 школ и детских садов, 14 больниц, 3 спортивных комплексов, более 160 километров дорог, 640 километров газопровода, 240 километров водопроводных сетей и многих других объектов социальной и коммунальной инфраструктуры, составил более 300 миллиардов рублей. С целью передачи существующих объектов заинтересованным инвесторам, необходимо полностью санировать эти предприятия. Для этого в 2018 году правительством Российской Федерации предусмотрены средства в бюджете в размере 5,3 миллиардов рублей [1].

В частности на объекте по уничтожению химического оружия «Почеп», расположенном в Брянской области, планируется организовать выпуск фармацевтической продукции [2]. Это накладывает жесткие требования к анализу поверхностей здания и элементов инфраструктуры на предмет выявления следов химического оружия и продуктов их деградации. Целью данной работы стало качественное и количественное определение продуктов распада нервно-паралитических отравляющих веществ (ОВ) в образцах, отобранных на объекте по хранению и уничтожению химического оружия «Почеп».

Нами была разработана методика количественного определения в смывах с поверхностей здания и технологического оборудования продуктов трансформации нервно-паралитических ОВ. В качестве аналитов были выбраны несколько соединений (2-диэтиламиноэтантол, бис(2-диэтиламиноэтил)дисульфид, О-алкилметилфосфоновые кислоты и S-2-(диэтиламиноэтил)метилфосфонотиовая кислота, обладающих свойствами полярных соединений и относящихся к нелетучим веществам. Указанные вещества являются специфичными маркерами основных классов отравляющих веществ, т.е. не встречаются в окружающей среде и способны сохраняться в объектах анализа в течение длительного времени [3].

Идентификацию и количественное измерение определяемых соединений в пробах выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным

детектированием с использованием внешнего стандарта. Разделение компонентов пробы осуществляли на неполярной хроматографической колонке (Gemini-NX-3u C18, Phenomenex) жидкостного хроматографа Nexera XR (Shimadzu Corp.), оснащенного автодозатором и термостатом колонки. Детектирование проводили на тройном квадрупольном масс-спектрометре LCMS-8050 с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении с нагреваемым газом (Heated ESI) в режиме регистрации отрицательных и положительных ионов и программным обеспечением для управления и обработки данных «Lab Solution».

Методика была применена при анализе проб, полученных на объекте по хранению и уничтожению химического оружия «Почеп» в рамках проекта по оценке чистоты объекта после проведения процедур санации и дегазации цехов и помещений.

Литература

- [1] В России завершена работа по ликвидации химического оружия. Информационный ресурс Президента России, URL: <http://kremlin.ru/events/president/news/55714> (дата публикации: 27.09.2017).
- [2] Завод по уничтожению химоружия под Брянском передадут эндокринному заводу в 2019 году. Источник: ТАСС. URL: <http://tass.ru/ekonomika/5304278> (дата публикации: 19.06.2018).
- [3] Родин И.А. Определение продуктов трансформации отравляющих веществ в биологических объектах и объектах окружающей среды методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии: дис. ... д-ра хим. наук. Мос. гос. университет, Москва, 2016.

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ. СЕКЦИЯ «ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И
КЛИНИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ»**

УЧАСТИЕ КЛЕТОК ГРАНУЛЕЗЫ КОРОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ ПРОЛАКТИНА НА КОМПЕТЕНЦИЮ К РАЗВИТИЮ ООЦИТОВ, НЕ ЗАВЕРШИВШИХ ФАЗУ РОСТА IN VIVO.

Т.И. Станиславович, Т.И. Кузьмина

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Санкт-Петербург
e-mail: Illfor@mail.ru, prof.kouzmina@mail.ru

Достижения в области инновационных эмбриотехнологий способствуют интенсификации селекционных процессов высокопродуктивных животных, генерируют инновационные подходы к решению актуальных проблем ветеринарии и биомедицины с использованием клеточных репродуктивных технологий. Базовый метод клеточных репродуктивных технологий – получение биологически полноценных донорских яйцеклеток, пригодных к созреванию и оплодотворению *in vitro*. Качество донорского ооцита и состав среды для созревания определяют перспективные потенции гамет к оплодотворению. ВCB-диагностика успешно используемая для оценки исходной популяции ооцитов, позволяет тестировать завершенность фазы роста и выявлять наиболее пригодные для культивирования ооциты. Ранее обнаружены высокие потенции ооцитов коров, завершивших фазу роста [VCB(+)] к созреванию по сравнению с ооцитами, не завершившими фазу роста [1]. Об эффективности использования пролактина в средах для культивирования ооцитов коров свидетельствуют эксперименты, проведенные нами ранее [2]. Цель настоящего исследования – с использованием модели экстракорпорального созревания ооцитов оценить роль клеток гранулезы в реализацию эффектов пролактина на компетенции к развитию ооцитов, не завершивших фазу роста *in vivo*. Ооциты, окруженные не менее, чем 5-6 слоев клеток кумулюса выделяли из антральных фолликулов ($d=3-6$ мм) и подвергали ВCB-тесту (окрашивали красителем бриллиантовым голубым кристаллическим – 26 мкМ ВCB (В-5388), растворенном в фосфатно-солевом буфере, 90 минут при температуре 38.5⁰С, 90% влажности.). Ооцит-кумуляные комплексы ранжировали в соответствии с окраской ооплазмы на: ооциты с окрашенной ооплазмой -VCB(+) ооциты и неокрашенной - ВCB(-) ооциты. Группы эксперимента и состав сред для культивирования ооцитов представлен в таблице. Ранее показано, что пролактин совместно с клетками гранулезы оказывает положительный эффект на показатели оплодотворяемости ооцитов коров. В настоящем исследовании исследовали потенции к оплодотворению растущих и завершивших фазу роста ооцитов, прокультивированных с пролактином или с пролактином и клетками гранулезы из фолликулов диаметром 3-6 мм. Режим культивирования и оплодотворения соответствовал рекомендациям, разработанным ранее [3]. Всего прокультивировано 377 ОКК, оценен статус хроматина 145 ооцитов, процедуре оплодотворения подверглись 232 яйцеклетки. Результаты

экспериментов представлены в таблице. Как в присутствии клеток гранулезы, так и без них доли созревших ооцитов, показатели, характеризующие развитие эмбрионов, в группах, где культивировали ВСВ(+) ооциты были значительно выше, чем в группах, где культивировали ВСВ(-) ооциты ($P < 0,001$). Введение в среду культивирования клеток гранулезы способствовало повышению доли созревших клеток, изначально оцененных как не завершившие фазу роста *in vivo*. Процент дробящихся клеток, развившихся после оплодотворения ооцитов завершивших фазу роста *in vitro* и созревших с клетками гранулезы превышал такой после оплодотворения ооцитов, прокультивированных без клеток гранулезы. В целом введение в систему культивирования пролактина совместно с клетками гранулезы благоприятно сказывалось на показателях, характеризующих компетентность ооцитов коров к созреванию ооцитов, их оплодотворению и развитию доимплантационных эмбрионов. Полученные данные могут быть использованы при моделировании сред для культивирования ооцитов, не завершивших фазу роста *in vivo*.

Таблица. Показатели компетентности к созреванию ооцитов и развитию эмбрионов коров *in vitro*

Группы эксперимента	ВСВ-тест	п ооцитов	% созревших ооцитов	п ооцитов	% дробления	% бластоцист
Контроль 1	-	33	49 ^a	61	33 ^e	9 ^m
Контроль 2	+	41	81 ^b	54	59 ^f	31 ⁿ
Опыт 1	-	32	63 ^c	51	49 ^j	17 ^o
Опыт 2	+	39	83 ^d	66	75 ^k	49 ^p

Среда культивирования: Контроль 1 – ТС-199 + 10% фетальной бычьей сыворотки +50 нг/мл бычьего пролактина; Контроль 2- контроль 1+10⁶ клеток/мл гранулезы; Опыт 1- ТС-199 + 10% фетальной бычьей сыворотки +50 нг/мл бычьего пролактина; Опыт 2 - опыт 1+10⁶ клеток/мл гранулезы. ^{a:b} $P < 0,05$, ^{a:c} $P < 0,05$, ^{a:d} $P < 0,05$, ^{c:d} $P < 0,05$, ^{e:f} $P < 0,01$, ^{e:j} $P < 0,05$, ^{e:k} $P < 0,01$, ^{f:j} $P < 0,05$, ^{f:k} $P < 0,05$, ^{j:k} $P < 0,05$, ^{m:n} $P < 0,01$, ^{m:p} $P < 0,01$, ^{n:o} $P < 0,05$, ^{n:p} $P < 0,05$, ^{o:p} $P < 0,05$, t-критерий Стьюдента.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО РФ (номер госрегистрации – АААА-А18-118021590132-9).

Литература

- [1] Кузьмина Т.И. и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2015. № 2. С. 212-214.
- [2] Heleil B. et al // Journal of Reproduction and Infertility. 2010. V. 1. P. 01-07.
- [3] Кузьмина Т.И. и др. // Биотехнология получения эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro*. Санкт-Петербург-Пушкин. 2009. С. 44.

РЕАЛИЗАЦИЯ ОСНОВ ТОКСИКОЛОГИИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ РАБОТ ПО
ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОБЪЕКТОВ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ
ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

С.М. Кириллова, В.Г. Михайлов, С.Л. Ветошкин, А.Ю. Исаева
Федеральное бюджетное учреждение «Федеральное управление по безопасному
хранению и уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и
торговли Российской Федерации», г. Москва
e-mail: fubhuho@mil.ru

В настоящее время развитие токсикологии как науки принимает перспективный характер. Она активно вторгается в жизнедеятельность человечества и уже завоевала большинство ее сфер, включая и военную.

Определить токсикологию как науку о яде, вероятно, можно. Но для этого следует выполнить необходимое условие: дать четкое определение самого понятия «яд». Что же такое яд? Основываясь на логике здравого смысла, ядом можно обозначить такое вещество, которое, поступив в организм даже в очень малом количестве, вызывает острое отравление или смерть. Именно так в общих чертах определяли яд практически все основоположники научной токсикологии: Жозе Орфила (1814 г.), Е.П. Пеликан (1878 г.), Д.П. Косоротов (1907 г.), Н.В. Лазарев (1938 г.) [1].

Таким образом, при тех или иных условиях любое вещество может стать ядом. Причина этого объективного явления кроется в определенном свойстве токсичности. В связи с этим правильнее определить **токсичность** как свойство химических веществ оказывать «вредное действие» на живой организм. «Вредное» (токсичное) действие описывалось учеными по-разному: «повреждение организма», «серьезный вред организму», «уничтожение здоровья», «нарушения в органах и системах» и пр. Именно токсичность является предметом рассмотрения токсикологии как науки [2].

Ликвидация последствий деятельности объектов по уничтожению химического оружия (УХО) подразумевает выполнение практических работ по обезвреживанию зданий и сооружений промышленной зоны объектов по УХО. Поскольку в процессе проведения таких работ имеется риск возникновения аварийных ситуаций, а также не исключена возможность присутствия в атмосфере производственных помещений низких концентраций отравляющих веществ и продуктов их деструкции, подобные объекты относятся к категории потенциально опасных, а их обслуживающий персонал – к особой группе работников профессий повышенного риска. При проведении таких работ нередко при всем многообразии поражающих воздействий на человека и окружающую среду доминирующим фактором являются токсичные химические вещества (в частности отравляющие вещества).

Для решения этой задачи особое значение, как и при уничтожении химического оружия придавалось методам военной токсикологии. А фундаментом военной токсикологии является

профилактическая токсикология, которая изучает токсичность химических веществ, обеспечивая сохранение жизни, здоровья, профессиональной работоспособности населения в условиях повседневных, как правило профессиональных и (или) бытовых, химических воздействий, осуществляет контроль над соблюдением норм химической безопасности.

При проведении мероприятий по ликвидации последствий деятельности объектов по УХО важно определить возможность загрязнения окружающей среды. Ответ на этот вопрос может дать новое направление в токсикологии – **экологическая токсикология**, которое стремительно развивается в последние десятилетия. Это научное направление на стыке экологии и токсикологии изучает токсические воздействия химических веществ на живые организмы, преимущественно на популяции организмов и биоценозы, входящие в состав экосистем. Экологическая токсикология изучает источник поступления вредных веществ в окружающую среду, их распространение в окружающей среде, действие на живые организмы. Человек, несомненно, является наивысшей ступенью в ряду биологических мишеней [3].

Разработанные и действующие в настоящее время нормативно-методические документы, гигиенические нормативы, отлаженная система медицинского контроля персонала, занятого на работах по ликвидации последствий деятельности объектов по УХО, современный химико-аналитический контроль состояния производственной среды на различных этапах ликвидационных работ являются гарантией безопасности при выполнении этих работ. Уникальный практический опыт высококвалифицированных специалистов Федерального управления позволит выполнить эти сложные и особо опасные работы, сохраняя жизнь и здоровье не только отдельного человека, но и групп людей (например, участников ликвидации последствий деятельности на объектах по УХО), и населения, проживающего в районах размещения этих объектов в целом.

Литература

- [1] Куценко С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание. Спб.: Фолиант, 2004. С. 370-394.
- [2] Куценко С.А. Антидоты. Состояние проблемы, методология и перспективы разработки новых средств // Российский биомедицинский журнал. 2004. Т. 5. С. 96.
- [3] Экспериментальная токсикология / Под ред. Г.А. Сафронова, М.В. Александрова. Учебник. 2-е издание, исправленное. Спб.: Медкнига «Элби-Спб». 2016. 255 с.

АКТУАЛЬНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ АНАЛОГОВ 1-МЕТИЛ-4-ФЕНИЛ-1,2,3,6-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СИНДРОМА

О.И. Ачкасова, А.А. Борунов

Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии», Москва
e-mail: kutkin@gosniokht.ru

Решение задач совершенствования оказания эффективной фармакотерапевтической помощи на основе использования готовых лекарственных форм, а также поиск новых препаратов, проявляющих не только высокую специфическую активность, но и не вызывающих выраженных побочных эффектов, продолжает оставаться актуальной проблемой.

Паркинсонизм – одно из наиболее распространенных заболеваний людей пожилого возраста. Увеличение продолжительности жизни людей в развитых странах приводит к дальнейшему статистическому росту количества пациентов с паркинсонизмом. Начало заболевания чаще всего относится к возрасту 55-60 лет. После 80 лет синдром паркинсонизма диагностируется примерно у каждого 5-ого жителя планеты. Мужчины болеют несколько чаще, чем женщины. Терапия паркинсонизма лишь замедляет прогрессирование болезни и является пожизненной, вызывая различные побочные эффекты. Согласно общепринятой классификации заболевания, выделяют сосудистый паркинсонизм, а также токсические, лекарственные, посттравматические и постэнцефалитические виды заболевания. Наибольшую проблему из них составляют токсические и лекарственные виды заболевания. Токсический паркинсонизм возникает на фоне хронического или острого отравления тяжёлыми металлами, ядовитыми газами или наркотиками. Лекарственный паркинсонизм провоцирует прием медикаментов, чаще нейролептиков и опиоидных анальгетиков. Наиболее часто встречается группа больных лекарственным паркинсонизмом, использующих препараты фенотиазинового ряда, производные раувольфии, метилдофа. По данным кафедры нервных болезней и нейрохирургии Первого Московского государственного медицинского университета за 2015 год прием нейролептиков провоцирует развитие лекарственного паркинсонизма у 10-25% больных.

В настоящее время имеются серьезные научные предпосылки и отдельные экспериментальные и клинические наблюдения, свидетельствующие о развитии паркинсонического синдрома при терапии лекарственными препаратами, в состав которых в качестве примесей входят аналоги 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (далее по тексту МФТП).

В настоящее время токсичность готовых лекарственных форм контролируется определением аномальной (повышенной) токсичности (ОФС.1.2.4.0004.15), летальности или

появлением неожиданных явлений интоксикации, превышающих установленные ранее в системе доклинических исследований допустимые уровни. Аномальная токсичность может возникать за счет появления в составе лекарственного средства продуктов разложения или нежелательных примесей при изменениях технологических параметров, не предусмотренных регламентом производства, нарушениях условий транспортирования или хранения.

Лекарства должны содержать регламентировано низкий процент примесей. Так, согласно отечественным фармакопейным статьям, суммарное содержание всех посторонних примесей в субстанции галоперидола регламентируется на уровне «не более 1%»; в субстанции фентанила - «не более 1%»; в субстанции тиоридазина гидрохлорида - «не более 0,5%».

Однако известно, что N-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин, являясь продуктом гидролитического расщепления эфирных групп меперидина (торговое наименование петидин), оказывает существенное влияние на формирование паркинсонического синдрома и развитие в дальнейшем болезни Паркинсона, который воспроизводит всю осложненную симптоматику заболевания, в том числе тремор, ригидность, медлительность движений, постуральную нестабильность.

Несмотря на рост числа упоминаний о клинических проявлениях синдрома паркинсонизма при применении лекарственных препаратов, в состав которых входят примеси аналогов МФТП, систематических исследований токсикокинетики и их побочного действия в достаточном объеме не проводилось.

В связи с этим, по нашему мнению, является актуальным изучение роли аналогов МФТП, содержащихся в качестве примесей лекарственных средств, и вызывающих развитие паркинсонического синдрома.

В настоящее время нами ведется работа по изучению влияния МФТП на возникновение паркинсонизма у крыс. Используются поведенческие методики, выявляющие развитие двигательных расстройств и стереотипии, а также проводится определение содержания дофамина в крови иммуноферментным методом.

ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НОВОЙ КОМБИНАЦИИ ВЕЩЕСТВ, В СОСТАВ КОТОРОЙ ВХОДЯТ КАНДЕСАРТАН И РЕСВЕРАТРОЛ

А.В. Беляева

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск,

e-mail: Aleksandra447@yandex.ru

Введение. В последние десятилетия сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основными причинами преждевременной смертности населения во всем мире, причем увеличивается частота случаев выявления данной патологии у людей более молодого возраста. В настоящее время перед учеными остро стоит задача разработать новые эффективные методы диагностики, профилактики и лечения данных заболеваний. Актуальным является создание новых эффективных препаратов и их комбинаций для лечения ССЗ.

Кандесартан является антагонистом рецепторов ангиотензина II и применяется в качестве антигипертензивного средства длительного действия, которое улучшает функционирование сердечной мышцы. Однако известно, что данное вещество обладает побочными эффектами со стороны центральной нервной системы, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной систем. Существует информация, что высокие дозы кандесартана замедляют процессы формирования отдельных субпопуляций клеток в костном мозге и в крови.

Ресвератрол – эффективный природный антиоксидант, обладающий кардиопротекторными, противовоспалительными, нейропротекторными, противоопухолевыми и другими положительными свойствами. В Российской Федерации широко исследуют такие фармацевтические композиции с данным веществом, как комбинация ресвератрола с лозартаном (эндотелиопротективное и кардиопротективное действия), комплекс ресвератрола с эналаприлом (остеопротективный эффект), комбинация ресвератрола и симвастатина (гипохолестеринемическое влияние).

Целью данной работы было изучить цитотоксический эффект комбинации кандесартана и ресвератрола (в различных концентрациях и соотношениях) *in vitro*.

Материалы и методы. Для проведения данного эксперимента были взяты клетки жировой ткани человека, которые высевали в специальной ростовой среде (90 % среды DMEM («Sigma-Aldrich», США), 10 % эмбриональной бычьей сыворотки («HyClone», США), 0,1 % антибиотического, противогрибкового раствора Antibiotic-antimycotic solution («Sigma-Aldrich», США). Клетки инкубировали в CO₂-инкубаторе («Heracell 150» («Thermo Scientific», США)) при 37⁰C (5% CO₂). Смена среды осуществлялась каждые 3 – 4 дня. В культуру клеток добавляли кандесартан и *транс*-ресвератрол (далее по тексту – ресвератрол) в различных концентрациях и соотношениях. После формирования монослоя надосадочную жидкость

сливали и в культуральные флаконы вносили 0,25 % раствор трипсин/ЭДТА («Sigma-Aldrich», США), далее к клеткам добавляли эмбриональную бычью сыворотку («HyClone», США) и переносили из лунок в соответствующие центрифужные пробирки для анализа. С помощью метода проточной цитофлуориметрии (использовали проточный цитофлуориметр Cytomics FC 500 «Beckman Coulter», США) изучали цитогенетические показатели и параметры клеточной кинетики (количество апоптотических клеток, число клеток с микроядрами, распределение клеток по фазам клеточного цикла). Статистическую обработку проводили с помощью программ «EXCEL» и «STATISTICA 6.0».

Результаты. В ходе проведения исследования по изучению влияния кандесартана и ресвератрола на содержание клеток с признаками апоптоза и с микроядрами, на распределение клеток по стадиям клеточного цикла в культуре жировой ткани человека были получены следующие результаты. Установлено, что кандесартан в концентрациях 1,5 мкг/мл и 3 мкг/мл значительно увеличивает количество апоптотических клеток и клеток с микроядрами по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$). Выявлено, что использование ресвератрола в концентрациях 1 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 30 мкг/мл и 50 мкг/мл не оказывает влияние на изменение содержания апоптотических клеток, а также не приводит к существенному изменению числа клеток с микроядрами в культуре жировой ткани человека. Установлено, что ресвератрол в концентрациях 10 мкг/мл, 30 мкг/мл и 50 мкг/мл усиливает пролиферацию клеток в эксперименте *in vitro*.

При изучении комбинации двух веществ впервые показано, что ресвератрол в концентрациях 10 мкг/мл, 30 мкг/мл и 50 мкг/мл при использовании вместе с кандесартаном в концентрации 1,5 мкг/мл нивелирует цитотоксическое действие последнего, что проявляется снижением доли клеток с признаками повреждения генетического материала (апоптотических клеток и клеток с микроядрами). Следует отметить, что эффект ресвератрола является концентрационно-зависимым.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что природный антиоксидант ресвератрол обладает цитопротекторными свойствами, которые в комбинации с кандесартаном проявляются уменьшением цитотоксического влияния последнего на культуру клеток.

Заключение. Установлено, что кандесартан приводит к увеличению содержания клеток с признаками повреждения генетического материала в культуре жировой ткани человека. При использовании кандесартана вместе с ресвератролом выявлено снижение цитотоксического воздействия первого на клеточную культуру за счет проявления защитных свойств природного антиоксиданта. Полученные данные могут использоваться при разработке рецептуры нового более безопасного комплексного препарата для лечения ССЗ.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕМОСОРБЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО УДАЛЕНИЯ АНАФИЛАТОКСИНА C5a ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Е.С.Денисенко, Н.П.Горбунов, А.В.Жахов, А.М.Ищенко

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

e-mail: denisenko@hpb-spb.com

Основными патогенетическими факторами при ряде воспалительных заболеваний, включая синдром системного воспалительного ответа, при сепсисе и шоке любой этиологии, в том числе, вызванными токсическими агентами, являются продукты активации комплемента. Бактерии и их производные могут прямо активировать комплемент через взаимодействие с лектин-связывающим белком MBL (лектиновый путь), с C3 компонентом (альтернативный путь), а при появлении антител и образовании иммунных комплексов – с C1q субкомпонентом (классический путь). По какому бы пути не проходила активация комплемента, ее результатом является появление анафилатоксинов C3a, C4a, C5a – продуктов ограниченного протеолиза соответствующих компонентов комплемента. Они взаимодействуют со специфическими рецепторами на базофилах и тучных клетках и, активируя их, опосредуют множество воспалительных реакций. Установлено, что при сепсисе C5a наиболее опасен, поскольку он стимулирует множество функциональных нарушений в различных органах и тканях.

Как следует из вышеизложенного, удаление C5a анафилатоксина комплемента, наряду с удалением ключевых провоспалительных цитокинов, необходимо при терапии сепсиса. Мы полагаем, что наилучшим образом целенаправленная элиминация цитокинов и C5a может быть достигнута путем использования адсорбентов с иммобилизованными специфическими рекомбинантными гуманизированными антителами, ковалентно связанными с матрицей. Разработка такого гемосорбента стала основной задачей исследования.

Для получения специфических анти-C5a антител была использована гибридная технология. Животных иммунизировали очищенным белком C5a, выделенным из активированной плазмы крови человека. После скрининга были отобраны три гибридомы - C5a-2, C5a-7, C5a-11, продуцирующие моноклональные антитела мыши. Препаративное количество каждого из антител было наработано в мышинных асцитах. Антитела из асцитных жидкостей выделяли с использованием сорбента Hiscreen Mabselectextra (GE Healthcare). С целью определения константы диссоциации анти-C5a антител использовали метод поверхностного плазмонного резонанса.

Измерения проводили при температуре 25⁰C с использованием чипов с карбоксиметилированным декстраном (CM5) на приборе «Biacore X100» с двойной проточной ячейкой (GE-Healthcare). Чип активировали эквимольной смесью N-этил-N'-

диметиламинопропилкарбодиимида и N-гидроксисукцинимидом (0,2 М). Затем со скоростью 5 мкл/мин в течение 18 минут инъецировали раствор моноклональных антител С5а (5 мкг/мл) в 10 мМ натрий-ацетатном буфере, рН 5,0. Свободные группы чипа блокировали 1 М этаноламином, рН 8,5. По полученным результатам уровень иммобилизации антител С5а-2 оказался максимальным. Константы диссоциации для моноклональных антител С5а-2, С5а-7, С5а-11 составили соответственно $5,7 \times 10^{-9}$; $2,8 \times 10^{-8}$ и $2,9 \times 10^{-8}$.

С целью выбора антител, оптимальных для использования в качестве лигандов для удаления С5а на гемосорбционной матрице, были синтезированы три гемосорбента путем ковалентной иммобилизации на биосовместимую матрицу. Изучение свойств анти-С5а гемосорбентов проводили с использованием плазмы крови человека.

Для активации системы комплемента крови по альтернативному пути пекарские дрожжи кипятили в водяной бане 15-20 минут, затем отмывали трехкратным центрифугированием. В сыворотку крови, нагретую до 37° С, добавляли $MgCl_2$ до конечной концентрации 10мМ, ингибитор карбоксипептидазы В до конечной концентрации 0,1 нМ и подготовленные дрожжи из расчета 20 г/л. Обработанную таким образом плазму оставляли на шейкере на 1 час при 37 °С. Реакцию останавливали добавлением ЭДТА до 120 мМ и ФМСФ 0,5 мМ. Концентрацию С5а осуществляли с помощью иммуноферментного анализа. Затем доводили концентрацию С5а до 550 нг/мл для дальнейшего исследования.

Для приготовления иммуносорбентов анти-С5а антитела клонов С5а-2, С5а-7, С5а-11 в концентрации 10 мкг/мл сорбента пришивали на CNBr-активированную сефарозу (GE Healthcare) согласно инструкции производителя. Сорбент с анти-С5а антителами в количестве 0,2 мл помещали в колонку 5х10 мм для дальнейшего использования.

В ходе эксперимента 120 мл активированной плазмы с концентрацией С5а 0,55 мкг/мл наносили на колонку со скоростью 0,5 мл/мин, пробы отбирали через каждые 10 мл. После нанесения всей сыворотки колонку зацикливали и оставляли на ночь. Утром отбирали пробу с колонки, сорбированный материал элюировали 0,1 М глициновым буфером, рН-2.5. Во всех пробах измеряли концентрацию С5а, данные заносили в таблицу.

По данным исследования, иммуносорбент с антителами С5а-2 обладает наибольшей эффективностью в удалении белков-мишеней из плазмы крови. Константа диссоциации клон (по данным плазмонного резонанса) минимальна. Это позволяет считать С5а-2 антитела оптимальным лигандом для удаления анафилатоксина С5а из плазмы крови. Данные антитела перспективны для разработки рекомбинантных химерных или гуманизированных антител, пригодных для производства гемосорбентов.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ IN VIVO И IN VITRO АНАЛЬГЕТИКА НА МЕМБРАНУ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ КРЫС

С.А. Камшилин

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии»,
г. Москва,
e-mail: dir@gosniiookht.ru

Клетки крови (в частности, эритроциты) являются высоко чувствительными к любым воздействиям, что широко используется в экспериментальной токсикологии для индикации влияния на организм различных веществ.

Целью исследования являлось сравнение воздействия на эритроциты крови крыс анальгетика при введении его in vivo и in vitro. Для этого использовали тест на осмотическую резистентность мембраны (ОРМ) эритроцитов с использованием линейки гипотонических растворов NaCl (от 0,58% до 0,2%), в которых поврежденные клетки набухают и лизируются.

Материалы и методы. Белым крысам опытных групп анальгетик (производное пиперидина) вводили внутримышечно, 4,0 мг/кг, и через 0,5; 1,5 и 24 ч после введения отбирали пробы крови. Кровь контрольных животных делили на две равные части. Одну половину пробирок оставляли без изменений; во вторые вносили анальгетик в дозе 0,064 мг на 1 мл крови и инкубировали 0,5 ч ($t=36\pm 1$ °C). Далее все пробы крови разводили в 200 раз изотоническими растворами NaCl разной концентрации (от 0,58 до 0,2%), инкубировали 1 час ($t=18\pm 2$ °C), центрифугировали и определяли степень гемолиза эритроцитов при помощи спектрофотометра ($\lambda=440$ нм). Данные измерений оптической плотности (ОП) анализировали методами прикладной статистики.

Таблица 1 - Оптическая плотность супернатанта над эритроцитами крови в тесте ОРМ после внутримышечного введения 4 мг/кг анальгетика по сравнению с контролем

Конц. NaCl, %	Время забора крови после in vivo в/м введения анальгетика			24 ч Контроль
	0,5 ч	1,5 ч	24 ч	
0,9	0	0	н/д	0
0,58	0,189±0,019* ♦	0,618±0,0* ♦♦	0	0,417±0,128
0,54	0,413±0,112* ♦	0,894±0,243* ♦♦	0,293±0,001*♦	0,662±0,148
0,5	0,729±0,061* ●	1,102±0,037♦	0,587±0,046*●♦	1,097±0,102
0,46	0,959±0,062* ●	0,958±0,192*♦	0,690±0,120*●♦	1,190±0,084
0,42	0,962±0,152* ●	1,326±0,003♦	0,793±0,164*●♦	1,233±0,018
0,38	0,908±0,100* ♦	1,107±0,076♦♦	0,912±0,203*♦	1,215±0,051
0,34	0,948±0,028* ♦	1,254±0,081♦♦	0,888±0,207*♦	1,225±0,101
0,3	0,980±0,087* ♦	1,228±0,087♦♦	1,052±0,120♦	1,157±0,082
0,26	0,973±0,030*♦●	1,115±0,064♦	1,064±0,037*●	1,135±0,059
0,22	0,926±0,024*♦	1,435±0,360*♦♦	1,026±0,165♦	1,160±0,057
0	1,030±0,023	1,126±0,317	1,041±0,024	1,190±0,007

Показатель значим $p\leq 0,05$ при сопоставлении: * – с контрольной группой по критерию Даннетта; по критерию Ньюмена-Кейлса: ♦ – «0,5 ч» с «1,5 ч», ● – «0,5 ч» с «24 ч», ♦ – «1,5 ч» с «24 ч».

Результаты и обсуждение. В ходе эксперимента были получены результаты, представленные в таблице 1 и на рисунке 1.

Установлено, что через 0,5 ч после *in vivo* введения животным анальгетика ОРМ красных кровяных клеток достоверно снизилась по сравнению с контролем по всему диапазону шкалы разведений NaCl, через 1,5 ч – снизилась в пробе с 0,46% NaCl и увеличилась в пробах с 0,58%, 0,54% и 0,22% NaCl, через 24 ч – снизилась в диапазоне концентраций NaCl от 0,54 до 0,34% и при 0,26% NaCl (табл. 1). Через 1,5 часа ОРМ эритроцитов была достоверно выше по сравнению с этим показателем через 0,5 ч при концентрации NaCl 0,58%, 0,54%, 0,38-0,22%. Через 24 ч ОРМ эритроцитов была значимо ниже при сопоставлении с данным показателем через 0,5 часа при концентрации NaCl 0,5-0,42% и 0,26%. При сравнении ОРМ эритроцитов через 24 часа и 1,5 часа после введения анальгетика было выявлено снижение показателя при концентрации соли 0,54%-0,22% (табл. 1).

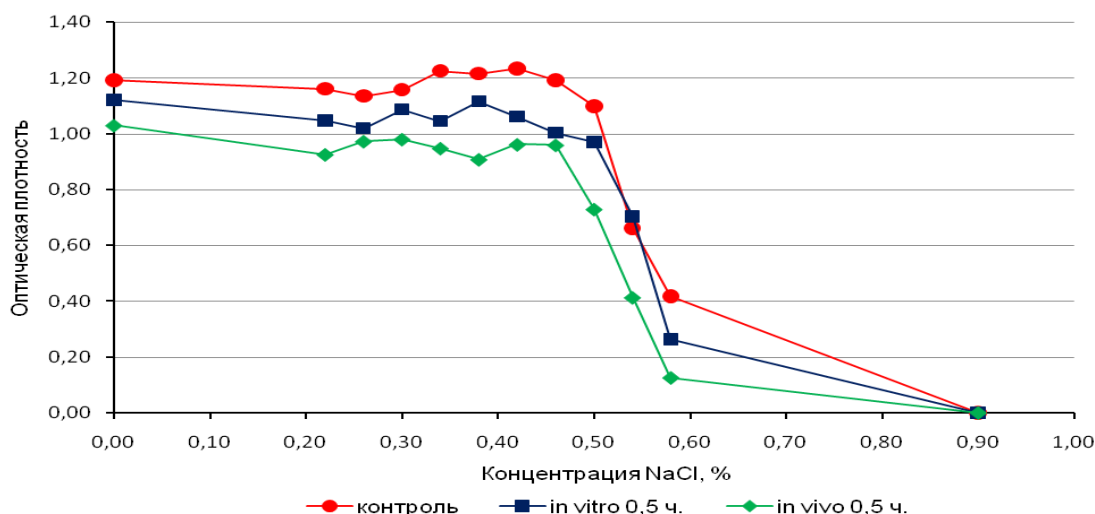


Рисунок 1 - Изменение оптической плотности супернатанта над эритроцитами крови крыс *in vivo* и *in vitro* в тесте ОРМ через 0,5 ч после введения анальгетика по сравнению с контролем

График, описывающий направление изменений (тренд) ОРМ эритроцитов крови крыс *in vivo*, имеет значительные сходства с графиком группы *in vitro* (кроме различий в точках 0,26%; 0,38-0,42% NaCl) (рис. 1).

Проведенное исследование показало, что:

1. Анальгетик изменяет пластические свойства мембраны эритроцитов.
2. Выявлены значительные сходства в графиках ОП после воздействия анальгетика на мембрану эритроцитов в тесте ОРМ *in vitro* и *in vivo*.
3. Тестом *in vitro* ОРМ можно заменить тест *in vivo* для оценки воздействия химических агентов на организм.

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО МЕЛАТОНИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ТИОПЕНТАЛОМ НАТРИЯ

Т.А. Кострова, К.М. Щепеткова, Е.А. Золотоверхая

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России),

Санкт-Петербург

e-mail: tasia.pcma.le4@mail.ru

В настоящее время сохраняется актуальность вопросов, связанных с изучением биохимических механизмов отдаленных поражений ЦНС после острых тяжелых отравлений нейротоксикантами. Тиопентал натрия, являясь депримирующим агентом, позволяет моделировать тяжелые отравления с поражением ЦНС. Одним из звеньев патогенеза нейротоксичности в отдаленном периоде после острых тяжелых интоксикаций является активация свободнорадикального окисления [1]. При этом наличие взаимосвязи между интенсивностью протекания процессов перекисидации липидов и состоянием системы антиоксидантной защиты, ответственной за регуляцию ПОЛ, имеет особенный интерес [2, 3].

В данном исследовании проведено определение показателей системы глутатиона и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов 50 беспородных крыс-самцов массой 190-200 г через 1 месяц после введения токсиканта в дозе LD₅₀, а также при использовании препарата фармакологической коррекции KSE-02, который является производным мелатонина и может оказывать цитопротективное действие за счет антиоксидантных свойств. Препарат KSE-02 вводился в дозе 2 мг/кг, путь введения интраназально. Схема введения 1 раз в сутки в течение 2 недель после интоксикации тиопенталом натрия.

Через 1 месяц после интоксикации у выживших животных были выявлены значимые повреждения липидов по свободнорадикальному механизму, о чем свидетельствует накопление в гемолизате эритроцитов начальных продуктов ПОЛ – ДК. После интоксикации тиопенталом натрия концентрация ДК достоверно возрастала на 31,0%. Концентрация МДА также незначительно повышалась по сравнению с контрольной группой. Такое течение процесса через 1 месяц после острого тяжелого отравления характерно для угнетения системы антиоксидантной защиты. Данное предположение подтверждается снижением как активности ферментативного звена антирадикальной защиты, так и концентрации восстановленного глутатиона, играющего ключевую роль в нейтрализации продуктов свободно-радикального окисления. В группе животных без фармкоррекции отмечалось снижение активности глутатионтрансферазы на 27,5% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Концентрация восстановленного глутатиона в данной экспериментальной группе достоверно снижалась на 18,2% по сравнению с контрольной группой. Активность других ферментов, принимающих

активное участие в инактивации активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов, изменялась незначительно.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в лизате эритроцитов концентрации ДК на 32,0% по сравнению с группой без фармакоррекции. У животных данной группы содержание ВГ по сравнению с группой без фармакоррекции было выше на 12,6% ($p < 0,05$). Активность глутатионтрансферазы возростала и не отличалась от показателей контрольной группы. Активность Г-6-ФДГ достоверно снижалась по сравнению с группой без фармакоррекции на 22,6% и не отличалась от показателей контрольной группы. Активность СОД, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы изменялась незначительно.

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что введение тиопентала натрия в полулетальной дозе сопровождалось выраженными изменениями изученных показателей, свидетельствующее об участии системы антиоксидантной защиты в поддержании гомеостаза и патогенезе последствий тяжелых отравлений нейротропными веществами. Применение синтетического производного мелатонина с целью фармакологической коррекции позволило устранить выявленный дисбаланс за счет активации ферментов АОС и снижения активности свободно-радикального окисления, что свидетельствует о возможности его использования для лечения отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами.

Литература

- [1] Батоцыренова Е.Г. и др. // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки*. 2014. Т. 16. №5-4. С. 1376-1379.
- [2] Кашуро В.А. // *Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук*. Спб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова. 2003.
- [3] Кашуро В.А. и др. // *Нефрология*. 2006. Т. 10. №4. С. 82-86.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ИЗУЧЕНИЯ ОСТРОЙ
ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Л.В. Лянгинен, Д.С. Лисицкий, А.С. Мелехова, А.В. Бельская, М.В. Михайлова,
А.А. Бондаренко

Федеральное государственное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального
медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург

e-mail: pikalova_lidiya@mail.ru

В соответствии с Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» № 61-ФЗ от 12.04.2010 г. доклиническая оценка безопасности, в частности острой токсичности, лекарственного средства, независимо от его предназначения, является одним из этапов процедуры допуска в обращение новых лекарственных средств [1].

Объем исследований при изучении острой токсичности на сегодняшний день в Российской Федерации определяется «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [2] и ГОСТ 32296-2013 от 01.08.14 г. «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» [3]. ГОСТ 32296-2013 является идентичным международному документу OECD Test № 420 «Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure» (ОЭСР Тест № 420 «Острая токсичность при внутрижелудочном поступлении – Метод фиксированной дозы») [4].

В соответствии с «Руководством...» [2] при изучении острой токсичности количество групп должно быть сформировано таким образом, чтобы полученные результаты адекватно обеспечивали возможность вычисления ЛД₅₀. Если известно, что фармакологическое вещество обладает низкой токсичностью, максимальная доза, введенная животным должна быть не менее 2000 мг/кг. В отличие от «Руководства...», по методу ОЭСР № 420, при введении животным используют уже определенные серии фиксированных доз: 5, 50, 300 и 2000 мг/кг. В особых случаях можно использовать дополнительную фиксированную дозу 5000 мг/кг. Использование фиксированных доз позволяет избежать гибель животных как конечной точки эксперимента и основывается на наблюдении явных признаков токсичности в одной из серий введенных фиксированных доз [4]. При этом если известно, что исследуемое вещество обладает низкой токсичностью, возможно проведение испытания предельной дозы. В этом случае начальное изучение препарата проводят в дозе 2000 мг/кг (в особых случаях 5000 мг/кг) вещества в предварительном испытании с последующим тестированием других животных.

Проведение предварительного испытания также является отличительной характеристикой от методов, предложенных в «Руководстве...» [2-4]. Изучаемый препарат последовательно вводится одному животному, начиная с максимальной дозы.

Предварительное исследование завершается, когда может быть принято решение относительно начальной дозы для основного испытания (или если при минимальной установленной дозе отмечается летальный исход) [3, 4]. «Руководство...» [2] предлагает изучать острую токсичность на нескольких видах животных (например, грызуны и не грызуны), в то время как Метод ОЭСР № 420 предлагает в качестве тест-системы использовать только крыс, а использование особей мужского пола должно быть научно обосновано [3, 4].

Результаты, полученные при изучении острой токсичности с использованием вышеуказанных отечественного и международного подходов, позволяют установить класс токсичности и опасности испытуемого вещества, однако при использовании метода ОЭСР это можно сделать в более короткие сроки и на меньшем количестве животных, что согласуется с биоэтическими принципами. Данный подход успешно апробирован более чем на 130 исследованиях на базе Испытательного центра доклинических исследований ФГБУН ИТ ФМБА России.

Литература

- [1] ФЗ РФ № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 г.
- [2] Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Изд-во Гриф и К, 2012. – 944 с.
- [3] ГОСТ 32296-2013 от 01.08.14 г. «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы».
- [4] OECD Test № 420 «Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure».

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НОВОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Г.В.Александров, М.Е.Михеева, М.С.Захаров, А.С.Кирьянова, А.Б.Румянцева, О.Э.Хуттунен, А.Э.Полянская

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург
e-mail: zakharov@hpb-spb.com

Ротавирусная инфекция является одной из самых распространенных причин развития острого воспаления желудочно-кишечного тракта у детей. Практически у каждого ребенка до 5 лет в течение жизни фиксировали симптомы данной инфекции, а количество смертельных исходов по всему миру достигает 600 тысяч в год. На данный момент разработан и активно применяется ряд вакцин, основанных на живых аттенуированных штаммах ротавируса, а вакцинация способна значительно снизить как вероятность заражения, так и тяжесть течения заболевания. Риски введения даже ослабленных вирусных частиц, а также стремление

максимально стандартизовать процесс получения и состав вакцины заставляют искать новые подходы к вакцинации против ротавирусной инфекции.

Коллективом ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России была разработана рекомбинантная вакцина против ротавируса, основой которой является химерный белок FliCVP6VP8, состоящий из иммуногенных эпитопов поверхностных белков ротавируса VP6, VP8, а также фрагмента флагеллина *Salmonella typhimurium*, выполняющего роль адъюванта. В ряде экспериментов *in vivo* и *in vitro* была показана высокая иммуногенность и протективная активность новой вакцины, однако для проведения клинических испытаний необходимо было провести всестороннее изучение ее возможных токсических эффектов.

Изучение острой и хронической токсичности вакцины проводили в экспериментах на половозрелых мышах, крысах и кроликах. Помимо этого, поскольку препарат планируется для применения в педиатрии, острую и хроническую токсичность изучали на неполовозрелых крысятах-сосунках.

Иммунологическая безопасность вакцины была изучена в тестах общей анафилаксии, активной кожной анафилаксии и гиперчувствительности замедленного типа, которые позволяют сделать выводы о возможной алергизирующей активности препарата. Кроме того, было изучено развитие гуморального и клеточного иммунного ответа, а также состояние фагоцитарной функции у животных, иммунизированных новой вакциной, что позволило оценить иммунотоксичность изучаемого препарата.

Несмотря на то, что препарат планируется для применения в педиатрии, здоровыми добровольцами при проведении начальных стадий клинических испытаний могут выступать только совершеннолетние лица, поэтому для обеспечения их максимальной безопасности было проведено изучение возможной репродуктивной токсичности вакцины.

В результате проведенных экспериментов показано, что использованные дозы вакцины, в сотни раз превосходящие предполагаемую терапевтическую дозу препарата, не оказывали какого-либо выраженного токсического эффекта при остром и субхроническом введении. Побочным эффектом многократного внутримышечного введения были умеренные нагноения в области введения препарата. Учитывая, что в клинической практике планируется вводить препарат не более чем двукратно с интервалом 2 недели, данный факт является малозначимым.

При анализе иммунологической безопасности выявлено развитие анафилактической реакции у иммунизированных морских свинок, характерной для целого ряда рекомбинантных белков и являющейся предостережением, но не противопоказанием к проведению клинических исследований. Изучение развития иммунного ответа против корпускулярного антигена у вакцинированных животных выявило иммуномодулирующую активность вакцины, выражающуюся в торможении клеточного и активации гуморального ответа. Данный эффект

носил кратковременный характер, с использованием отставленных групп было показано полное восстановление интенсивности клеточного иммунного ответа спустя 10 дней после введения вакцины. Фагоцитарная функция у иммунизированных животных не менялась.

Анализ генеративной функции взрослых животных, а также пренатального и постнатального развития потомства животных, получавших изучаемый препарат, не выявил какой-либо выраженной репродуктивной токсичности вакцины.

На основании проведенных исследований можно заключить, что разработанная во ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России новая вакцина против ротавирусной инфекции является относительно безопасной и может быть рекомендована для дальнейшего изучения и возможного внедрения в клиническую практику.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ЖИВОТНЫЕ МОДЕЛИ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В.Е. Соболев

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства,
Санкт-Петербург
e-mail: vesob@mail.ru

Млекопитающие лабораторные животные, используемые в качестве модели продолжают оставаться основой для проведения доклинических испытаний лекарственных средств и в токсикологических экспериментах на протяжении последних десятилетий. Тем не менее, известны недостатки подобного использования этих животных: высокая стоимость, трудоемкость содержания и эксплуатации, а также вопросы, связанные с биоэтикой и гуманным обращением при проведении экспериментальных исследований с использованием этих моделей. Необходимость изменений в глобальном научном сценарии и введение трех принципов Rs (сокращение, замена и уточнение) поощрили разработку альтернативных методов замены использования млекопитающих животных. Несмотря на усилия международного научного сообщества, подходящая альтернатива и тесты доступны не во всех областях биомедицинских исследований, поскольку нормативное принятие требует времени, предварительной проверки и оценки надежности финансовых и научных инвестиций.

В этой связи целью настоящего доклада является представление основных концепций, проблем и перспектив, для внедрения инновационных альтернативных животных и методов в научных исследованиях. Применимость и значимость моделей беспозвоночных животных, исследования *in silico* и обратная фармакология актуальны в сегодняшнем научном сценарии. В целом, использование альтернативных моделей животных, в том числе *Artemia salina* (креветки), *Caenorhabditis elegans* (круглый червь), *Danio rerio* (zebra fish), *Drosophila*

melanogaster (плодовая муха), *Galleria mellonella* (большая восковая моль) и моделирование *in silico*, увеличилось на 909% с 1990 по 2015 год, по сравнению с 154% обычных млекопитающих в одном и том же периоде. Таким образом, технологические и научные достижения в области токсикологии и разработке лекарственных препаратов, уменьшили потребность в моделях млекопитающих.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДОМА В ООЦИТАХ
SUS SCROFA DOMESTICUS

Д.А. Новичкова, Т.И. Кузьмина

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения
сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени
академика Л. К. Эрнста», Санкт-Петербург
e-mail: live8avis@mail.ru, prof.kouzmina@mail.ru

Внедрение в практику животноводства и биомедицину инновационных разработок и достижений клеточных репродуктивных технологий позволит значительно интенсифицировать решения задач промышленного свиноводства, активизировать исследования в области ксенотрансплантации органов свиней. Технология экстракорпорального созревания ооцитов свиней, несмотря на имеющиеся сведения о получении большого количества потомков от оплодотворенных *in vitro* гамет, требует совершенствования и дальнейших разработок. Использование в средах для культивирования наноматериалов представляет несомненный интерес с точки зрения их модернизации. Важным вопросом возможности использования наночастиц в технологии экстракорпорального созревания гамет является их безопасность. Оценка токсического влияния продуктов нанотехнологии (нанообъектов, наночастиц, нанокомпозитов) на состояние живых организмов, а также тканей и клеток, в особенности гамет, нуждается в разработках тест-систем. В качестве моделей для изучения воздействия наноразмерных веществ можно предложить репродуктивные клетки свиней (*Sus scrofa domestica*), содержащие высокий уровень интрацеллюлярных компартментов - липидных капель (ЛК). В связи с важной ролью в завершении созревания донорского ооцита липидома ооцита, его функционирование в условиях применения наноматериалов может явиться одним из маркеров цитотоксичности используемых веществ. Цель настоящего исследования – охарактеризовать воздействия наночастиц высокодисперсного кремнезема (нВДК) на показатели функционального состояния липидома созревших *in vitro* ооцитов свиней.

Из полученных овариоэктомией постмортальных яичников аспирировали ооциты с гомогенной ооплазмой, окруженные не менее чем 5 слоями клеток кумулюса. После культивирования в среде Sage Media Cleavage с добавлением 5% Serum Protein Substitute,

10М.Е. хорионического гонадотропина человека (контроль) и 0,001% наночастиц ВДК (опыт) в течение 44 часов при 37,5°C, 5% CO₂, ооциты денудировали и окрашивали флюоресцентным красителем (1mM) Nile red. Затем, популяцию гамет разделяли на две группы по морфологии [1] «гранулы» - ооциты с мелкими ЛК, в виде гранул; 2) «смешанные» - ооциты с мелкими и крупными ЛК] и локализации ЛК в ооплазме («хаотичная», «диффузная» и «периферийно-перинуклеарная» в соответствии с градацией, предложенной Ariu и др., [1]). Ранее выявлены высокие потенции к мейотическому созреванию ооцитов, содержащих ЛК с гранулированной формой и периферийно-перинуклеарной или диффузной интрацитоплазматической локализацией [2, 1]. Статистический анализ проводили с использованием критерия Фишера (программный пакет Statistica).

В результате мониторинга показателей функциональной активности липидома отмечено различие в характере соотношения показателей «гранулы: смешанные» как в опытной, так и в контрольной группах ооцитов с «диффузной» и «хаотичной» локализацией ЛК. После культивирования с нВДК сохраняется тенденция к достоверному превышению доли ооцитов с гранулярными ЛК над долей гамет со смешанными ЛК «диффузной» локализации.

Таблица 1 - Влияние нВДК на интрацитоплазматическую локализацию липидных капель разной морфологии в ооцитах свиней, визуализированных Nile red (время культивирования – 44 часа, n ооцитов - 234)

Среда культивирования	Морфология липидных капель в ооцитах	Локализация ЛК, n (%)			Всего клеток
		Периферически-перинуклеарная	Диффузная	Хаотичная	
Контроль	гранулы	8 (11)	52(73) ^a	11(16) ^e	71
	смешанные	5(11)	26(57) ^b	15(32) ^f	46
Опыт	гранулы	5(8)	40(68) ^c	14(24) ^g	59
	смешанные	7(12)	29(50) ^d	22(38) ^h	58

Контроль: Sage Media Cleavage + Serum Protein Substitute + хорионический гонадотропин человека; опыт: контроль + 0,001% ВДК. ^{a,b, c,d,e,f, g,h} P<0,05 (критерий Фишера)

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что при введении в среду 0,001% наночастиц ВДК в ооцитах не происходит негативных изменений, приводящих к нарушениям в функционировании липидома донорских ооцитов свиней, что является одним из свидетельств о возможности использования нВДК при моделировании систем дозревания женских гамет.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО РФ (номер госрегистрации – АААА-А18-118021590132-9).

Литература

- [1] Ariu F. et al. // Animal Science Journal. 2016. V. 87. P. 147–150.
- [2] Gao Q. et al. // Front Cell Dev Biol. 2015. V.3. P.49.

КРИТЕРИИ ОТБОРА НАСЕЛЕНИЯ г. БАЙКОНУР ДЛЯ УГЛУБЛЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

И.Б. Сиваченко, В.Л. Филиппов, Ю.А. Середкин

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: gpech@fmbamail.ru, avans_d@mail.ru

Обеспечение безопасности ракетно-космической деятельности Российской Федерации требует объективной оценки состояния здоровья людей, проживающих в районах, подверженных возможному риску воздействия токсичных компонентов ракетных топлив.

В 2016 г. было выполнено скрининг-исследование состояния здоровья взрослых и детей с целью объективной оценки и анализа роли аварийного пуска ракеты космического назначения «Протон-М» с космодрома «Байконур» 2 июля 2013 года на состояние здоровья населения, проживающего на территории, прилегающей к данному району [3].

Для проведения последующего углубленного обследования и подробного анализа состояния здоровья жителей г. Байконур, проживающих на территории, прилегающей к району падения РН, необходима разработка критериев отбора населения.

Разработка основных критериев, как и обоснование принципов организации и оценки медико-экологической ситуации и состояния здоровья, подходов к решению задач и методологии реализации концептуальных положений, является важным этапом для получения репрезентативных данных, необходимых для выяснения приоритетных факторов в формировании и сохранении здоровья людей [1, 2].

Цель настоящей работы – определение критериев отбора населения г. Байконур для последующего проведения углубленного медицинского обследования.

Исследование выполнялось на основе оценки показателей здоровья по результатам скрининга жителей г. Байконур, прилегающего к району аварии РН «Протон-М», проведенного в 2016 г. сотрудниками «Научно-исследовательского института гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России

В результате работы были выделены критерии, характеризующие:

- возможное непосредственное влияние компонентов ракетных топлив РН «Протон-М» на психическое и соматическое состояние здоровье населения г. Байконур;
- возможное влияние аварии РН «Протон-М» в 2013 г. на психологическое состояние здоровье населения г. Байконур;
- возможное опосредованное высоким уровнем эмоционального напряжения влияние аварии РН «Протон-М» в 2013 г. на соматическое состояние здоровье населения г. Байконур.

На основании рассмотренных критериев, а так же по конкретным результатам скрининг-исследования, было предложено выделить группы из 200 взрослых и 50 детей, рекомендованные к прохождению углублённого медицинского обследования.

Литература

- [1] Бобровницкий М.П., Филиппов В.Л., Криницын Н.В., Филиппова Ю.В. Системный подход к проблеме обеспечения комплексной медико–экологической безопасности населения // Экологические проблемы деятельности комплекса «БАЙКОНУР» и пути их решения. Материалы научной конференции. Вестник Карагандинского Университета. Специальный выпуск 21/2001. №1 С. 229–231.
- [2] Киселев М.Ф., Филиппов В.Л., Нагорный С.В., Криницын Н.В., Филиппова Ю.В. Методология и методические подходы к установлению воздействия химических факторов на соматическое и психическое здоровье населения // Российская научная конференция «Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности». СПб ВМА. 2001. С. 122–126.
- [3] Сиваченко И.Б., Филиппов В.Л., и др. Скрининг состояния здоровья жителей г.Байконур, прилегающего к району аварийного пуска РН «Протон-М» в 2013 году // Сборник. III Всероссийская науч.-практ. конференция «Актуальные вопросы профилактики, ранней диагностики и лечения психосоматических расстройств у работников промышленных предприятий, и населения» 5-6 октября 2017 г., г. Санкт-Петербург – Изд-во Альта Астра, 2017.С. 43

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ РИБОСОМ-ИНАКТИВИРУЮЩИХ БЕЛКОВ НА КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ IN VITRO

Е.О. Синегубова, И.А. Дубровина, В.А. Мясников

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»

Министерства Обороны Российской Федерации,

Санкт-Петербург

e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Современные технологии в молекулярной и клеточной биологии предоставляют возможность расширения знаний в различных отраслях науки. Сегодня, основное внимание токсикологии перемещается с целых живых организмов на клетки и молекулы животных и человека. Начиная с 80-х годов, усилия ученых, направлены на максимальное сокращение количества животных и разработку альтернативных моделей и тест-систем в условиях *in vitro*, которые призваны заменить классические методы изучения токсичности *in vivo*.

Особое место в современных исследованиях уделяется созданию фармакологических препаратов, с высокой специфичностью действия на клетки или молекулы-мишени в

организме. Любое химическое соединение должно быть изучено с позиции его токсичности и биологической активности, в особенности это касается предполагаемых лекарственных субстанций. Активно изучаются с этой точки зрения растительные токсины, которые инактивируют рибосомы, тем самым полностью останавливая синтез белка в клетке. Среди этих веществ наиболее распространены рибосом-инактивирующие белки.

На сегодняшний день тесты, используемые для оценки токсического воздействия *in vitro* можно разделить на две группы. Первая группа предполагает использование различных химических реагентов (меток) взаимодействующих с определенными структурами внутри или снаружи клеток и позволяющих определить степень повреждения и точку воздействия токсического вещества. Вторая группа тестов не использует метки и оценка состояния клеток после воздействия токсических веществ происходит путем визуализации и прямой детекции основных показателей их жизнеспособности. К этой группе относят метод голографической микроскопии, позволяющий визуализировать клеточный монослой и произвести оценку морфологических изменений клеток при помощи программного обеспечения.

Несмотря на сложности в интерпретации данных, методы тестирования цитотоксичности *in vitro* приносят большую пользу благодаря своей простоте и дешевизне, и могут быть использованы как скрининг-методы для определения высокотоксичных веществ на ранней стадии изучения. Подбор основных тестов для изучения цитотоксичности является важным этапом планирования токсикологических экспериментов. Необходим комплексный подход, состоящий в использовании целого ряда тестов, как с использованием химических реагентов, так и без них.

В нашей работе была проведена оценка двух методов детекции повреждающего воздействия рибосом-инактивирующих белков с использованием клеточных линий А-549 и НЕК293. Степень повреждения клеточного монослоя оценивали по снижению суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в МТТ-тесте, который отражает ингибирование интенсивности клеточного дыхания. Морфологические характеристики клеток под воздействием токсических веществ оценивали с помощью голографической микроскопии (Holomonitor M4). При изучении изменений в морфологии клеток с использованием голографической микроскопии несомненным преимуществом является возможность прижизненной визуализации изменений, происходящих под воздействием токсических веществ.

Гибель клеток является общей конечной точкой для токсикологических исследований. Однако измерения морфологии клеток с использованием HoloMonitor делают эффекты препарата видимыми даже до клеточной смерти. Нами показано, что обработка рибосом-инактивирующим белком вызывает гибель клеток в течение 24 часов после начала

воздействия. При помощи метода прижизненной визуализации мы смогли проследить за морфологическими изменениями клеточного монослоя. В заключении необходимо отметить, что для постановки подобных экспериментов целесообразен комплексный подход, который состоит из «батареи» тестов, включающей несколько индикаторов жизнеспособности, наборов культур и различных сроков воздействия токсических веществ.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОКОМПОЗИТОВ МЕТАЛЛОВ

Л.М. Соседова, Е.А. Титов, М.А. Новиков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск.

e-mail: G57097@yandex.ru

Введение. В последнее время довольно актуальными являются разнообразные антисептические нанокompозитные субстанции, у которых эффективные антимикробные свойства могут задаваться как наночастицами серебра, так и специфическими бактериотропными полимерами, входящими в состав нанокompозитов, такими как β -полисахарид арабиногалактана, (Ag-AG). Нанокompозит висмута (Bi-AG) является перспективным, потенциально биосовместимым, рентген позитивным контрастом, а также антимикробным и противоязвенным средством. При МРТ с целью контрастирования используют препараты, содержащие редкоземельный металл гадолиний, атомы которого обладают особыми магнитными свойствами. Данные о содержании Gd в человеческом организме и его биологической роли отсутствуют. При этом отсутствуют сведения о токсических свойствах нанокompозита арабиногалактана и гадолиния в наноформе (Gd-AG).

Уникальные особенности наночастиц, такие как высокая поверхностная активность, стабильность биомолекулярного поглощения, изменения физико-химических свойств под влиянием физических полей, их небольшие размеры, сопоставимые с биомолекулами, выраженность магнитных свойств и биосовместимость, с одной стороны, открывают широкие возможности для их применения, а с другой – являются возможными причинами для неблагоприятных последствий. Эффективное применение данных нанокompозитов невозможно без предварительной оценки их безопасности при экспериментальном биомоделировании. Целью исследований явилось выявление морфологических изменений в ткани головного мозга белых крыс при введении нанокompозитов, содержащих наночастицы висмута, гадолиния, серебра.

Материалы и методы. В качестве исследуемых субстанций были выбраны нанобиокompозиты, содержащие наносеребро, наноселен и наногадолиний, инкапсулированные в стабилизирующую матрицу - природный полимер АГ, который обладает гастропротекторными, иммуномодулирующими, мембранотропными и

антиоксидантными свойствами. Синтезированные нанобиокомпозиты, по результатам исследований физико-химических параметров, содержат наночастицы серебра, висмута, гадолиния в нульвалентном состоянии, сферической формы с преобладающим размером 8-12 нм. Содержание металлов в образце составляет от 3,1 до 3,8%. Животные массой 200 – 240 грамм были поделены на 6 групп по 20 особей в каждой. Опытным животным внутрижелудочно вводились нанокомпозиты в дозе 500 мг на кг веса животного, контрольные группы в том же режиме получали воду. После окончания эксперимента животные декапитировались. Головной мозг фиксировался в 10% нейтральном формалине, затем обезжизнялся в спиртах и заливался в парафин. Затем изготовлялись срезы толщиной 3 - 5 мкм. Срезы окрашивались на гематоксилин-эозин по общепринятой методике.

Результаты. Гистологический анализ ткани головного мозга белых крыс при воздействии нанокомпозита гадолиния показал выраженное снижение общего числа нормальных нейронов на единицу площади в опытной группе, по сравнению с контролем. При этом число клеток астроглии не изменилось. Число актов нейронофагии – процесса утилизации погибших нейронов из ткани головного мозга, также было повышено, в свою очередь число дегенеративно измененных нейронов (дегенеративно измененными считались темно окрашенные нейроны, без четко делимого ядра и цитоплазмы) не имело отличий, по сравнению с контрольной группой. В ткани головного мозга белых крыс при воздействии нанокомпозита серебра также отмечается снижение общего числа нормальных нейронов на единицу площади, увеличение числа актов нейронофагии и числа дегенеративно измененных нейронов. Однако в отличие от группы наногадолиния при воздействии нанокомпозитов серебра число клеток астроглии также было снижено по сравнению с контрольной группой. При воздействии нанокомпозита висмута в ткани головного мозга не отмечается статистически значимых отличий от контрольных показателей.

Таким образом, проведенный гистологический анализ показал, что воздействие нанокомпозита металлов на ткань головного мозга белых крыс характеризуется снижением общего числа нормальных нейронов на единицу площади, увеличением числа актов нейронофагии и числа дегенеративно измененных нейронов. При этом характер повреждения ткани имеет свои особенности которые зависят от вида металла входящего в нанокомпозит.

МОДЕЛЬ ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЁГКИХ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ПРОДУКТАМИ ПИРОЛИЗА ХЛОРСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕРОВ

П.Г. Толкач

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова

г. Санкт-Петербург

Чрезвычайные ситуации, сопровождающиеся пожарами, широко распространены как в Российской Федерации, так и во всём мире. Основным поражающим фактором на пожаре является воздействие токсичных продуктов горения. Спектр образующихся токсичных веществ зависит от состава материала, подвергшегося горению, температуры в очаге пожара и содержания кислорода. На сегодняшний день повсеместно используются хлорсодержащие полимерные материалы (ПВХ-изоляция, ПВХ-панели, хлорированные парафины и др.). Основным продуктом термического разложения данных материалов является хлороводород (HCl), воздействие которого на пострадавших приводит к развитию острого респираторного дистресс-синдрома, который может проявляться в виде клинической картины токсического отёка лёгких (ТОЛ). На сегодняшний день эффективных методов предупреждения и лечения ТОЛ, вызванного интоксикацией продуктами пиролиза полимерных материалов не разработано. Таким образом, для поиска эффективных средств патогенетической терапии данного патологического состояния необходимо создание экспериментальной модели токсического отёка лёгких.

Цель исследования заключалась в создании модели токсического отёка лёгких у лабораторных животных при ингаляции продуктов пиролиза хлорсодержащих полимеров.

В качестве исходного материала для пиролиза использовали парафин хлорированный марки Carbochlor 70 (ХП-70), с массовым содержанием хлора – 71,3%. Термическое разложение ХП-70 осуществляли в камере для пиролиза при температуре 120÷350°C. Образовавшиеся продукты пиролиза ХП-70 посредством естественной конвекции поступали в ингаляционную камеру, объёмом 0,1 м³, в которую помещали лабораторных животных. Содержание HCl в ингаляционной камере определяли при помощи газоанализатора Porta Sens II (США). Время воздействия с момента начала пиролиза ХП-70 составляло 30 мин. После окончания интоксикации крыс извлекали из ингаляционной камеры и они дышали атмосферным воздухом. Наблюдение за животными осуществляли в течение 3 сут. Легочной коэффициент определяли у выведенных из эксперимента животных через 9, 24 ч, 2 и 3 сут после воздействия продуктов пиролиза. На 3 сут после интоксикации у выведенных из эксперимента животных извлекали лёгкие для дальнейшего гистологического исследования. Препараты готовили по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование микропрепаратов проводили при помощи светооптического микроскопа МИКМЕД-6 («Аналит-Нева», Россия) при увеличении x 200.

Интенсивное термическое разложение ХП–70 начиналось при увеличении температуры в камере для пиролиза свыше 120°C и сопровождалось поступлением белого дыма в ингаляционную камеру, концентрация HCl в камере составляла 7325 [5850;8460] ppm. После окончания пиролиза, во время интоксикации у животных отмечали снижение двигательной активности, обильное истечение жидкости из полости носа и рта, отёк век, блефароспазм, дыхание было редкое (ЧД = 31 [28;33] / мин), поверхностное, неравномерное.

Количественно отёк измеряли по величине внесосудистой воды лёгких, содержание которой косвенно оценивали по величине легочного коэффициента. В нашем исследовании значимое ($p < 0,05$) увеличение лёгочного коэффициента у животных по сравнению с контрольной группой регистрировали уже через 24 часа после интоксикации, достигало максимума на 2 сут эксперимента.

На гистологических препаратах лёгких крыс, подвергшихся воздействию продуктов пиролиза ХП–70, отмечали утолщение межальвеолярных перегородок, полнокровие капилляров, полости альвеол были заполнены гомогенным эозинофильным транссудатом, содержащим альвеолярные макрофаги, эритроциты, десквамированный эпителий. Данная картина характерна для токсического отёка лёгких с преобладанием интерстициального компонента.

Таким образом, в результате проведённого исследования была создана экспериментальная модель токсического отёка лёгких у лабораторных животных при интоксикации продуктами пиролиза ХП–70, которая может быть использована для поиска средств патогенетической терапии данного патологического состояния.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ, СПОСОБСТВУЮЩИХ ВОССТАНОВЛЕНИЮ ОРГАНИЗМА ПРИ ДИСБИОЗЕ, ХИМИЧЕСКОМ И РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

В.А.Торопов, О.Н.Шалаева, Е.К.Рощина, С.И.Ситкин, Т.Я.Вахитов

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

e-mail: vakhitov@hpb-spb.com

Пробиотики — это живые микроорганизмы, способные оказывать при внесении в адекватных количествах в среду микробиологических биотопов человека благоприятное действие на нормофлору и организм в целом. Пробиотики снижают колонизационную способность патогенных микроорганизмов в среде желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), усиливают функции кишечного барьера, снижают воспалительные процессы в ЖКТ, стимулируют иммунную систему и метаболизм.

Пробиотики способствуют реабилитации организма человека после радиационного и химического поражения благодаря восстановлению слизистой оболочки и биоплёнок его основных микробиологических биотопов — ЖКТ, вагинального, мочевыводящего и носоглоточного путей. При воздействии пробиотиков на организм человека наблюдается нормализация процесса пищеварения, снижение уровня интоксикации условно-патогенной микрофлорой, восстановление нормальной работы иммунной системы и уменьшение вероятности развития очагов воспаления [1].

Изучение свойств пробиотиков на генетическом уровне будет способствовать более глубокому пониманию механизмов их действия и формирования у них требуемых пробиотических качеств.

Целью работы было, на примере *L. helveticus* D75 и D76, проанализировать общий пробиотический потенциал бактерий и выявить на генетическом уровне механизмы их пробиотического действия.

Пробиотические молочнокислые бактерии *L. helveticus* D75 и D76 входят в состав БАД «Витафлор®» и применяются для лечения гастритов, дуоденитов, запоров, диареи, диспепсии, язвенных колитов в сочетании с кандидозом кишечника (препарат в капсулированной форме), гинекологических воспалительных и ряда других заболеваний.

В ходе исследований для *L. helveticus* D75 и D76 обнаружены пробиотические гены, отвечающие за синтез экзополисахаридов, адгезию, расщепление казеина и лактозы и синтез бактериоцинов. Выявленные гены способствуют формированию у *L. helveticus* D75 и D76 специфического бактериального антагонизма, стимулированию иммунитета и нормализации метаболизма человека. Указанные свойства *L. helveticus* D75 и D76 позволяют применять их при лечении дисбиотических состояний организма человека, а также при реабилитации после химического и радиационного поражения.

В геномах *L. helveticus* D75 и D76 обнаружены гены, вовлечённые в синтез бактериоцина гелветицин J. Гелветицин J является биологически активным веществом пептидной природы. Наличие в составе пробиотических бактерий активных генетических механизмов синтеза бактериоцинов позволяет им эффективно подавлять рост устойчивых к антибиотикам патогенных и условно патогенных бактерий.

Установлено, что при включении в состав ростовой среды *L. helveticus* D75 и D76 модельной смеси бактериальных метаболитов *E. coli* в концентрации 0,12 мг/мл и 0,5 мг/мл происходит усиление экспрессии генов, отвечающих за синтез гелветицина J, в среднем, в 2 и 2,5 раза соответственно.

Таким образом, в составе геномов *L. helveticus* D75 и D76 выявлены пробиотические гены, формирующие у исследуемых бактерий специфический бактериальный антагонизм,

иммуномодулирующую активность и нормализующие метаболизм. Обладая указанными свойствами *L. helveticus* D75 и D76 также могут способствовать восстановлению организма человека при химическом и радиационном поражении. Помимо этого, в составе геномов исследуемых бактерий выявлен действующий кластер генов синтеза бактериоцина гелветицин J. Экспрессия генов данного генетического кластера имеет индуцибельный характер, проявляющийся при наличии в ростовой среде *L. helveticus* D75 и D76 бактериальных метаболитов других штаммов бактерий.

Литература

- [1] Hamad A., Fragkos K., Forbes A. A systematic review and meta-analysis of probiotics for the management of radiation induced bowel disease // Clin Nutr. 2013. V. 32(3) P. 353-60.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ ХРАНЕНИЯ И УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ В ПЕРИОД ЛИКВИДАЦИОННЫХ РАБОТ

В.Б. Филимонов, Л.В. Янно, В.Н. Бакина

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: biochemist51@gmail.com

Введение. Фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ), такие как VX, зоман и зарин, являются одними из самых грозных с точки зрения их токсичности и летальных эффектов среди химических боевых веществ, которые производились, складировались и поступали на вооружение. В настоящее время их разработка, производство, накопление и использование запрещены в соответствии с Конвенцией о химическом оружии. Контакт с ФОВ приводит к ряду психоневрологических последствий. На ранних стадиях свою роль играет антихолинэстеразный эффект. Наблюдается гиперактивация холинергического тонуса путем накопления ацетилхолина в синапсах и нервно-мышечных соединениях, что приводит к постоянному увеличению холинергической стимуляции [1]. Однако через несколько лет в патогенез включаются и другие механизмы. Окислительный стресс опосредует вторичное повреждение [2]. Со стороны эндокринной системы при адаптации к стрессовому состоянию важную роль играют не только мозговое вещество надпочечников, но и щитовидная железа. Тиреоидные гормоны, принимая активное участие в процессах окислительного фосфорилирования, являются необходимым звеном в системе обеспечения механизмов адаптации. Характерные для адаптации к стрессу изменения функционирования желез внутренней секреции наблюдаются как при однократном отравлении организма токсичными веществами, так и при хроническом воздействии [3]. Целью данного исследования являлось

изучение биохимических показателей и показателей тиреодного статуса у работников ОХУХО.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись лица, работающие на четырёх ОХУХО («Марадыковский», «Почеп», «Леонидовка» и «Щучье»). Всего был обследован 201 человек. Из них 123 человека имели постоянный контакт с ФОВ, а 78 – периодический контакт. Изучались биохимические показатели липидного обмена (холестерин, триглицериды, ЛПВП-холестерин, ЛПНП-холестерин, коэффициент атерогенности, апоА1, апоВ, соотношение апоВ/апоА1), ферменты (ЩФ, амилаза, креатинкиназа, креатинкиназа МВ, АСТ, АЛТ, холинэстераза, ЛДГ, гамма-ГТ), показатели белкового обмена (общий белок, альбумин, креатинин, мочевины, мочевая кислота), минералы (кальций, железо, калий, фосфор), пигменты (общий билирубин), углеводы (глюкоза), общий антиоксидантный статус. Оценка тиреоидного статуса включала в себя измерение следующих параметров: ТТГ, Т4 общ., Т4 св., Т3 общ., Т3 св., АТ к ТПО. Также подсчитывался интегральный тиреоидный индекс (ИТИ).

Результаты. Статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения по доле лиц с изменёнными биохимическими показателями и показателями тиреоидного статуса не выявлено. Только на ОХУХО «Почеп» соотношение АпоВ/АпоА1 выходило за рамки референтных значений у статистически значимо большего числа лиц в основной группе, чем в группе сравнения.

Из биохимических показателей на всех объектах чаще всего наблюдались изменения концентраций показателей липидного спектра. Доля обследованных с повышенной концентрацией общего холестерина варьировала в небольших пределах. От 46,1% (ОХУХО «Марадыковский» и «Щучье») до 40,0% (ОХУХО «Почеп»). Чаще всего статистически значимые различия по доле лиц с изменёнными биохимическими показателями в основной группе по сравнению с другими объектами обнаружены на ОХУХО «Марадыковский». Там обнаружено больше работников с концентрацией общего белка, альбумина и кальция ниже нормы. Основным изменённым показателем тиреоидного статуса в основной группе на всех объектах оказался интегральный тиреоидный индекс (от 56,5% на ОХУХО «Марадыковский» до 34,2% на ОХУХО «Леонидовка»). По всем остальным показателям тиреоидного статуса доля лиц с изменениями не превышала 20%. При сравнении объектов обнаружено, что большинство показателей тиреоидного статуса с самым высоким процентом изменений в основной группе наблюдалось также на ОХУХО «Марадыковский». Там в основной группе наблюдался самый высокий из четырёх обследованных объектов процент лиц с изменениями по Т4 общ., АТ к ТПО и ИТИ.

Выделены группы для дальнейшего динамического наблюдения в связи с риском развития атеросклероза (33 человека), гипертиреоза (23 человека) и гипотиреоза (35 человек).

Выводы. Статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения не выявлено. Больше всего изменений, как биохимических показателей, так и показателей тиреоидного статуса обнаружено у работников ОХУХО «Марадыковский».

Литература.

- [1] Pearson J.N. et al// *Ann N Y Acad Sci.* 2016. V. 1378(1). P. 17–24.
- [2] Soltaninejad KMA. // *Med. Sci. Monit.* 2009. V 15(3). P. 75–90.
- [3] Чарова Т.А. // *автореф. дис. д-ра мед. наук.* 2012. 46 с.

ТОКСИКОМЕТАБОЛОМИКА ГИДРОКСИЛАМИНА

А.И. Уколов, А.С. Радилов

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: AntonUkolov@gmail.com

Гидроксиламин (NH_2OH , далее – ГА) является крупнотоннажным химикатом, в основном применяемым для получения полиамида, объем производства которого в РФ составляет более 150 тыс. тонн в год. Наряду с получением полимеров, ГА используется для синтеза некоторых фармацевтических препаратов, а также рассматривается в качестве перспективного ракетного топлива: по сравнению с гидразином, раствор ГА имеет на 20 % больший удельный импульс и меньшую токсичность [1]. ГА поступая в организм через кожу или респираторный тракт может вызывать различные токсические эффекты, в частности, нарушение дыхания, анемию, метгемоглобинемию и спленомегалию. Основным механизмом токсического действия гидроксиламина является образование метгемоглобина.

Целью данной работы являлась разработка новых высокочувствительных методов биомониторинга ГА, а также исследование путей его биотрансформации в организме. Причем современные тенденции в токсикологии устанавливают такой уровень чувствительности методов биомониторинга, который позволит определять даже нетоксические концентрации химических веществ и выявлять воздействие токсикантов в концентрациях, отражающих их содержание в окружающей среде. Ключевым этапом разработки таких методов является обнаружение и внедрение в практику аналитической токсикологии новых биомаркеров, а наиболее эффективная стратегия должна предполагать поиск потенциальных биомаркеров как среди ксенобиотиков (биомаркеров экспозиции) так и среди эндогенных соединений, составляющих метаболические профили (биомаркеров эффекта) [2].

Для поиска новых биомаркеров ГА нами было применено сочетание методов нецелевого метаболического профилирования биологических образцов лабораторных животных, получавших перорально ГА в различных дозах с различной продолжительностью, и методов определения ксенобиотиков (ГА и его метаболитов). Для количественного определения

неметаболизированного ГА нами была разработана методика измерения его массовых концентраций в плазме крови и моче [3]. Применение методики обеспечивает предел обнаружения 30 нг/мл при использовании ГХ-МС, а при использовании ГХ-МС/МС возможно снизить предел обнаружения до 0.1 нг/мл. Чувствительность методики позволила установить, что ГА сохраняется в кровотоке крыс, получавших дозу 22.6 мкг/кг, рассматриваемую как минимально действующую, несмотря на его высокую реакционную способность.

Впервые установлено, что пероральное поступление в организм крыс ГА с питьевой водой приводит к значительному уменьшению концентраций 2-кетокислот: пировиноградной, 2-кетоизовалериановой, 3-метил-2-кетопентановой и 4-метил-2-кетопентановой кислот в моче. При этом концентрации 2-гидроксикислот, в т.ч. молочной, оставались неизменными.

В результате исследования биотрансформации ГА показано, что ранее не изученным путем метаболизма гидроксиламина является образование оксимов ($R=N-OH$, изонитрозосоединений) при взаимодействии с альдегидами и кетонами плазмы крови и мочи. Среди оксимов выявлены: оксим глицеральдегида, оксим пировиноградной кислоты и других 2-кетокислот, оксим N-формилглицина, оксим глиоксальной кислоты и оксимы моносахаридов. Структуры обнаруженных метаболитов приведены на рис.:

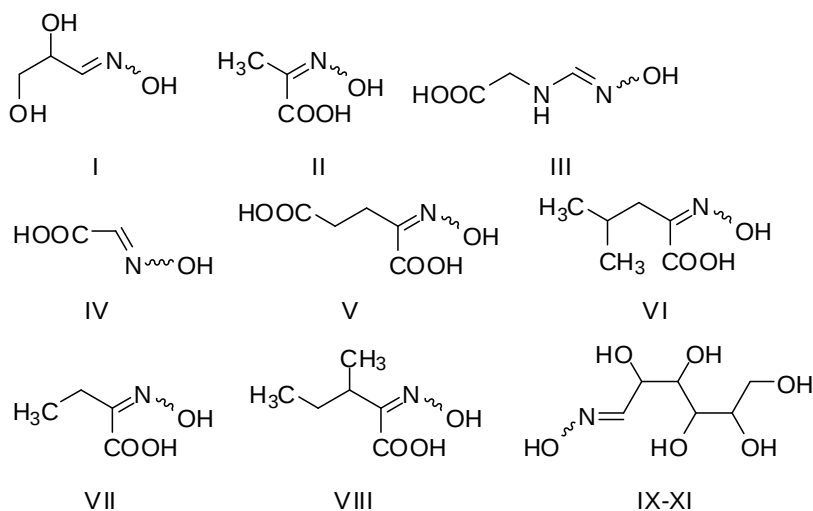


Рисунок – Структурные формулы идентифицированных метаболитов ГА в крови и моче

Для выявления наиболее чувствительного биомаркера экспозиции ГА был произведен скрининг аддуктов ГА в крови и моче крыс, получавших раствор ГА перорально в течение 30 дней. Наиболее чувствительным биомаркером экспозиции ГА оказалась его неметаболизированная форма и аддукт с пировиноградной кислотой - пируватоксим (II), обнаруженный в моче крыс, получавших 22 мкг/кг ГА перорально.

Литература

- [1] Радилов А.С. и др. // *WWW.MEDLINE.RU*. 2015. Т. 16. С. 210-215.
- [2] Уколов А.И. и др. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2017. Т. 53. № 1. С. 24-32.
- [3] Уколов А.И. и др. // Вестн. Санкт-Петерб. ун-та. 2017. Т. 4. № 62. С. 337–345.

ВОЗДЕЙСТВИЕ БИОМАССЫ ТОКСИЧНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА *DAPHNIA MAGNA STRAUS*

Э.В. Чермашенцева

Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное
государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский
институт органической химии и технологии», Москва
e-mail: kutkin@gosniiookht.ru

В результате возрастания антропогенного загрязнения и усиления эвтрофирования внутренних пресных вод сине-зеленые водоросли (цианобактерии) становятся доминирующей группой фитопланктона – от 60 до 90% по биомассе. При этом нередко «цветение» воды осуществляют токсигенные представители цианобактерий.

Токсины цианобактерий аккумулируются в телах гидробионтов, питающихся планктоном, и передаются далее по трофической цепи. Наибольшее накопление цианотоксинов происходит в теле хищных рыб (щука, судак, налим, окунь), а также ершей. При потреблении такой рыбы в пищу у людей отмечается отравление цианотоксинами, описанное как гаффско-юксовская болезнь. При употреблении воды, содержащей токсины цианобактерий, возникает гастроэнтерит, диарея, повреждение печени, абдоминальные и мышечные боли, воспаление слизистых оболочек.

В настоящей работе проводилось исследование влияния токсичных сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena spiroides* и *Anabaena variabilis*, полученных из Коллекции культур водорослей лаборатории микробиологии Биологического института Петербургского университета, на ветвистоусых рачков *Daphnia Magna Straus* – типичных представителей зоопланктона пресных вод. Выращенная в лабораторных условиях биомасса цианобактерий отмывалась культуральной водой для дафний и предлагалась в качестве корма. Для контроля в качестве корма использовалась нетоксичная зеленая водоросль *Scenedesmus quadricauda*.

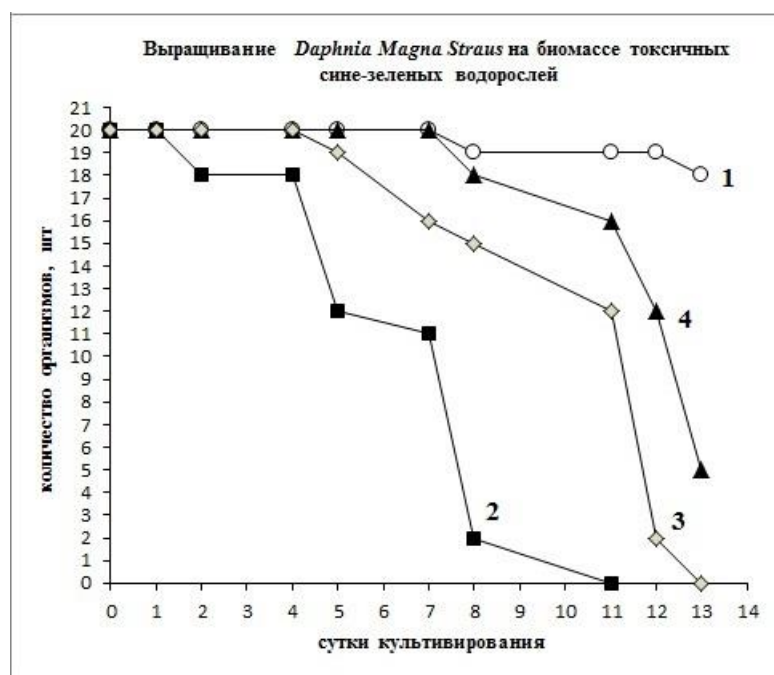
Полученные результаты представлены на рисунке 1.

Биомасса *Microcystis aeruginosa* после первых суток кормления начинает подавлять жизнедеятельность дафний, при этом их плодовитость на 2-е-4-е сутки снижается с 80% от уровня в контроле до 37%. Затем до самой элиминации популяции (на 11-е) сутки плодовитость составляет 22% от контроля.

Влияние кормовой биомассы *Anabaena spiroides* и *Anabaena variabilis* на дафний сходно: вначале наблюдается инкубационный период, когда численность популяции не снижается (5 суток для *Anabaena spiroides* и 8 суток для *Anabaena variabilis*). Затем наступает период угнетения, когда численность популяции начинает постепенно снижаться (при кормлении *Anabaena spiroides* за 6 суток снижение до 60%, а при кормлении *Anabaena variabilis* – за 3

суток снижение до 80% от контроля). Третий период при кормлении биомассой анабен характеризуется катастрофической гибелью популяции и наступает на 11-е сутки.

Плодовитость дафний, выращиваемых на биомассе анабен, почти не меняется в течение инкубационного периода и составляет 82-100% от контроля. Во время периода угнетения плодовитость резко снижается с 71% до 22%. Во время третьего периода дафнии не образуют эмбрионы в выводковых камерах и их размножение полностью прекращается. Рачки, выведенные из эксперимента в этом периоде и переведенные на кормление биомассой *Scenedesmus quadricauda*, восстанавливают свою репродуктивную функцию только в 50% случаев.



1. Выращивание на *Scenedesmus quadricauda* (контроль); 2. На *Microcystis aeruginosa*;
3. На *Anabaena spiroides*; 4. На *Anabaena variabilis*.

Заключение

Все исследованные культуры сине-зеленых водорослей являются токсичными для рачков *Daphnia Magna Straus*, подавляют репродуктивную функцию и приводят к элиминации популяции. При этом у анабен можно выделить период накопления токсинов (инкубационный).

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛГЛИЦЕРОЛАТА КРЕМНИЯ НА ПРОСПЕКТИВНЫЕ ПОТЕНЦИИ К РАЗВИТИЮ *IN VITRO* ДОНОРСКИХ ООЦИТОВ И ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ *BOS TAURUS*

И.В. Чистякова¹, Т.И. Кузьмина¹, Т.Г. Хонина²

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных - филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»¹, Санкт-Петербург – Пушкин

Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук², Екатеринбург

e-mail: prof.kouzmina@mail.ru, itjerena7@gmail.com, khonina@ios.uran.ru

Совершенствование методов культивирования ооцитов млекопитающих *in vitro* необходимо для интенсификации клеточных репродуктивных технологий, таких как трансгенез, клонирование, криоконсервация. Двумерная культура была парадигмой культивирования яйцеклеток *in vitro*; однако было продемонстрировано, что клетки ведут себя более естественным образом при культивировании в трехмерных средах (гидрогелях). Кремний является одним из основных компонентов окислительно-восстановительных реакций в организме животных, участвующим в синтезе гормонов и ферментов. Перспективным классом являются органические соединения кремния, имеющие Si-O-C-группировки, в частности, полиолаты кремния. Некоторые из них, обладающие различной фармакологической активностью, в том числе регенерирующей и противовоспалительной, были внедрены в медицинскую и ветеринарную практику. Гидрогели обеспечивают трехмерную среду, подобную мягким тканям, позволяют рассеивать питательные вещества и могут быть легко модифицированы в целях обеспечения трансдукции биологических сигналов, в том числе клеточных адгезионных лигандов и протеолитической деградации, обеспечиваемой ферментами, секретируемыми инкапсулированными клетками [0]. Диметилглицеролат кремния (ДМГК) является ярким представителем данной группы. Он обладает положительным действием на экспансию клеток кумулюса свиней [0], что может служить показателем эффективности применения данного соединения при создании систем 3D культивирования ооцитов *in vitro*.

Цель настоящего исследования – идентифицировать эффекты диметилглицеролата кремния на компетенцию к созреванию и оплодотворению донорских ооцитов коров *in vitro* и развитие полученных из них эмбрионов.

Режимы созревания ооцитов, их оплодотворения и культивирования эмбрионов соответствовали методу, описанному нами ранее [0]. Данные экспериментов, отражающие результаты по оплодотворению ооцитов, созревших в присутствии ДМГК (ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН, опыт) и без него (контроль) представлены в таблице. При введении в среду культивирования наночастиц диметилглицеролата кремния в концентрациях 0,2 % и 0,4

% между показателями дробления (эмбрионов на стадиях от 2-х клеточных до бластоцист), а также в уровне бластоцист не было обнаружено достоверных различий. Однако, ДМГК оказал небольшое стимулирующее действие на уровень дробления ооцитов (54 % - контроль, 60% и 59% - опыт, соответственно), значительно не повлияв при этом на выход эмбрионов коров на стадии бластоцисты (36 % в контрольной группе, 28 % и 25 % в опытной группе, соответственно).

Таблица. Влияние диметилглицеролата кремния (концентрации – 0,2% и 0,4%) на оплодотворяемость и развитие доимплантационных эмбрионов коров *in vitro* (число ооцитов – 423; число повторностей – 3)

Экспериментальная группа	п ооцитов	п (%) осемененных ооцитов	п (%) дробления	п (%) бластоцист
Контроль	168	90 (54)	90 (54)	32 (36)
Опыт 1	168	99 (60)	99 (60)	28 (28)
Опыт 2	87	51 (59)	51 (59)	13 (25)

Контроль – среда созревания ооцитов: ТС-199 с глутамаксом-1+10% ФБС + β -эстрадиол +ФСГ. Опыт 1 - ТС-199 с глутамаксом-1+10% ФБС+0,2% ДМГК+ β -эстрадиол +ФСГ. Опыт 2 - ТС-199 с глутамаксом-1+10% ФБС+0,4% ДМГК+ β -эстрадиол +ФСГ.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что ДМГК в концентрациях 0,2% и 0,4% не оказывает выраженного цитотоксического действия на ооциты и развитие доимплантационных эмбрионов коров, что предполагает возможность его использования в технологии экстракорпорального созревания и оплодотворения донорских ооцитов животных.

Литература

- [1] Кузьмина Т.И. Методические рекомендации по получению эмбрионов коров *in vitro* // 2014. С. 39.
- [2] Новичкова Д.А., Кузьмина Т.И. Влияние диметилглицеролата кремния и глицерина на экспансию кумулюсных клеток ооцитов *Sus scrofa domesticus* // Сборник тезисов VI Молодежной конференции по молекулярной и клеточной биологии Института цитологии РАН. 2018. С. 78-79.
- [3] Tibbitt M. W. Hydrogels as Extracellular Matrix Mimics for 3D Cell Culture // *Biotechnol Bioeng.* 2009. V 103. P. 655–663.

ПРОБЛЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИМ ПИТАНИЕМ
РАБОТНИКОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОРПОРАЦИИ ПО КОСМИЧЕСКОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «РОСКОСМОС» НА ПРИМЕРЕ ПЕРСОНАЛА ФИЛИАЛА
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИТАРНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ «ЦЕНТР
ЭКСПЛУАТАЦИИ ОБЪЕКТОВ НАЗЕМНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ» -
«ЦЕНТР ЛИКВИДАЦИИ МЕЖКОНТИНЕНТАЛЬНЫХ БАЛЛИСТИЧЕСКИХ РАКЕТ»
(далее – филиал ФГУП «ЦЭНКИ» - ЦЛ МБР).

И.С. Плотникова, Е.В. Штрыкова

Межрегиональное управление № 153 Федерального медико-биологического агентства
г. Нижний Новгород
e-mail: ru153@mail.ru

Доклад посвящён профилактике ущерба здоровью работающих на предприятиях эксплуатации, хранения, технического обслуживания и утилизации ракетного вооружения.

Доклад выполнен на основании обзора литературы и собственных исследований рациона лечебно-профилактического питания (далее – ЛПП) 25-ти работников цеха нейтрализации ракет, гелирования и заправки компонентов ракетных топлив, контактирующих с несимметричным диметилгидразином (далее – НДМГ) и азотным тетраоксидом (далее – АТ). НДМГ является веществом 1 класса опасности (чрезвычайно опасные вещества), АТ – вещество 2 класса опасности (высокоопасные вещества).

Целью доклада являются предложения по совершенствованию системы обеспечения работников предприятий ракетно-космической промышленности (далее – РКП), в том числе предприятий ФГУП «ЦЭНКИ» ГК «Роскосмос», бесплатным ЛПП и витаминными препаратами.

Основные задачи доклада:

Провести санитарно-гигиеническую оценку фрагментов технологии уничтожения межконтинентальных баллистических ракет (далее – МБР), критичных в плане воздействия на здоровье работающих.

Определить перечень профессий на отдельных технологических участках, при работе на которых должна осуществляться бесплатная выдача ЛПП и витаминных препаратов.

Провести расчёты фактического потребления продуктов питания на одного работника в день, фактического содержания в готовых продуктах питания белков, жиров, углеводов и калорийности.

Объект исследования.

РКП представляет собой совокупность предприятий, занятых разработкой, производством, ремонтом, модернизацией и утилизацией ракетного оружия, космической техники и их компонентов. Соответственно, как и в других отраслях, в состав РКП входят производственные и ремонтные предприятия, научно-исследовательские предприятия и предприятия по утилизации.

Один из таких объектов - филиал ФГУП «ЦЭНКИ» - ЦЛ МБР.

Основными видами деятельности филиала ФГУП «ЦЭНКИ» - ЦЛ МБР являются: утилизация вооружения и военной техники (нейтрализация, ликвидация, утилизация выведенных из эксплуатации жидкостных ракет наземного и морского базирования); эксплуатация химически опасных производственных объектов; осуществление деятельности по обращению с опасными отходами.

В докладе приведена краткая характеристика основных производственных вредностей и нарушений состояния здоровья у работников.

В этих условиях возрастает значимость ЛПП.

Выводы и предложения.

ЛПП работников, занятых утилизацией ракетного топлива и компонентов ракетных топлив, и подверженных воздействию вредных и опасных производственных факторов, должно включать большие дозы аскорбиновой кислоты и витаминов группы В (в том числе пиридоксина), витамин К, дополнительные продукты питания (в том числе яйцо, мясные и рыбные продукты, твороги сыр нежирных сортов, масло растительное, сахар, ржаной и пшеничный хлеб).

Предлагается:

- включить в Приложение № 1 к Приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 16 февраля 2009 г. № 46н «Об утверждении перечня производств, профессий и должностей, работа в которых даёт право на бесплатное получение ЛПП в связи с особо вредными условиями труда, рационов ЛПП, норм бесплатной выдачи витаминных препаратов и правил бесплатной выдачи ЛПП» (далее – Приказ) производства, профессии и должности, связанные с производством, эксплуатацией, хранением, техническим обслуживанием и утилизацией ракетного вооружения для работников РКП.

- разработать и включить в Приложения №№ 2, 3 к Приказу рационы бесплатной выдачи ЛПП и нормы бесплатной выдачи витаминных препаратов для работников РКП, осуществляющих производство, эксплуатацию, хранение, техническое обслуживание и утилизацию ракетного вооружения и подверженных воздействию вредных и опасных производственных факторов.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

ТЕХНОЛОГИЯ СУХИХ ПЯТЕН В ДИАГНОСТИКЕ ПОРАЖЕНИЙ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ ОТРАВЛЯЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Т.И. Алюшина, Н.Л. Корягина, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева, Н.С. Хлебникова,
А.С. Радилов

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства

Диагностика поражений отравляющими веществами традиционно включает отбор крови и мочи пострадавших, доставку биопроб в лабораторию и проведение анализа. Специализированные лаборатории, как правило, находятся довольно далеко от места инцидента, исследования могут быть широкомасштабными при поражении большого количества людей, сохранить большое количество отобранных проб, особенно в условиях жаркого климата, достаточно проблематично. В настоящей работе предложен способ определения фосфонилированного тирозина (ФТ) - метаболита фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения с использованием технологии «сухих пятен» (DBS – Dried Blood Spot), основанной на высушивании биопроб перед анализом. В ряду известных маркеров отравления ФОВ, ФТ характеризуются максимальной ретроспективностью и устойчивостью к проведению антидотной терапии оксимами [1]. Объектом исследования были образцы плазмы крови, *in vitro* экспонированные заринном, зоманом и VR в дозе 50 нг/мл. В качестве носителя для приготовления сухих образцов использовали фильтр «синяя лента» и специальную бумагу “Protein Saver 903 Card”. Жидкие пробы хранили в холодильной камере при 4°C. Образцы сухих пятен хранили при комнатной температуре (22°C) и в термостате (40 °C, имитация условий жаркого климата). Анализ жидких и сухих образцов проводили через 2 недели, 1 месяц и 2 месяца после приготовления. В результате проведенных исследований установлено, что при использовании в качестве носителя бумаги “Protein Saver 903 Card” определение ФТ возможно, по крайней мере, через 2 месяца после хранения образцов при 22 °C и при 40 °C. Показано, что температура хранения оказывает значительное влияние на стабильность сухих образцов. При хранении сухих образцов при повышенной температуре содержание определяемых соединений снизилось практически в три раза в сравнении с такими же образцами, хранившимися при комнатной температуре. Установлено, что в отсутствие специальной бумаги, возможно использовать в качестве носителя фильтровальную бумагу «синяя лента». При этом ФТ надежно определяется через 1 месяц после хранения образцов при комнатной температуре (22 °C). В условиях повышенных температур (40°C) использование фильтровальной бумаги не рекомендуется.

В доступной литературе способов обнаружения ФТ в сухих образцах плазмы крови не найдено.

Таблица 1 – Сводные результаты изучения стабильности аддуктов ФОВ с тирозином в жидких и сухих образцах плазмы крови в разных условиях хранения

Условия хранения	Определяемое соединение	Время после приготовления образцов, % от свежего образца		
		2 недели	1 месяц	2 месяца
Сухие образцы на фильтровальной бумаге «синяя лента», комнатная температура, 22 °С	Тирозин-VR	70	17	1
	Тирозин-зоман	74	58	10
	Тирозин-зарин	70	26	3
Сухие образцы на бумаге Protein Saver 903 Card, комнатная температура, 22 °С	Тирозин-VR	85	62	35
	Тирозин-зоман	93	71	23
	Тирозин-зарин	98	97	95
Жидкие образцы, 4 °С	Тирозин- VR	97	91	81
	Тирозин-зоман	98	81	65
	Тирозин-зарин	98	97	96
Сухие образцы на фильтровальной бумаге «синяя лента», 40 °С	Тирозин-VR	0	0	1
	Тирозин-зоман	– ¹	–	2
	Тирозин-зарин	–	–	1
Сухие образцы на бумаге Protein Saver 903 Card, 40°С	Тирозин-VR	–	–	25
	Тирозин-зоман	–	–	21
	Тирозин-зарин	–	–	22

Примечание: 1 – исследования не проводили

Литература

- [1] Read R.W., Riches J.R., Stevens J.A., Stubbs S.J., Black R.M. Biomarkers of organophosphorus nerve agent exposure: comparison of phosphylated butyrylcholinesterase and phosphylated albumin after oxime therapy // Arch. Toxicol. – 2010 – Vol. 84, № 1 – P.25-36.

СРЕДСТВА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ В ТЕРАПИИ И МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ЭКЗОГЕННЫХ ОТРАВЛЕНИЙ

Н.В. Баландин, В.Д. Гладких

Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-производственный центр «Фармзащита» ФМБА России, 141402, Россия, Московская обл., г. Химки, Вашутинское шоссе, д. 11.
e-mail: balandin@atompharm.ru

Успехи современной реаниматологии и медицинской реабилитации выдвигают в ряд приоритетных задач минимизацию последствий гипоксического повреждения тканей в остром периоде химической травмы. Достижение данной цели решается современной медициной в рамках концепции метаболической защиты как одного из ведущих направлений патогенетической терапии острых отравлений. Цитопротекция при этом рассматривается как направление медикаментозного воздействия при повреждении клеток, вызванном факторами патогенеза заболевания на системных уровнях, позволяющее корректировать изменения

функционального состояния и морфологии клетки, безотносительно специфики заболевания [1].

В аспекте рассматриваемой проблемы в докладе рассматриваются результаты собственных и литературных данных касательно перспектив использования средств метаболической коррекции в системе медицинской реабилитации пострадавших с острыми химическими отравлениями. Обсуждаются спорные и нерешённые вопросы цитопротекции при острых отравлениях и возможные пути их решения.

К настоящему времени в рамках клинической токсикологии, не сформированы принципы цитопротекции, хотя работы в этом направлении проводятся, в частности, при купировании токсического судорожного синдрома, лечении токсических энцефалопатий, острых отравлений психотропными препаратами и др. [2-3].

К спорным и нерешенным проблемам цитопротекции острых отравлений относятся, в частности, отсутствие систематизированного подхода к применению цитопротектора (выбор препарата, его дозирование; определение сроков назначения; очередность использования препаратов различного механизма действия; целесообразность комбинированного назначения цитопротекторов различной фармакологической направленности и пр.).

Базисом системообразующих критериев выделения цитопротекторов в отдельную группу лекарственных средств на наш взгляд является понятие «типовой патологический процесс». В данном контексте цитопротекция направлена на сохранение жизнедеятельности клеток путем блокирования формирования и развития в них типовых патологических процессов.

Рассматривая теоретические предпосылки необходимости и возможности использования цитопротекции в клинической токсикологии, следует учитывать, что в структуре острых отравлений значительное место занимают отравления крайне тяжелой степени, сопровождающиеся в ряде случаев развитием постреанимационной дисрегуляторной патологии (постреанимационной болезни), объединяющей патологические процессы различных уровней организации – от субклеточного до организменного. Организм, переживающий умирание и оживление, оказывается в новом патологическом состоянии, причиной которого выступает не сама по себе предшествовавшая ишемия, а ее сочетание с постреанимационной реоксигенацией и рециркуляцией, так как поступление кислорода в поврежденные системы приводит к усилению процессов свободнорадикального окисления. Кроме того, восстановленная (в результате реанимационных мероприятий) циркуляция крови дополнительно привносит в клетки токсичные продукты, не обезвреженные поврежденными ферментными системами гепатоцитов и поступающие в кровь через поврежденную во время ишемии слизистую оболочку кишечника.

Существенные изменения регуляторных систем клеток, тканей и организма в целом, сохраняющиеся в постреанимационном периоде, необходимо учитывать при составлении реабилитационных программ, и в частности – при выборе средств цитопротекции.

В докладе представлены примерные направления восстановительного лечения в поздней соматогенной фазе острых отравлений с учетом специфики патологии.

Литература

- [1] Плужников Н.Н., Чепур С.В., Сосюкин А.Е. и др. Цитопротекция: фундаментальные и прикладные проблемы // Вестн. Росс. воен-мед. академии. Приложен. 2008. № 1 (21). С. 3–49.
- [2] Афанасьев В.В. Неотложная токсикология: Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 384 с.
- [3] Гладких В.Д., Беловолов Ф.Ю., Баландин Н.В. Цитопротекция в системе медицинской реабилитации пострадавших с острыми отравлениями // Курортная медицина №2.- 2015. С. 82-87.

ВЫЯВЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ К 2,3,7,8-ТЕТРАХЛОРДИБЕНЗО-П-ДИОКСИНУ И БЕНЗ[А]ПИРЕНУ

Е.А. Белинская¹, С.Е. Мазина², Г. В. Зыкова¹

¹ – Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены Федерального медико-биологического агентства, Москва

² - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва
e-mail: eabelinsk@yandex.ru

В природе существуют сложные взаимосвязи между организмами разных трофических уровней. В случае попадания супертоксикантов в почву или грунты происходит попадание их в организмы и реализуется цепочка передачи вредных соединений по трофической цепи. Некоторые виды способны накапливать загрязнители, в результате может происходить локальное удержание и сохранение вредных веществ, как во времени, так и в пространстве. Некоторые виды могут быть особо чувствительны к загрязнителям, что может приводить к их гибели и изменениям в сообществах и экосистемах. Исследователи неоднократно отмечали, что популяции одного или сходных видов из местообитаний с различными уровнями загрязненности способны по-разному реагировать на негативное воздействие. Целью исследования было оценить устойчивость видов микромицетов и водорослей к воздействию 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксина (2,3,7,8-ТХДД) и бенз[а]пирена.

Эксперимент проводили на культурах зеленых одноклеточных водорослей *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] выделенных из обрастаний на почве в г. Москве и из сообществ обрастаний фототрофов входных частей пещер Женевская (Красноярский край), Ящик Пандоры (Хакасия), Киндерлинская (Башкирия), Виашерская (Пермский край), Новоафонская

(Абхазия), Крубера (Крым), которые выращивали в накопительной культуре в жидкой среде Громова №6. Культуру содержали при постоянной аэрации, освещенности 2000 лк, и температуре 24°C. Использовали почвенные грибы, *Penicillium chrysogenum* Thom, выделенные из почвы г. Москвы и из пещерных систем Женевская, Мчишта-Акшаша (Абхазия), Киндерлинская, Виашерская и Крубера которые культивировали на среде Чапека-Докса при температуре 24°C.

Для тестов использовали растворы с загрязнителями в различных концентрациях. Концентрации устанавливали из расчета 1 ПДК, 1/2 ПДК, 1/100 ПДК, 1/1000 ПДК для почвы населенных мест. В качестве базового использовали раствор 2,3,7,8-ТХДД и раствор бенз[а]пирена, производства компании Cambridge Isotope Laboratories, Inc. США. Тесты проводили на агарозных культуральных средах. Для введения в агарозные культуральные среды (Громова №6, Чапека-Докса), 2,3,7,8-ТХДД и бенз[а]пирена наносили в спиртовом растворе в соответствующих концентрациях на поверхность стерильного крахмала, который служил стабилизатором. Крахмал высушивали, и вносили в среду культивирования на последних этапах приготовления. В контрольные образцы вносили крахмал без загрязнителей.

Водоросли наносили на среду в расчете 1300 клеток на 10 см². Оценивали увеличение численности клеток водорослей, подсчет клеток проводили в камере Горяева. Инкубацию водных суспензий проводили в условиях аналогичных выращиванию исходной культуры. Микроскопические грибы наносили на среду культивирования в виде суспензии спор в концентрации 50 спор на 10 см². Оценивали скорость роста колоний, начало спорообразования и количество спороносящих колоний. Длительность экспериментов составляла 21 день. Тесты проводили в трехкратной повторности.

При культивировании на агарозной среде при концентрации 2,3,7,8-ТХДД 50 нг/кг число клеток водорослей в колониях было ниже в 1,5-3 раза по сравнению с контролем. Наиболее чувствительными оказались культуры из пещер Крубера и Ящик Пандоры, наименее чувствительными водоросли из почв Москвы и пещеры Виашерская и Женевская [1]. При концентрации бенз[а]пирена 20 мкг/кг, численность клеток была сходной с контролем, в культурах из почв Москвы, пещеры Женевская и Виашерская на 7-14 день эксперимента обнаружено пожелтение колоний и гибель клеток. Для культур из пещеры Киндерлинская отмечено снижение численности клеток по сравнению с контролем в 2,4 раза и гибель клеток к 21 дню эксперимента. Для остальных культур отмечено постепенное снижение численности клеток вплоть до полной гибели к 12-25 дню.

При тестировании 2,3,7,8-ТХДД на микромицетах *Penicillium chrysogenum* было отмечено снижение спороношения при увеличении концентрации загрязнителя. При концентрации 2,3,7,8-ТХДД 25 нг/кг у *Penicillium chrysogenum* наблюдалось снижение

спороношения на 30-80% по сравнению с контролем, а при концентрации 2,3,7,8-ТХДД 50 нг/кг на 40-90%. При концентрации бенз[а]пирена 10 мкг/кг, 20 мкг/кг спороношение у *Penicillium chrysogenum* не наблюдалось. При концентрации бенз[а]пирена 0,2 мкг/кг у *Penicillium chrysogenum* интенсивность спороношения колебалась от 100 до 60% по сравнению с контролем.

В результате проведения исследования воздействия 2,3,7,8 –ТХДД и бенз[а]пирена на различные виды выявлено негативное влияние загрязнителей на рост и размножение зеленых одноклеточных водорослей, и грибов при введении загрязнителей в агарозные культуральные среды в концентрации 1 ПДК.

Литература

- [1] Белинская Е.А. и др. // *Успехи современной науки*. 2017. Т.5. №1. С. 35 – 43.

СЛЕПОЙ ДОКИНГ В РАЗРАБОТКЕ МУЛЬТИТАРГЕТНОГО ИНГИБИТОРА Р-ГЛИКОПРОТЕИНА И MDM2

Т.А. Григорьева, Д.С. Новикова, М.А. Гуреев, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович
НИЛ «Молекулярная фармакология»,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет)», Санкт-Петербург
e-mail: rozentatiana@gmail.com

По мере расширения спектра опухолей, поддающихся терапии, и увеличения продолжительности жизни пациентов, все большую актуальность приобретает проблема вторичной резистентности опухолей.

Одним из ключевых механизмов устойчивости раковых клеток к терапии является выброс действующего вещества из клетки в результате его связывания с Р-гликопротеином. Гипертрофия этого механизма в ходе лечения первичной опухоли приводит к ремиссии с развитием новой опухоли, устойчивой к ранее эффективному препарату.

В настоящее время ведутся разработки ингибиторов Р-гликопротеина, однако даже наиболее эффективные из них могут быть использованы только в сочетании с каким-либо противораковым препаратом. Такой подход имеет ряд недостатков, таких как усложнение схемы приема, дороговизна и повышение риска токсических эффектов. В связи с этим, представляется рациональным создание такого препарата, который сочетал бы в себе свойства ингибитора Р-гликопротеина и противоракового агента.

В рамках реализации такого подхода наша группа взяла за основу низкомолекулярные ингибиторы белок-белкового взаимодействия MDM2-p53: подавление активности белка p53 в результате гиперэкспрессии MDM2 является частой причиной опухолей различной локализации.

Для идентификации сайтов Р-гликопротеина, с которым должны связываться потенциальные мультитаргетные ингибиторы, был осуществлен слепой докинг. Модели мышинового белка были получены из Protein Data Bank; библиотека структур для докинга состояла из ингибиторов MDM2, относящихся к нескольким химическим классам, а также известных ингибиторов Р-гликопротеина. Для контроля адекватности модели и метода использовали ряд структур, сайты связывания которых известны.

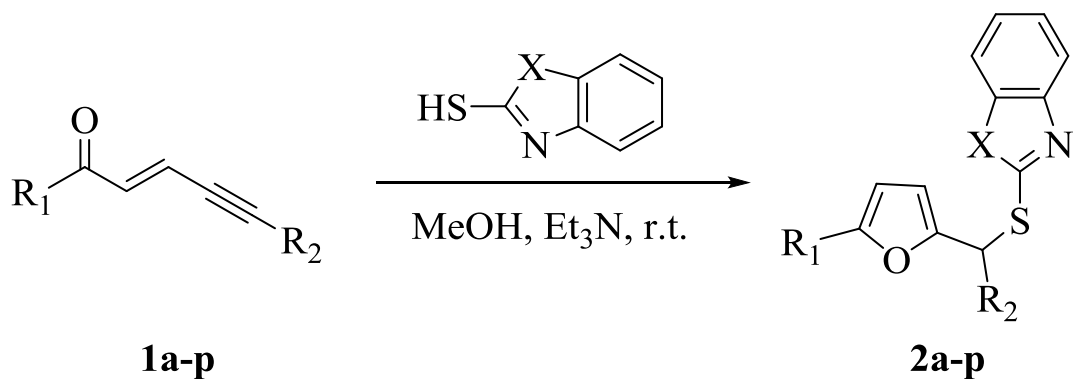
Сайты, идентифицированные в результате работы, будут использованы для скрининга библиотеки собственных соединений и идентификации потенциальных мультитаргетных структур – ингибиторов Р-гликопротеина и MDM2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант №16-13-10358).

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ О-, S- и N-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

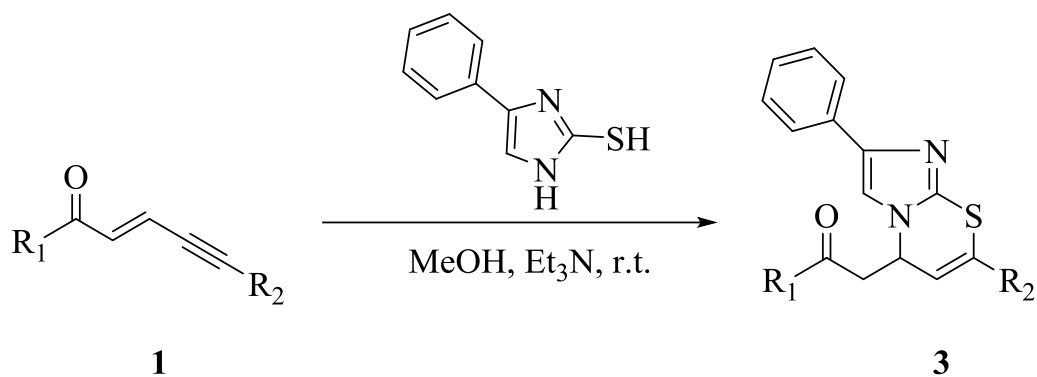
Д.М. Гусев, А.С. Бунев, А.А. Голованов
Тольяттинский государственный университет
e-mail: aleksandgolovanov@yandex.ru

Сопряженные ениноны, содержащие несколько реакционных центров, являются ценными синтонами в синтезе различных гетероциклических соединений, обладающих биологически активными свойствами. С целью получения О-, S- и N-содержащих гетероциклических соединений была изучена реакция нуклеофильного тиолирования сопряженных енинонов **1**. Взаимодействие кетонов с 2-меркаптобензотиазолом и 2-меркаптобензимидазолом в метаноле в присутствии Et₃N при комнатной температуре дает замещенные фураны **2** с выходом 30–92%



1,2 R₁=Ph, R₂=Ph, X=S (**a**), R₁=4-MeC₆H₅, R₂=Ph, X=S (**b**), R₁=4-ClC₆H₅, R₂=Ph, X=S (**c**), R₁=4-BrC₆H₅, R₂=Ph, X=S (**d**), R₁=4-FC₆H₅, R₂=Ph, X=S (**e**), R₁=3-BrC₆H₅, R₂=Ph, X=S (**f**), R₁=Ph, R₂=4-BrC₆H₅, X=NH (**g**), R₁=Ph, R₂=4-FC₆H₅, X=NH (**h**), R₁=Ph, R₂=4-ClC₆H₅, X=NH (**i**), R₁=Ph, R₂=4-MeC₆H₅, X=NH (**j**), R₁=Ph, R₂=4-MeOC₆H₅, X=NH (**k**), R₁=3-BrC₆H₅, R₂=Ph, X=NH (**l**), R₁=4-ClC₆H₅, R₂=Ph, X=NH (**m**), R₁=4-BrC₆H₅, R₂=Ph, X=NH (**n**), R₁=4-MeC₆H₅, R₂=Ph, X=NH (**o**), R₁=4-FC₆H₅, R₂=Ph, X=NH (**p**)

В аналогичных условиях кетоны **1** с 2-меркапто-4-фенилимидазолом дают 2-(7-арил-2-фенил-5H-имидазо[2,1-b][1,3]тиазин-5-ил)-1-арилэтан-1-оны **3** с выходом 20–47 %.



1,3 R₁=Ph, R₂=Ph (**a**), R₁=4-ClC₆H₅, R₂=Ph (**c**), R₁=4-BrC₆H₅, R₂=Ph (**d**).

Исследование синтезированных веществ показало, что фураны **2** обладают выраженным цитотоксическим действием по отношению к клеточной линии A431 (немелкоклеточный рак легкого). Соединения **3** обладают низкой цитотоксичностью.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЕКТОВ УТИЛИЗАЦИИ СУДОВ АТОМНОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ РАДИАЦИОННОЙ И ХИМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Д.В. Арефьева, М.А. Дохов, В.Е. Стернин, Г.Ф. Ваулин, А.В. Петушок
Федеральное государственное унитарное предприятие научно-исследовательский институт
промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства,
Санкт-Петербург,
e-mail: niipmm@fmbamail.ru

К началу XXI века перед мировой наукой возникла новая социально-экономическая, инженерно-техническая и радиационно-гигиеническая проблема, суть которой заключается в необходимости вывода из эксплуатации большого количества отработавших свой срок кораблей с ядерной энергетической установкой и судов атомного технологического обслуживания (САТО), что обусловлено, прежде всего, истечением проектных сроков эксплуатации (25-40 лет). Утилизация САТО может оказывать воздействие на природные компоненты окружающей среды за счет факторов радиационной и химической природы. С целью выполнения одного из основных принципов обеспечения радиационной безопасности - принципа оптимизации, устанавливаются контрольные уровни воздействия радиационных факторов. В то же время, анализ научной литературы показал недостаточное количество методических решений и нормативных документов по гигиенической оценке проектов утилизации САТО в части их влияния на объекты окружающей среды.

Целью исследования являлся анализ проектных решений утилизации САТО на соответствие принципу оптимизации при обеспечении радиационной безопасности.

Материалом исследования послужили проекты и заключения гигиенической экспертизы на них по утилизации САТО ПЕК-50, плавучих технических баз «Володарский» и «Лотта», а

также материалов оценки объектов окружающей среды предприятий, на которых проводилась утилизация указанных судов.

В результате исследования было установлено, что при утилизации САО наибольшую опасность для окружающей среды представляют процессы выгрузки жидких радиоактивных отходов и отработавшего ядерного топлива. Так, выброс ^{137}Cs в атмосферный воздух из поста выгрузки отработавшего ядерного топлива составляет 1,7 МБк/год. Также представляют опасность радионуклиды ^{60}Co , ^{90}Sr , ^{106}Ru , ^{134}Cs , ^{144}Ce . Из основных химических загрязнителей можно выделить нефтепродукты, фенол, растворы солей железа, меди, цинка, никеля, летучие органические соединения.

При системном анализе проектов утилизации на предмет гигиенической оценки воздействия на объекты окружающей среды работ по утилизации САО установлено, что в них не учтены все технологические процессы, которые сопровождают утилизацию САО (выгрузка отработавшего ядерного топлива, газовая резка и зачистка швов), обуславливающие происхождение важнейших загрязнителей. Также проектанты не учтены контрольные уровни воздействия радиационных факторов на различные компоненты окружающей среды (на почву, на состав атмосферных выпадений).

По результатам проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. При экспертизе проектов утилизации САО необходимо рассматривать весь технологический процесс, особенно те этапы, где возможны выбросы радиоактивных и химических веществ (выгрузка отработанных тепловыделяющих сборок, газовая резка и зачистка швов).

2. При разработке проектов утилизации необходимо учитывать вклад проектируемой технологии утилизации в формируемые уровни радиационных и химических загрязнений.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА РЕКСОД® ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ РАЗВИТИЯ ЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАДИОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ И ЛЕЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ОРФАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Д.А.Егорова, И.В.Чурилова

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург
e-mail: degorova@hpb-spb.com

Препарат Рексод® – лиофилизат для приготовления раствора для инъекций (ЛСР-007164/09-100909), разработан в ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России. Основное действующее вещество - рекомбинантная супероксиддисмутаза человека. Эффективность Рексод® была доказана для профилактики и лечения синдрома имплантации костного цемента при эндопротезировании крупных суставов; терапии ожогового и травматических шоков, острых и хронических заболеваний печени; комплексной терапии различных форм эпилепсии; лечения возрастной макулодистрофии. Терапия препаратом Рексод® является патогенетической, действующей на наиболее важное звено патологического процесса, что отличает её от большинства используемых схем антиоксидантной и противовоспалительной терапии. Для дальнейшего расширения сферы применения Рексод® была проведена оценка эффективности препарата в профилактике развития лучевых реакций у больного в период лучевой терапии и после нее, а в лечении некоторых орфанных заболеваний.

Радиотерапия является одним из существенных элементов лечения онкологических больных, однако используемое ионизирующее излучение способствует повреждению здоровых тканей вблизи облучаемой зоны. Согласно литературным данным, возникающие лучевые реакции являются следствием нейроэндокринной и иммунной дисрегуляции на фоне генерации активных форм кислорода (АФК) при разложении воды и нарастающего антиоксидантного дефицита. Процесс усугубляется образованием дополнительного пула АФК при участии фагоцитирующих клеток.

В Медицинском радиологическом научном центре (г.Обнинск) были обследованы 55 пациентов с различными злокачественными заболеваниями. Рексод® вводили ежедневно внутривенно в физиологическом растворе в дозе 16 мг (группа 1) или 32 мг (группа 2). Препарат использовали в последние пять дней проведения лучевой терапии, либо в любой период проведения лучевой терапии при появлении первых признаков лучевой реакции. Была показана хорошая переносимость препарата - применение Рексод® во время лучевой терапии привело к снижению числа ранних лучевых реакций более чем у 73 % больных. Наиболее эффективной оказалась разовая доза 32 мг, которая статистически достоверно предотвращает развитие ранних лучевых реакций.

Конкурентными преимуществами препарата Рексод® является то, что он не снижает основной цитолитический и цитостатический эффекты ионизирующего излучения и не воздействует на основной противоопухолевый эффект лучевой терапии.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) относится к орфанным заболеваниям. В некоторых случаях БАС может быть обусловлен мутациями в гене СОД-1, когда основным патогенетическим фактором служит цитотоксическое действие дефектного фермента. Применение препарата Рексод® в этом случае является патогенетически обоснованным. Оценку эффективности препарата Рексод® в терапии лечения БАС проводили в клинике неврологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова. Были обследованы 5 пациентов с различной степенью выраженности заболевания. Рексод® вводили внутривенно в физиологическом растворе в дозе 16 мг, в течение 3-5 месяцев. Применение препарата позволило отказаться от использования воротника Шанца у 2 пациентов и показало увеличение мышечной силы у всех пациентов.

Поздняя кожная порфирия (ПКП) также относится к орфанным заболеваниям, в патогенезе которых ведущую роль играет развитие окислительного стресса. Заболевание характеризуется поражением печени, нарушением порфиринового обмена на фоне усиления перекисного окисления липидов и снижения активности СОД. Оценку эффективности препарата Рексод® в терапии ПКП проводили в Клинике кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова. Были обследованы 47 пациентов с различными характеристиками клинической картины. Рексод® вводили внутривенно в физиологическом растворе в дозе 16 мг курсом 5-7 инъекций в течение 20 дней. Применение препарата показало улучшение клинической картины, биохимических показателей крови и порфиринов мочи, увеличение сроков ремиссии, регресс активных кожных высыпаний и сокращение длительности их проявления на 7-10 дней. Кроме того, у пациентов был выявлен эффект снижения фотосенсибилизации при ультрафиолетовом облучении.

Полученные данные свидетельствуют о возможности расширения показаний к применению препарата Рексод® в данном спектре терапевтического воздействия.

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК У РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

В.Ю. Конева

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: koneva_vy@mail.ru

На сегодняшний день процесс уничтожения химического оружия завершился, и объекты хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО) находятся в процессе выведения из эксплуатации, перепрофилирования и конверсии.

В связи с этим, целью нашей работы был мониторинг процессов повреждения ДНК у персонала данных объектов для оценки степени мутагенной нагрузки комплекса производственных факторов на организм человека и выявлении работающих, нуждающихся в дополнительном обследовании и при необходимости в лечении. Для мониторинга повреждений ДНК у обследованных лиц определяли уровень аутоантител к двуспиральной ДНК (дсДНК). Данное исследование было выбрано, поскольку из ряда показателей, по результатам исследований наших коллег (Галиева Л.Д., Пименова М.Н., 2012 г.), оно было наиболее информативным для изучения влияния ФОВ на ДНК человека.

Был обследован 261 работник на 4 объектах уничтожения химического оружия «Марадыковский», «Почеп», «Щучье» и «Леонидовка». Диагностика включала в себя определение уровня антител к дсДНК в плазме крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест систем фирмы «ORGENTEC Diagnostika GmbH», а также анкетирование, с целью выявления дополнительных факторов (кроме профессиональных), которые могли оказать влияние на изменение частоты повреждений ДНК.

Результаты исследования показали, что в зависимости от степени контакта с фосфорорганическими отравляющими веществами (ФОВ) статистически значимых различий в частоте изменений уровня аутоантител между группами работников выявлено не было. Тем не менее, повышенный уровень антител к дсДНК наблюдался у трети работников всех ОХУХО. В зависимости от объекта доля лиц с измененными показателями ауто-АТ к дсДНК распределялась следующим образом: «Марадыковский» - 36,7%, «Щучье» - 36,7 %, «Почеп» - 30,8% и «Леонидовка» - 23,5%.

Среди работников на всех объектах было выделено 24 человека (8,8% случаев) с повышением уровня аутоантител к двуспиральной ДНК в 1,5 раза, а именно на «Марадыковский» - 8,2 %, «Щучье» - 14,3 %, «Почеп» - 11,5 % и «Леонидовка» - 3,9 %.

Таким образом, в период выведения ОХУХО из эксплуатации среди работников, имевших контакт с ФОВ у трети отмечается повышение уровня антител к дсДНК, что требует дальнейшего изучения влияния экзогенных негативных факторов на организм обследуемых.

Полученные результаты анализа антител к дсДНК определяют важность проведения цитогенетического обследования данной когорты лиц с целью оценки и прогнозирования риска отдаленных неблагоприятных последствий воздействия комплекса производственных факторов.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.И. Короткевич, Е.Г. Тихонова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), Москва
e-mail: evgeshashibanova@gmail.com

Онкология – одна из острых проблем медицины, т.к. смертность от злокачественных новообразований занимает 2-ое место после сердечно-сосудистых заболеваний, и за последние 50 лет этот показатель в экономически развитых странах увеличился в 2-3 раза. Наиболее распространенным злокачественным онкологическим заболеванием среди мужчин является рак предстательной железы (РПЖ). Рост раковых клеток стимулируется андрогеновыми гормонами, поэтому одно из основных направлений терапии рака предстательной железы основано на применении специфичных ингибиторов биосинтеза андрогенов. Ключевым ферментом при синтезе этих гормонов является цитохром P450 CYP17A1. В настоящее время на российском фармацевтическом рынке представлен только один препарат, обладающий указанным выше механизмом действия – Абиратерон (Зигита®, Патеон Инк., Канада). Однако Абиратерон имеет ряд недостатков, среди которых: сложный многостадийный синтез, высокая стоимость курса лечения (от 200 тыс.руб.), низкая биодоступность, развитие при приеме препарата артериальной гипертензии, астении, инфекции мочевыводящих путей и других нежелательных и опасных побочных эффектов. Все это значительно снижает эффективность лечения, ограничивает применение препарата у некоторых слоев населения и ухудшает качество жизни пациентов. Поэтому разработка новых безопасных, высокоэффективных, а также экономически доступных лекарственных средств для лечения РПЖ, специфически снижающих уровень андрогенов, является актуальной задачей.

В ИБМХ было синтезировано новое фармакологически активное соединение – ингибитор цитохрома P450 CYP17A1, представляющий собой оксазолиновое производное стероидного ряда 17(20)Е-прегна-5,17(20)-диена. На его основе был разработан синтез пролекарства путем реакции конъюгации с олеиновой кислотой. Полученное соединение полностью нерастворимо в воде. Однако, наличие у молекулы жирнокислотного остатка – «мембранный якорь» – позволяет пролекарству встраиваться в фосфолипидные наночастицы.

Для получения наночастиц, нагруженных пролекарством, была использована технология, разработанная в Лаборатории фосфолипидных нанолекарств и транспортных систем ИБМХ, которая заключается в гомогенизации под высоким давлением (1000 атм) водного раствора растительных фосфолипидов (соевый фосфатидилхолин) и лекарственного соединения. Использование криопротектора (мальтозы) позволило получить ГЛФ в виде лиофильно высушенного порошка под условным наименованием Алсевирон, который при разведении водой образует ультратонкую эмульсию.

Для проведения исследований специфической активности, фармакокинетики и биобезопасности Алсевирона была наработана опытная партия ГЛФ. Исследование фармакокинетических параметров Алсевирона в крови и некоторых органах (печень, почки, семенники, предстательная железа) показало, что его фармакокинетика носит дозозависимый характер, а экскреция производится как через почки, так и с каловыми массами. Сравнительные исследования Алсевирона и Абиратерона показали, что Алсевирон обладает более высокими биодоступностью (выше в 10 раз) и цитотоксической активностью (выше в 2,6 раз). В эксперименте по оценке влияния Алсевирона на экспрессию гена KLK3 в клетках опухоли, который кодирует простат специфичный антиген (ПСА) и экспрессия которого активирует рост опухолевых клеток, отмечено снижение транскрипции гена, что подтверждает способность Алсевирона ингибировать биосинтез андрогенов.

При изучении острой токсичности при однократном введении максимально возможной дозы 62,50 мг/кг по действующему веществу (пролекарство), что в 88 раз больше, чем терапевтическая доза для человека, LD50 не была достигнута. В результате изучения общетоксического действия Алсевирона не было выявлено значительных нарушений функционального состояния основных органов и систем организма и местнораздражающего действия. Результаты изучения специфических видов токсичности показали отсутствие активации гуморального и клеточного звена иммунитета, аллергических свойств, Алсевирон не оказывал влияния на генеративную функцию и не обладал цитогенетической и мутагенной активностью. Также не обнаружено генотоксического действия в экспериментах *in vitro* и *in vivo* в эквитерапевтической и максимально возможной субтоксической дозах.

Таким образом, можно сделать следующие выводы: 1) разработано новое лекарственное средство для лечения РПЖ, имеющее удобную для хранения и транспортировки лекарственную форму; 2) ГЛФ при разбавлении водой образует ультратонкую эмульсию с высокой биодоступностью фармакологически активного компонента; 3) Алсевирон эффективно ингибирует синтез тестостерона в экспериментах *in vitro* и *in vivo*; 4) обладает высокой цитотоксичностью, является малотоксичным соединением и проявляет высокую

безопасность. Предполагается, что Алсевирон сможет конкурировать с Абиратероном на отечественном фармацевтическом рынке.

Работы были выполнены на основании Государственного контракта № 14.N08.11.0107 «Доклинические исследования лекарственного средства на основе оксазолинового производного для терапии рака предстательной железы».

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОЙ КОМПОЗИЦИИ НАНОФОРМЫ ХЛОРИНА Е6 С ПРОНИКАЮЩИМ ПЕПТИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIRO

Л. В. Кострюкова, Е.И. Короткевич, В.Н. Прозоровский, Т.И. Торховская, Н.В. Медведева,
О.М. Ипатова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский
институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва
e-mail: lyubov.kostryukova@ibmc.msk.ru

Хлорин е6 один из широко применяемых фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии в борьбе с онкологическими заболеваниями. Однако препараты на его основе обладают рядом недостатков (низкая растворимость, медленное выведение из организма, накопление ФС в клетках здоровых тканей). Одним из подходов устранения данных недостатков является снабжение хлорина е6 системами доставки.

Для повышения специфичности накопления в опухолевых клетках в настоящее время эффективным подходом для этого может быть использование т.н. клеточно-проникающих (cell-penetrating - CPP) пептидов. Показано, что конъюгация или встраивание этих агентов в транспортирующие фармакологически активный компонент наночастицы приводит к повышению интернализации лекарства в клетку, что сопровождается возрастанием эффективности действия [1]. Одним из ССР является пептид на основе аргинина: показано, что олигоаргинин способен увеличивать интернализацию различных веществ [2].

Ранее в ИБМХ была разработана композиция хлорина е6, снабженного наносистемой транспорта на основе растительных фосфолипидов [3]. Для повышения эффективности действия хлорина е6 к разработанной композиции был добавлен гептаргинин (R7) в соотношении хлорин:R7=1:6. Размер частиц полученной композиции с гептаргонином составил (27 ± 2) нм, ζ -потенциал был $(1,0 \pm 0,5)$ mV. При этом процент встроенного в наночастицы хлорина е6 составлял не менее 90%, количество ассоциированного с наночастицами R7 - 83%.

Для проверки эффективности действия новой композиции исследовали изменение интернализации хлорина е6 в клетки линии Нер G2. О проникновении хлорина е6 в клетки Нер G2 судили по разности связывания ФС с клетками при 37°C и 4°C (рис.1).

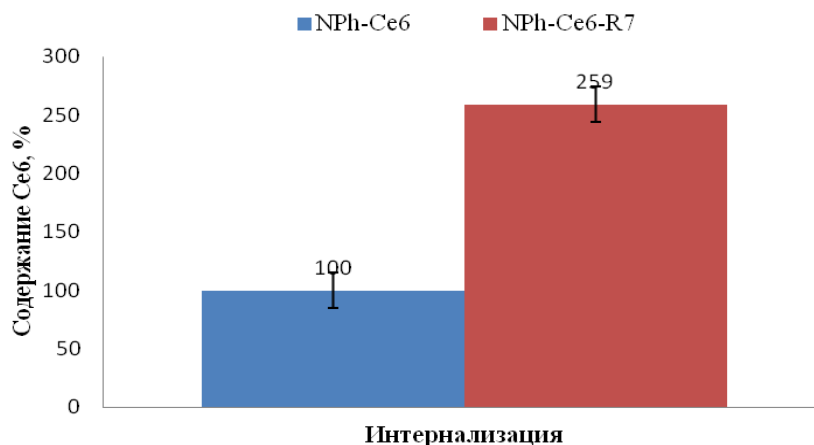


Рисунок 1 - Проникновение (интернализация) хлорина е6 в клетки HepG2 после 4 часов инкубации, где NPh-Ce6 - хлорин е6 в фосфолипидных наночастицах; NPh-Ce6-R7 - хлорин е6 в наночастицах с добавлением гептаргина в соотношении хлорин / R7 1:6

Как видно из рисунка 1 при использовании хлорина е6 в фосфолипидных наночастицах с добавлением гептаргина, происходило увеличение проникновения в клетки основного вещества. Повышение проникновения хлорина е6 в клетки в составе разработанной композиции, можно объяснить тем, что пептид может способен индуцировать опухолевую специфичность сконструированных наночастиц за счет снижения поверхностного отрицательного заряда за счет взаимодействия с повышенно экспрессирующимся на опухолевых клетках ферментом карбоангидразой - трансмембранный белок с протеогликановым сегментом, для которого показано преобладание отрицательного заряда за счет высокого уровня дикарбоновых аминокислот.

Таким образом, добавлением клеточно-проникающего пептида к хлорину е6 в фосфолипидных наночастицах увеличивает эффективность его действия на опухолевых клетках.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

Литература

- [1] Heitz F., et all // Br. J. Pharmacol. 2009. V. 157. P. 195–206.
- [2] Futaki S. // Biopolymers (Peptide Science). 2006. Vol. 84. P. 241–249
- [3] Kostryukova L.V. et all// FEBS Open Bio. 2018. Vol. 8, N 2. P. 201-210.

ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СНИЖЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ
МЫШЬЯКСОДЕРЖАЩИХ ВОДНЫХ ОТХОДОВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МЕРОПРИЯТИЙ
ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ОБЪЕКТАХ ПО
УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

А.Н. Ларионов, А.С. Лякин, М.В. Ферезанова, И.В. Артемьев, А.С. Кочкин
Федеральное бюджетное учреждение «Федеральное управление по безопасному хранению и
уничтожению химического оружия при Министерстве промышленности и торговли
Российской Федерации», г. Москва
e-mail: fubhuho@mil.ru

В результате уничтожения авиационных химических боеприпасов, содержащих ипритно-люизитные смеси на объекте по уничтожению химического оружия в пос. Мирный Кировской области образовалось ≈ 335 т мышьяксодержащих сточных вод (МСВ). Проведение операций по промывке изделий определенными композициями органических и неорганических реагентов привело к образованию в сточных водах смеси ряда органических веществ с высокими температурами кипения, а также компонентов, обуславливающих высокое значение рН среды. Эти факторы предопределили поиск методов и способов, направленных на снижение концентрации мышьяка для окончательной утилизации МСВ.

Выбор рациональных методов и способов очистки сточных вод от мышьяка зависит во многом от выбора получения осадка, из которого мышьяк можно выделить для дальнейшей утилизации, либо осадка, имеющего минимальную растворимость, для подготовки его к последующему захоронению.

Известные методы и способы очистки сточных вод от кислородных соединений мышьяка предусматривают:

- осаждение его в форме арсената кальция, в том числе в присутствии ионов трехвалентного железа, меди, цинка, свинца и других металлов;
- осаждение при высокой температуре и давлении;
- электролиз;
- восстановление водородом;
- извлечение ионным обменом, жидкостной экстракцией, мембранными методами, ионной флотацией;
- применение «пассивных и активных биологических процессов», флотационного выделения осадка.

Методы осаждения мышьяка с использованием извести и солей железа (III) сравнительно дешевы, достаточно эффективны, в большинстве случаев обеспечивают очистку сточных вод до уровня санитарных норм и удовлетворительные свойства осадков при хранении, поэтому и получили наибольшее применение.

Технологический процесс переработки промышленных МСВ на объекте по уничтожению химического оружия в пос. Мирный Кировской области включает в себя следующие технологические стадии:

реагентная очистка МСВ от соединений мышьяка;

капсулирование образующейся твердой фазы, содержащей соединения мышьяка в форме сульфидов;

утилизация очищенной жидкой фазы со стадии реагентной очистки МСВ от соединений мышьяка путем ее направления для «затворения» цемента в процессе бетонирования твердой фазы реагентной очистки МСВ.

Исследования состава МСВ показывают, что сточная вода является высокоминерализованным раствором, содержащим соединения мышьяка в количестве 2320 мг/л в анионной форме. Указанный вид жидких отходов имеет I класс опасности для окружающей среды (согласно требованиям приказа МПР РФ № 536).

Разработан процесс извлечения соединений мышьяка из состава МСВ реагентным способом с применением в качестве осадителя растворимых соединений лантана. Принципиально важным является то обстоятельство, что процесс осаждения протекает в сильно щелочной среде без регулирования pH среды.

Процесс осаждения является гетерофазным, но кинетически достаточно быстрым, что позволяет рекомендовать его для извлечения соединений мышьяка из растворов, имеющих pH жидкой фазы $\geq 7,5$. Процесс является достаточно простым, включая фактически две операции - осаждение и фильтрацию.

Описанный процесс испытан в рамках опытной установки (линии) на объекте по уничтожению химического оружия в пос. Мирный Кировской области. Технологически линия по реагентной очистке МСВ от соединений мышьяка укомплектована небольшим числом единиц оборудования. Установка состоит из двух составных частей: узла осаждения и узла фильтрации. Результаты опытных работ показали, что содержание соединений мышьяка после проведения очистки МСВ снижается до 40 мг/л, а класс опасности МСВ после очистки до III (согласно требованиям приказа МПР РФ № 536).

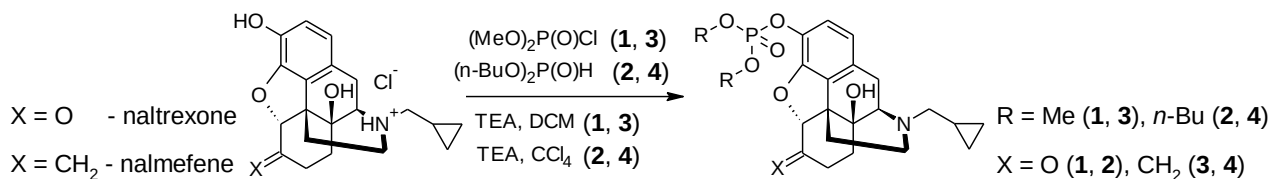
СИНТЕЗ ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ФОСФАТНЫХ ЭФИРОВ
Н.Н. Мартинович, В.В. Абзианидзе, Д.М. Кочура, Д.В. Криворотов, В.А. Кузнецов
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: nikmartinovich@gmail.com

Несмотря на медицинскую значимость опиоидных анальгетиков, их использование несет определенную опасность для жизни и здоровья человека, диктуя необходимость разработки более эффективных и безопасных лекарственных препаратов, действующих на центральную нервную систему (ЦНС), таких как анальгетики и антагонисты опиоидных рецепторов (ОР). Перенос молекул через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в ткани ЦНС и особенности их распределения в организме играют важную роль для всех лекарств. Для оценки этого процесса используют кинетические и термодинамические параметры, характеризующие скорость диффузии препаратов в мозг, в том числе определяющие их равновесное распределение в тканях мозга и крови – $\log BV$, положительное значение которого вместе с оптимальными величинами липофильности, как правило, обеспечивает эффективное поступление фармакологических средств в целевые ткани ЦНС. Так, лекарственный препарат налоксон, имеющий умеренные величины липофильности и константы связывания с ОР, недостаточно эффективно отменяет угрожающие жизни и здоровью эффекты ряда современных высоколипофильных наркотических анальгетиков [1]. Мы предполагаем, что для решения данной проблемы необходимо направить усилия на разработку и синтез пролекарств антагонистов ОР с увеличенной липофильностью и модифицированной способностью к проникновению через ГЭБ.

Цель работы – синтез и теоретико-экспериментальная оценка коэффициентов распределения $\log P$ новых фосфорных эфиров налтрексона и налмефена.

Материалы и методы. Фармакологическую оценку полученных соединений проводили с использованием комплекса программного обеспечения для ADME профилирования лекарств ACD/Percepta (ACD/Labs). $\log P$ определяли модифицированным ВЭЖХ-метод, рекомендованным ОЭСР: «Partition Coefficient (n-Octanol/Water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method» (1989 г.), адаптированный нами для оценки липофильности ЦНС-активных фармакологических средств. В качестве стандартных соединений для построения калибровочного графика вместо рекомендованных pH нейтральных соединений использовали лекарственные средства налоксон, атропин и папаверин. Калибровочная зависимость $\log P$ от логарифма коэффициента удержания имела линейный характер ($y=0,9754 \cdot \log k + 1,7706$) и позволила найти коэффициенты распределения новых антагонистов ОР.

Результаты. Получено известное соединение **1** [2], а также новые фосфорные эфиры налтрексона **2** и налмефена **3-4**, которые по проведенной оценке можно рассматривать как биодоступные пролекарства эффективных антагонистов ОР (таблица).



Параметр	ЛЕКАРСТВА			ПРОЛЕКАРСТВА			
	Налоксон	Налтрексон	Налмефен	Соед. 1	Соед. 2	Соед. 3	Соед. 4
$\log P_{\text{эксп.}}$	1,43	1,63	2,32	2,18	3,74	2,57	4,47
$\log P_{\text{расч.}}$ классическим методом	1,45±0,64	1,80±0,55	2,65±0,49	1,39±0,62	4,58±0,62	2,25±0,56	5,44±0,56
$\log P_{\text{расч.}}$ консенсуальным методом	1,53	1,63	2,42	1,51	3,76	2,33	4,73
$\log BB_{\text{расч.}}$	0,21	0,26	0,44	-0,24	0,67	-0,15	0,85
T_{max} , расч. при п/о пути поступления	129 мин	135 мин	107 мин	88 мин	76 мин	84 мин	122 мин
Биодоступность F, %, расч./справ.	19% / 2%	45% / 22%	38% / 40%	67% / -	58% / -	62% / -	51% / -

Результаты показали, что ведение алкилфосфатных групп увеличивает липофильность полученных соединений, а найденные значения $\log P$ коррелируют с расчётными. Полученные пролекарства (но не все их возможные метаболиты) имеют потенциал проникновения через ГЭБ, однако соединения **1** и **3**, содержащие диметилфосфатную группу, имеют отрицательное значение рассчитанного $\log BB$, что говорит о их незначительной способности накапливаться в тканях мозга, что, например, может уменьшать нежелательные побочные эффекты действия высоких концентраций антагонистов ОР на ЦНС при лечении состояний зависимости. Соединения **2** и **4** наоборот склонны к более быстрому перераспределению в ткани ЦНС. Таким образом, фармакологический профиль полученных соединений может быть интересен для разработки новых ЦНС-активных лекарственных препаратов для лечения острых отравлений и терапии социально-значимых заболеваний.

Литература:

- [1] Armenian P., Vo K.T., Barr-Walker J., Lynch K.L. // *Neuropharmacology*. 2017. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.10.016.
- [2] Guillaumet G. et al. *Preparation of naloxone and naltrexone esters for erythrocyte encapsulation*. patent FR 2657350. 07.26.1991.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ФЕНИЛКАРБАМАТОМ

Мелехова А.С., Лисицкий Д.С., Войцехович К.О., Бельская А.В., Михайлова, М.В.,
Бондаренко А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии
Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург
e-mail: melehovaalexandra@gmail.com

На сегодняшний день практическое использование карбаматов имеет широкое применение: лекарственные средства (неостигмина метилсульфат, пиридостигмина бромид, ривастигмин и др.), пестициды (фунгициды, гербициды, инсектициды) карбаматы – антидоты (пиридостигмина бромид, аминостигмин), а также карбаматы, как потенциальные средства химического терроризма. Карбаматы являются обратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АЦХЭ). Вследствие спонтанного разрушения комплекса фермент-карбамат происходит декарбомилирование ацетилхолинэстеразы и активность фермента восстанавливается в пределах 2-4 часов (в зависимости от поступившей дозы). Наиболее эффективные карбаматы, как правило, обладают высокой токсичностью и отнесены к категории высокотоксичных и даже чрезвычайно токсичных. Оценка токсических проявлений необходима в отношении разрабатываемых карбаматов как потенциальных лекарств и антидотов, так и возможности тяжёлых отравлений карбаматами при чрезвычайных ситуациях химической природы. Судорожный синдром является основным проявлением тяжёлого отравления карбаматами [1].

Целью исследования является изучение токсического действия карбаматов при моделировании тяжёлого отравления 2-(диметиламинометил) фениловым эфиром диметилкарбаминовой кислоты (условное название – фенилкарбамат) и выявление возможности фармакологической коррекции установленных нарушений.

Материалы и методы. Исследование выполнено на беспородных крысах-самцах, массой 180-220 г., поставленных из питомника Рапполово (Ленинградская область).

В качестве судорожного агента использовалось 2-(диметиламинометил) фениловый эфир диметилкарбаминовой кислоты гидрохлорид синтезированный в Институте токсикологии [2], который вводился белым беспородным крысам в дозе 1 мг/кг (судорожная доза, способная вызывать судорожный синдром с минимальным процентом смертности), внутривенно. Выраженность судорожного синдрома в эксперименте оценивалась по шкале Racine [3], который достигал в свою очередь 4-5 уровней. В качестве фармакологической коррекции купирования генерализованного судорожного синдрома и устранения угрозы жизни применялись: классический антидот М-холиноблокатор – атропин, в дозе 1 мг/кг и М-холиноблокатор и антагонист NMDA-рецепторов – [2-(диэтиламино)этил-1-фенил циклопентан-1-карбоксилата гидрохлорида] – карамифен, в дозе 50 мг/кг.

Лекарственная терапия проводилась на фоне развития судорожного синдрома по достижении 4-5 уровня. Оценивались следующие показатели: летальность, продолжительность судорожного синдрома, возникновение рецидивов.

Результаты. В ходе эксперимента показано, что в группе фенилкарбамата средняя продолжительность судорожного синдрома составляла 74,8 минут, летальность 16,2%, рецидивы судорог отсутствовали. После введения антидота атропина средняя продолжительность судорожного синдрома составляла 70,6 минут, летальность 7,6%, рецидивы судорог отсутствовали. Выбранный нами препарат карамифен эффективно показал противосудорожный эффект в течение 4 минут после введения. Летальность животных после введения терапии карамифеном отсутствовала, рецидивов судорог не наблюдалось.

Вывод. Таким образом, фармакологическая коррекция карамифеном показала наиболее перспективное направление в создании новых подходов антидотной терапии при отравлении карбаматами.

Литература

- [1] Петров А.Н. и др. // Вестник Российской ВМА. 2017. № 3 (59). С. 211-217.
- [2] Иванов М.Б. и др. // Эксперим. и клин. фармакология. 2017. Т. 80. С. 14-15.
- [3] Войцехович К.О. и др. // Сб. матер. Всерос. научно-практ. конф., посвящ. 55-летию ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России. 2017. С. 177-179.

СТАБИЛЬНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ БЕЛОК-БЕЛКОВОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИНДОЛИНОНОВОГО РЯДА

Д.С. Новикова, Т.А. Григорьева, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович
НИЛ «Молекулярная фармакология»,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет)», Санкт-Петербург
e-mail: dc.novikova@gmail.com

В результате скрининга диверсифицированной библиотеки соединений был выявлен ряд структур, проявляющих активность в отношении ингибирования белок-белкового взаимодействия p53-MDM2. Среди них наиболее перспективной оказалась серия соединений индолинонового ряда, показавших высокий ингибирующий потенциал в экспериментах на клеточной модели [1]. Одной из особенностей данных соединений является наличие фрагмента основания Шиффа в положении 3 индолинонового ядра (рис. 1).

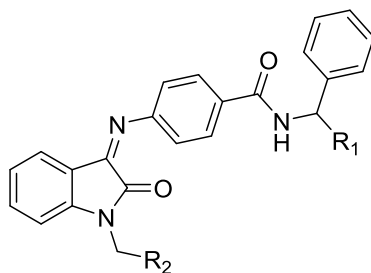


Рисунок 1 - Общая формула ингибиторов взаимодействия p53-MDM2 индолинонового ряда

Несмотря на существенную целевую активность выявленных соединений, присутствие фрагмента основания Шиффа (азометиновой группы) негативно сказывалось на их стабильности в водных растворах. Известно, что основания Шиффа, получаемые конденсацией кетонов с аминами, могут проявлять склонность к гидролизу. В нашем случае недостаточная стабильность разрабатываемых соединений стала лимитирующим фактором, ограничивающим их дальнейшее развитие как кандидатов в лекарственные препараты.

Первым подходом к повышению стабильности рассматриваемых соединений стало исключение азометиновой группы из структуры соединений путём замены атома азота на атом углерода. Однако полученный таким образом ряд 3-этилидениндолинонов показал умеренную ингибиторную активность в экспериментах *in silico*. Дальнейшая верификация полученных результатов на клеточной модели выявила отсутствие активности у модифицированных соединений, а также подтвердила участие атома азота в профиле связывания активной молекулы с мишенью, то есть необходимость наличия данного типа атома для проявления целевой активности.

Следующим подходом стала модификация непосредственно азометиновой группы. Для этого было предложено восстановление соединений, содержащих фрагмент основания Шиффа (рис. 2). Был рассмотрен ряд агентов, позволяющих селективно восстановить имин до амина. Подобранные условия реакции позволили получить продукты восстановления с умеренными и высокими выходами. Интересно, что образующиеся индолиламины претерпевают обратную реакцию образования основания Шиффа в окислительных условиях. Более детальное изучение данного феномена позволило установить, что солеобразование не только предотвращает протекание обратной реакции, но также существенно повышает растворимость модифицированных таким образом соединений.

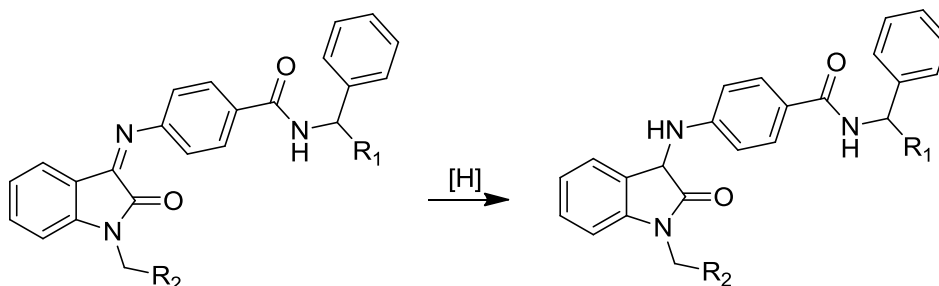


Рисунок 2 - Схема модификации выявленных соединений

В результате проведённого исследования была получена серия модифицированных соединений, проявляющих, согласно данным компьютерного моделирования, аналогичный способ связывания с мишенью. Полученные соединения также показали существенную активность в экспериментах на клеточной модели. Была проведена оценка таких характеристик соединений, как целевая активность, растворимость, устойчивость по сравнению с исходными структурами. Исследована способность индолиламинов к самопроизвольному образованию оснований Шиффа, ранее не отмеченная в литературе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант №16-13-10358).

Литература

- [1] Davidovich P. et al // *ACS Med. Chem. Lett.* 2015. V. 6. P. 856-860.

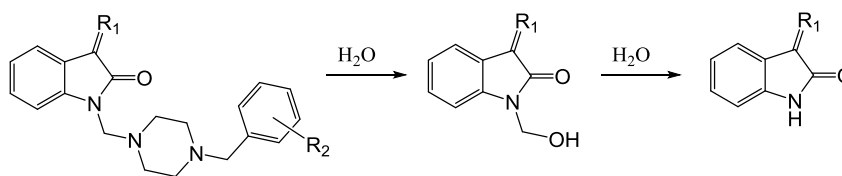
РАСПАД N-ОСНОВАНИЙ МАННИХА В СТРУКТУРЕ РЕКАТИВАТОРОВ ОНКОСУПРЕССОРА P53 – НЕДОСТАТОК ИЛИ ПРЕИМУЩЕСТВО?

Орлова Д.Д., Гарабаджиу А.В., Трибулович В.Г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»

e-mail: orlova.daria.d@gmail.com

В структуру активных соединений, возобновляющих функцию белка-онкосупрессора p53, входит относительно неустойчивый фрагмент N-основание Манниха, способный подвергаться гидролизу. По итогам исследования стабильности модельного ряда N-оснований Манниха [1, 2] выявлена зависимость скорости гидролиза от характера заместителей, которые входят в структуру рассматриваемых соединений. Так, электроноакцепторные заместители (например, хлор) ускоряют гидролиз, а электронодонорные (например, группа $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2-$) – замедляют его. При этом, по результатам биологических испытаний, соединения с электроноакцепторными заместителями в структуре проявляют повышенную активность по сравнению с соединениями с электронодонорными заместителями в структуре.



$\text{R}_2 = \text{p-Cl, H, } -\text{CH}_2\text{-O-CH}_2-, \text{ etc.}$

Схема 1 – Схема гидролиза оснований Манниха

Предстоит ответить на вопрос – как влияет повышенная гидролизуемость более активных соединений на их действие в целом. По нашим предположениям, исследуемые

соединения успевают подействовать прежде, чем они гидролизуются, после чего они распадаются на нетоксичные продукты, что способно сыграть важную роль в случае разработки потенциального лекарственного препарата.

Литература

- [1] Орлова Д.Д. и др. // *Известия СПбГТИ(ТУ)*. 2016. №36. С.72-77.
[2] Орлова Д.Д. и др. // *Журн. Общ. Хим.* 2018. Т. 88. №1. С. 52-60.

ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ ИНГИБИРОВАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЗАМЕЩЕННЫМИ 1,3-ДИГИДРО-2-ОКСО-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-КАРБОКСАМИДАМИ

Е.Д. Рован¹, П.А. Воронина², А.А. Щипалкин¹, П.П. Бельтюков¹

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)", Санкт-Петербург
e-mail: ekaterina.rovan@gmail.com

В настоящее время поиск новых препаратов для лечения и профилактики нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Альцгеймера, является актуальной задачей. Одним из подходов к поддерживающему лечению данного заболевания является использование синтетических ингибиторов ацетилхолинэстеразы [1], которые позволяют повысить концентрацию ацетилхолина, что приводит к дополнительному возбуждению нервных синапсов, компенсируя, таким образом, потерю этого нейромедиатора, вызванную гибелью холинергических нейронов.

Исследовано ингибирование ацетилхолинэстеразы из эритроцитов человека производными 1,3-дигидро-2-оксо-1Н-бензимидазол-1-карбоксамидов, на основе которых ранее были разработаны лекарственные препараты различных групп. Оценка ингибирования фермента проведена с использованием планшетной модификации метода Элмана [2].

Показано ингибирование ацетилхолинэстеразы для водорастворимых производных 1,3-дигидро-2-оксо-1Н-бензимидазол-1-карбоксамидов при предварительной инкубации фермента в присутствии исследуемого соединения в течение 20 минут при комнатной температуре в широком диапазоне концентраций. Определены значения IC₅₀.

Таблица 1 – Ингибирующие концентрации исследованных образцов

Соединение	IC ₅₀ , мМ
4375	3,68 – 5,38
4381	3,51
4383	1,03
4387	2,33

Литература

- [1] Birks J. // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2006. Issue 1.
[2] G.L. Ellman et al. // *Biochemical Pharmacology*. 1961. V. 7, P. 88-95.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ЗАЩИТА *PLANKTOTHRIX AGARDHII* В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО НОНИЛФЕНОЛОМ

А.Д. Руссу

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук;
Санкт-Петербург
e-mail: angelarussu@list.ru

Нонилфенол (НФ) - гормоноподобный ксенобиотик, обладающий токсическим, эстрогенным и канцерогенным действием на живые организмы. Он широко используется в различных областях промышленности и является продуктом неполной трансформации неионогенных поверхностно-активных веществ нонилфенолэтоксилатов. НФ обнаруживается во всех компонентах экосистемы. Его содержание в поверхностных водах может достигать сотен микрограмм в литре [1].

В настоящее время в основном изучалось влияние данного ксенобиотика на высшие организмы, в то время как его воздействию на микроводоросли посвящено ограниченное количество исследований. Изучение влияния органических токсикантов, в том числе НФ, на микроводоросли, особенно на токсигенные цианобактерии, важно для оценки экологического риска органических загрязнений.

Целью данного исследования было исследование ферментативной защиты цианобактерий *Planktothrix agardhii* 1113, доминирующих в водоёмах Северо-Запада РФ в период их "цветения", на окислительный стресс, вызванный НФ.

Результаты исследования показали, что НФ в концентрациях выше значения NOEC (0,4 мг/л) оказывает существенное ингибирующее действие на рост цианобактерий *P. agardhii* (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние нонилфенола (2 мг/л) на рост, содержание малонового диальдегида (МДА), и активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы цианобактерий *P. agardhii*

Время, сутки	Биомасса, % к контролю	МДА, % к контролю	СОД, % к контролю	Каталаза, % к контролю
2	40	117	146	175
4	38	286	269	390
7	53	263	175	260

Известно, что НФ вызывает в клетках микроводорослей окислительный стресс, одним из показателей которого является повышением содержания малонового диальдегида - продукта перекисного окисления липидов мембран клетки [2]. Нами показано, что ингибирование роста *P. agardhii* сопровождается значительным (до 300%) увеличением содержания МДА.

В ответ на окислительный стресс, вызванный НФ, в клетках *P. agardhii* включаются энзиматические механизмы защиты – возрастает активность ферментов-антиоксидантов супероксиддисмутазы и каталазы. СОД осуществляет превращение супероксидного аниона в кислород (O_2) и перекись водорода и является "первой линией защиты" от окислительного стресса в клетках. Каталаза, в свою очередь, ускоряет превращение H_2O_2 в H_2O и O_2 , тем самым уменьшая окислительное повреждение, вызванное перекисью водорода [3]. Как видно из таблицы 1, наибольшее ингибирование роста *P. agardhii* и максимальное увеличение содержания МДА, наблюдаемые на 4 сутки культивирования, сопровождаются наибольшим повышением активности ферментов-антиоксидантов.

Таким образом, в условиях окислительного стресса, вызванного нонилфенолом, происходит ингибирование роста цианобактерии *P. agardhii*, сопровождающееся значительным увеличением содержания МДА в клетках. При этом наблюдается существенное повышение активности окислительных ферментов, что является защитной адаптивной реакцией клеток цианобактерии на воздействие ксенобиотика.

Литература

- [1] Soares A. et al. Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters // *Environment International*. 2008. Vol. 34, No. 7. P. 1033-1049.
- [2] Wan, J. et al. Effect of erythromycin exposure on the growth, antioxidant system and photosynthesis of *Microcystis flos-aquae* // *J. Hazard. Mater.* 2015. 283. P.778–786.
- [3] Carvalho A.M. et al. Circadian protection against oxidative stress in marine algae // *Hypnos*. 1 (Suppl. 1). 2004. P. 142–157.

НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ФАРМАКОКИНЕТИКЕ МЕЛЬДОНИЯ

П.Н. Сорокоумов, Е.И. Савельева, А.С. Радилов

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: sorokoumov_pavel@mail.ru

Мельдоний (3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate; милдронат, MET-88; quaterine) был синтезирован И.Калвиншем (I. Kalvinsh) в Институте органического синтеза в Латвии и первое применение нашёл в качестве противоишемического препарата. В настоящее время используется в качестве официально разрешенного лекарственного средства в РФ и преимущественно в странах постсоветского пространства. Мельдоний является структурным аналогом карнитина, который содержится в организме человека, млекопитающих и даже растений. Введение мельдония понижает внутриклеточную концентрацию свободного карнитина и поэтому сдерживает окисление жирных кислот и облегчает расщепление глюкозы при ишемии. Несмотря на отсутствие литературных данных о допинговых эффектах мельдония, с 1 января 2016 года он запрещен в спорте. Последовавшие за этим многочисленные случаи обнаружения мельдония в допинг-пробах спортсменов, прекративших употребление препарата в установленные сроки, свидетельствовали о том, что имевшиеся сведения о фармакокинетике мельдония должны быть пересмотрены.

Целью настоящей работы было углубленное исследование распределения мельдония у лабораторных животных (крыс).

Характер депонирования мельдония в органах и тканях были исследованы в течение 7-ми дневного курса перорального введения мельдония в дозе 200 мг/кг и в период 4 недель по окончании курса.

Определение содержания мельдония в биологических образцах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения (ВЭЖХ-МС/МС).

Полученные данные представлены в таблице 1 и на рисунке 1

Таблица 1 – Распределение мельдония по органам и тканям

Время после введения препарата	Величина	Концентрация в органах и тканях, мкг/г								
		Сердце	Печень	Почки	Селезёнка	Мозг	Жир	Кость	Бедренная мышца	Жевательная мышца
2,5 часа	Сред.	8,00	238,20	144,90	15,00	2,40	3,42	3,47	5,27	3,16
	Стд. Ош.	0,60	39,10	30,30	2,50	0,67	0,43	2,06	0,39	0,45
1 сутки	Сред.	16,10	43,70	18,60	10,80	2,89	0,82	2,85	7,52	4,07
	Стд. Ош.	1,30	3,60	0,80	0,80	1,20	0,22	0,30	1,26	0,44
8 суток	Сред.	0,84	0,22	0,20	0,36	0,41	0,46	0,51	1,19	0,49
	Стд. Ош.	0,23	0,13	0,04	0,15	0,15	0,23	0,20	0,16	0,18

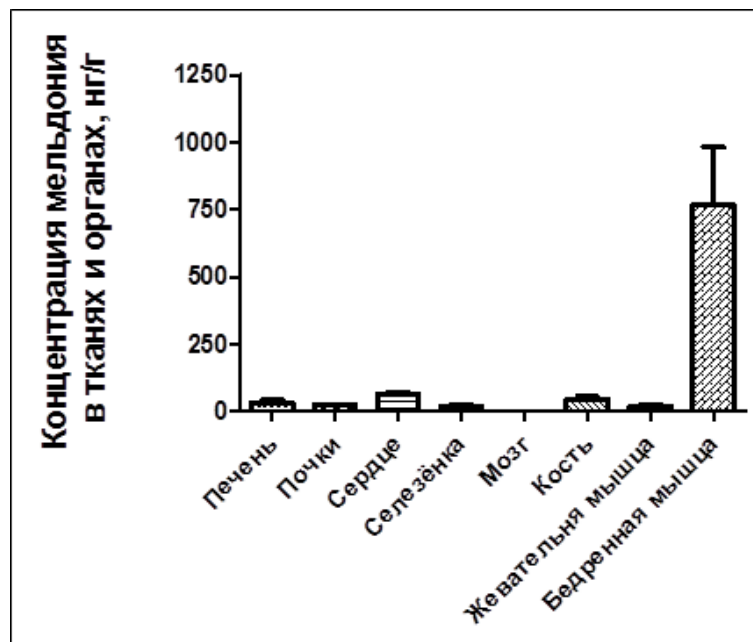


Рисунок 1 - Усредненная картина перераспределения мелатонина в органах и тканях крыс через 4 недели после окончания перорального ежедневного приема в течение 7-ми дней в дозе 200 мг/кг в сутки

Из полученных данных следует, что мелатонин при однократном введении крысам в первые часы после введения в основном депонируется в печени и почках, в меньшей степени в других органах и тканях. Через сутки доля мелатонина в других органах и тканях начинает увеличиваться, но его содержание в печени преобладает над другими органами и тканями. Через 7 суток, концентрация мелатонина в печени и почках становится значительно ниже чем в других органах, максимальная его концентрация обнаружена в бедренной мышце. Через 28 дней после курсового приёма концентрация мелатонина в бедренной мышце значительно превышает его содержание в других органах и тканях. В мозге крыс через 28 суток мелатонин не был обнаружен даже на качественном уровне.

МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ОПТИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ L- И D-РИБОЗЫ,
ОСНОВАННЫЙ НА РАЗЛИЧИИ В СКОРОСТИ ПРОТЕКАНИЯ РЕАКЦИЙ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИЗОМЕРОВ С ЦИКЛОГЕКСАНОНОМ

М.П. Ступникова, О.М. Демидов, Е.В. Филатов

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт прикладной акустики», Дубна

e-mail: marina.stupnikova@niipa.ru

Известно, что хиральность лежит в основе клеточного синтеза, высокоспецифичных иммунных и ферментативных реакций, всех важнейших процессов в живом организме. Фармакологическое действие лекарственных средств определяется степенью соответствия рецептору по принципу «ключ-замок». Для обеспечения оптимального фармакологического действия лекарственных препаратов необходима хиральная чистота препаратов, обеспечивающая их использование в более низких дозах и с меньшим риском побочных реакций.

Разработан метод идентификации оптических изомеров L- и D-рибозы, основанный на различии в скорости протекания реакций взаимодействия изомеров с циклогексаноном, в присутствии п-толуолсульфокислоты, с последующим расчетом площадей хроматографических пиков продуктов реакции. В результате различного пространственного строения L- и D-рибозы взаимодействие по функциональным группам в молекуле рибозы с активными реагентами протекает с различными энергиями активации, при этом скорость протекания реакции с L-изомером значительно выше, в связи с более выгодным пространственным расположением реакционно-активных функциональных групп молекул рибозы. Скорость взаимодействия оптических изомеров с реагентом определяли по площади хроматографического пика целевого продукта реакции. В качестве катализатора использовали п-толуолсульфокислоту, вещество, традиционно используемого в реакциях конденсации спиртов с кетонами или альдегидами.

В качестве активных реагентов реакции конденсации использовали ацетон, метилэтилкетон, о-хлорбензальдегид, циклогексанон. Циклогексанон, для которого разница в образующихся площадях пиков составляет 12,2 раза, оптимизирован для дальнейших исследований. Образующиеся продукты реакции с циклогексаноном по каждому отдельному активному компоненту имеют одинаковое время удерживания и идентичные масс-спектры по главному и фрагментированным ионам (рисунок 1, 2).

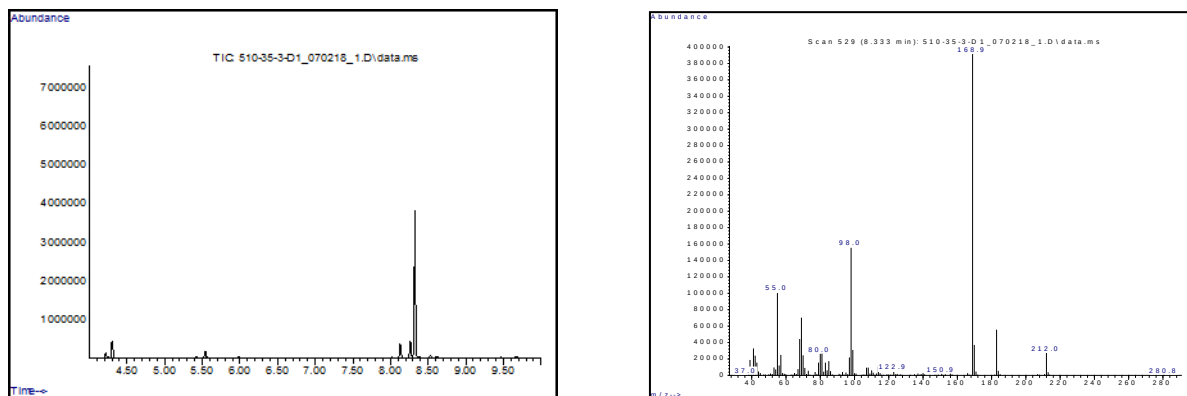


Рисунок 1 – Хроматограмма и масс-спектр продукта реакции конденсации D-рибозы с циклогексаноном

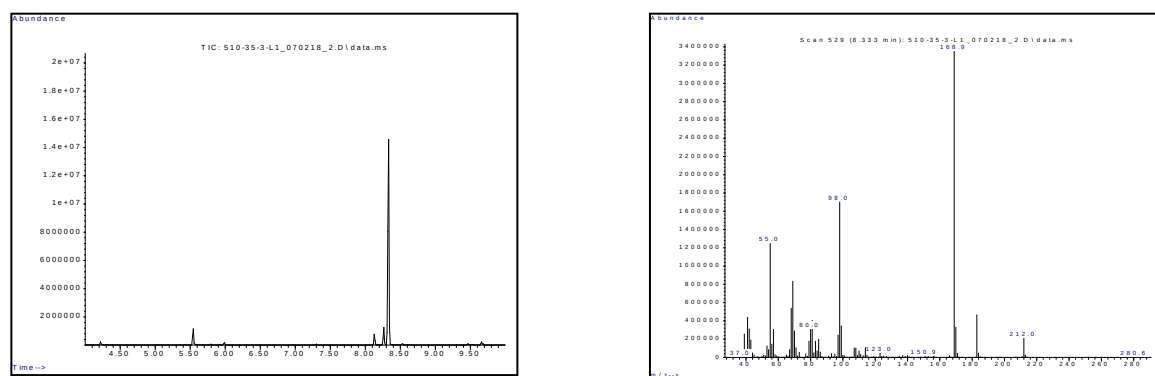


Рисунок 2 – Хроматограмма и масс-спектр продукта реакции конденсации L-рибозы с циклогексаноном

Установили оптимальное количество п-толуолсульфокислоты, добавляемой в реакционную массу для достижения более заметного различия в скорости протекания реакции циклогексанона с L- и D-рибозой, составившее 0,1 % от массы реакционной смеси. При использовании меньших количеств катализатора, реакция идет значительно медленнее и площади пиков целевых продуктов приблизительно равны.

Наибольшие различия площадей пиков продуктов конденсации оптических изомеров L- и D-рибозы с циклогексаноном наблюдаются в период 5-15 мин. Для подтверждения полученной закономерности были исследованы смесевые составы оптических изомеров L- и D-рибозы, для чего был использован оптимальный состав реакционной смеси с содержанием п-толуолсульфокислоты в количестве 0,1 % от массы реакционной смеси. Исследуемая закономерность подтвердилась и для смесевых составов изомеров. С увеличением содержания в реакционной массе более реакционноспособного L-изомера рибозы наблюдается тенденция к увеличению скорости образования целевого продукта.

Полученные результаты перспективны для идентификации оптических изомеров лекарственных соединений газохроматографическими методами анализа.

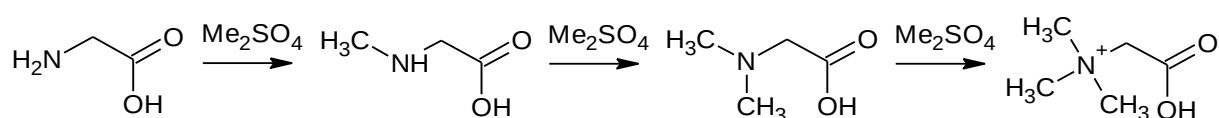
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНИМОСТИ МЕТОДА ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ПРОТЕКАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Л.С. Чистый, Ю.В. Челуснова

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: mehrn.q2@gmail.com

Метод ЯМР-спектроскопии является одним из наиболее широко применяемых в научных исследованиях. Традиционно ЯМР используется для качественного анализа химических соединений. Помимо качественных исследований химических соединений, обработка ЯМР спектров позволяет получить количественные данные, которые могут быть использованы для контроля хода химической реакции.

В данной работе проводилось исследование реакции алкилирования глицина диметилсульфатом в водном растворе щелочи. Алкилирование проходит последовательно через два полупродукта, что видно на представленной схеме:



В качестве растворителя, в данной реакции, использовалась тяжелая вода (D_2O). Дополнительно в реакционную массу был введен ацетонитрил, в качестве внутреннего стандарта для снятия ЯМР спектров. Выбор ацетонитрила в качестве стандарта был обусловлен тем, что он не взаимодействует с компонентами реакции и его сигнал на ЯМР спектре не перекрывает сигналы компонентов реакции. Пробы отбирались через равные промежутки времени (10 мин.) напрямую из реакционной массы и использовались для снятия ЯМР спектров без дополнительной пробоподготовки.

ЯМР спектры реакционной массы, в порядке увеличения времени, представлены на рисунке 1. Ход реакции контролировался измерением значения площади сигнала исходного соединения и продукта реакции относительно сигнала стандарта (ацетонитрил). По достижению площадью сигнала продукта реакции значения, примерно равного площади исходного компонента, в начале реакции, и по исчезновению сигналов исходного соединения и полупродуктов, реакция была остановлена.

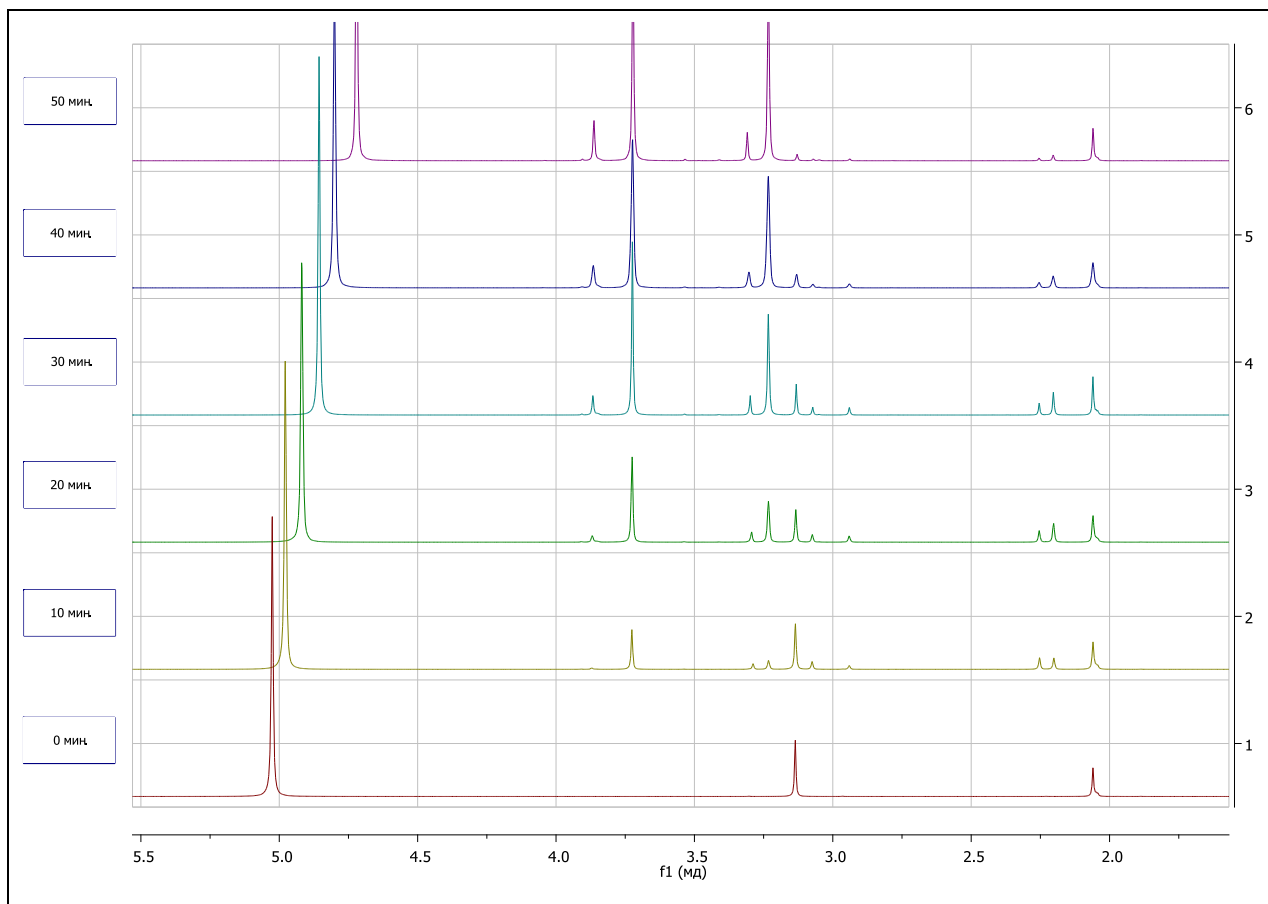


Рисунок 1 - ЯМР спектры реакционной массы

Выбор метода ЯМР для мониторинга хода данной реакции обусловлен следующими факторами:

- Малая длительность анализа, что позволяет получать результаты прямо в процессе работы;
- Отсутствие ограничений по значению pH для проведения анализа;
- Отсутствие необходимости подбора условий анализа;
- Возможность индикации соединений, не обнаруживаемых иными физико-химическими методами.

Основным минусом использования метода ЯМР для мониторинга хода реакции является необходимость проведения реакции в дорогостоящих дейтерированных растворителях.

Использование метода ЯМР позволяет получать количественные данные о ходе химической реакции высокой степени достоверности с минимальными трудозатратами.

АКТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ИНТЕРМЕДИАТЫ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Е.Ю. Чистякова, С.В. Оковитый

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
e-mail: elizaveta.chistyakova@pharminnotech.com

Современные лекарственные средства в зависимости от их способности влиять на физическую работоспособность можно условно разделить на 3 группы: не оказывающие влияния, снижающие и повышающие физическую работоспособность. Последняя группа в иностранной литературе получила название – эргогенические средства. Наиболее актуально изыскание среди них средств недопингового, неистощающего характера, известных как «актопротекторы» [1].

Объектами исследования были выбраны комбинированные соединения диметиламиноэтанола (ДМАЭ), содержащие интермедиаты цикла трикарбонновых кислот, химическое строение которых позволяет предположить наличие у данных веществ актопротекторной активности [2].

Целью работы является оценка способности данных соединений повышать физическую работоспособность у мелких лабораторных животных.

В качестве тест-систем были использованы беспородные мыши-самцы в возрасте 3 месяцев. Животные были рандомизированы на несколько групп (опытные группы, получавшие различные соли производного ДМАЭ: фумарат, L-малат, альфа-кетоглутарат и сукцинат; положительный, отрицательный контроль и интактная группа). В качестве препарата сравнения использовали эталонный актопротектор – этилтиобензимидазол.

Анализ влияния исследуемых соединений на физическую работоспособность осуществляли на тренированных животных при их курсовом применении в течение 1 месяца. Тренировка мышей заключалась в их ежедневном принудительном беге на беговой дорожке «тредмил» (Treadmill, TSE Systems, Германия) в течение 1 часа. Все препараты вводились внутривентрикулярно: за полчаса, либо сразу после тренировки в зависимости от схемы эксперимента. Показатели изменения физической работоспособности снимали до начала эксперимента (фон), спустя 2 и 4 недели тренировок. Для моделирования динамических нагрузок, а также оценки координации движений использовали «вращающийся стержень» при некритической скорости вращения вала (20 оборотов в минуту).

При режиме введения препаратов до тренировки: через 2 недели изменений в динамической выносливости не наблюдали; через 4 недели все исследуемые препараты превосходят фумарат, что сопоставимо с результатами контрольной группы, получавшей этилтиобензимидазол.

При режиме введения препаратов после тренировки: через 2 недели динамическая выносливость у группы, получавшей малат сопоставима с препаратом сравнения и превосходит другие группы; через 4 недели данный показатель выше у групп, получавших фумарат. В данном случае можно предположить расходование интермедиатов на восстановительные процессы, при этом они не включаются в активную работу мышц, как это происходит при введении до тренировки.

При режиме введения препаратов до тренировки: через 2 недели статическая выносливость достоверно выше у групп, получавших малат и кетоглутарат; через 4 недели все исследуемые препараты показали эффективность, сравнимую с положительным контролем, и превосходящую фумарат. Известно, что фумаратсодержащие препараты оказывают наибольший эффект в условиях жёсткой гипоксии (фактически, аноксии). В ходе данного эксперимента моделировались нагрузки умеренной интенсивности (аэробный, аэробно-анаэробный режим).

При режиме введения препаратов после тренировки: через 2 недели все опытные группы превосходят «эталон», при этом лучшие результаты показали группы, получавшие малат и кетоглутарат; аналогично – через 4 недели. В данном случае можно предположить накопительный эффект и восстанавливающее действие веществ, а также рост мышечной силы.

Таким образом, по результатам статистической обработки и попарного сравнения исследуемых соединений, установлено, что сукцинат и кетоглутарат повышают динамическую выносливость при введении до тренировки и статическую выносливость – при любом режиме введения; малат повышает динамическую выносливость и силу хвата при любом режиме введения; фумарат достоверно повышает динамическую выносливость и координацию движений при введении после тренировки, однако не оказывает существенного влияния на силу хвата.

Литература

- [1] Лекарства и БАД в спорте: практическое руководство для спортивных врачей, тренеров и спортсменов / Р.Д. Сейфулла, З.Г. Орджоникидзе и др. – М.: Литтерра, 2003. – 320 с.
- [2] Шустов Е.Б. Поиск закономерностей, определяющих антигипоксическую активность соединений с ноотропным и нейропротекторным действием / Е.Б. Шустов, В.Н. Каркищенко, Х.Х. Семёнов, В.Ц. Болотова, В.Н. Юсковец // Биомедицина. 2015. – № 1. – С. 18–23.

УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРА ТАБУНА - ФТОРТАБУНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

М.Д. Шачнева, Н.Л. Корягина, Е.И. Савельева, А.И. Уколов, Е.Д. Кессених,
Н.С. Хлебникова, А.С. Радилов

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: nkoryagina@mail.ru

Несмотря на то, что Конвенция по запрещению химического оружия (ХО) была принята в 1993 году, в течение последнего десятилетия задокументирован ряд инцидентов с применением ХО (Ирано-Иракский конфликт, Сирия). Факт применения ХО может быть установлен на основании результатов анализа проб окружающей среды и биопроб человека или животных, находившихся в зоне инцидента. Определение в образцах крови (плазмы, сыворотки) фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) или их фтор-производных, регенерированных из состава фосфилированных аддуктов с белками крови, является простым общепризнанным методом установления факта воздействия ФОВ на организм. Процедуры определения зарина, зомана, фторангидридов веществ группы VX, регенерированных из состава белковых аддуктов, достаточно широко представлены в литературе, в том числе и авторами настоящей работы. Сущность методики заключается в обработке плазмы крови фторидом калия в кислой среде, извлечении образующегося фтор-производного из образца методом твердофазной экстракции и анализа методом газовой хроматографии с использованием разных способов детектирования (ПФД, МС, МС/МС, МС высокого разрешения).

Цель настоящих исследований – дополнить набор идентификационных признаков, необходимых для достоверного надежного определения маркера табуна (*N,N*-диметиламидо-*O*-этилцианфосфат, GA) - *N,N*-диметиламидо-*O*-этилфторфосфата (фтортабун). Табун относится к боевым отравляющим веществам нервно-паралитического действия и включен в Список 1 Токсичных химикатов, Приложения к Конвенции ОЗХО. Воздействие табуна, как и других ОВ G-типа, сопровождается быстрым образованием ковалентной связи между атомом фосфора молекулы ОВ и активным сайтом серина ХЭ крови Ser198. При этом в случае интоксикации заринном или зоманом выделяется фторид-ион, табуном – циано-группа. При обработке образца плазмы крови, *in vitro* экспонированной табуном, фторидом калия в кислой среде происходит образование фтортабуна. Схема реакции представлена на рисунке 1.

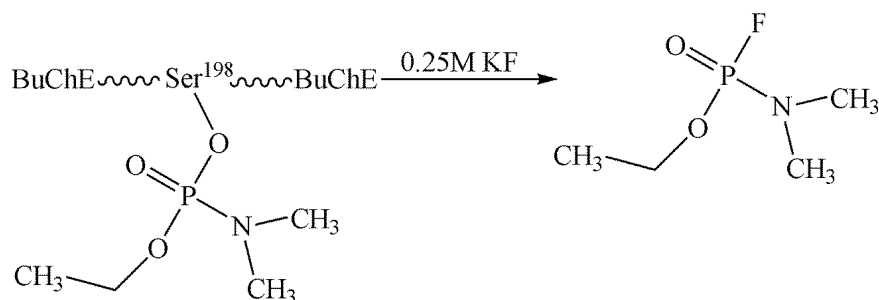


Рисунок 1 – Схема реакции реактивирования БХЭ, ингибированной табуном, с помощью фторид-иона

В доступной литературе представлены точные массы для определения фтортабуна методом ГХ-МС высокого разрешения. В настоящей работе изучены особенности масс-спектров электронной ионизации фтортабуна, полученных при реализации метода ГХ-МС/МС. Экспериментально определен индекс удерживания фтортабуна. Для определения индекса удерживания хроматографировали образцы, содержащие фтортабун, с внесением стандартной смеси реперных соединений - н-алканов C5–C44 в режиме детектирования по полному ионному току в диапазоне m/z от 45 до 550. Расчет линейного индекса удерживания (RI) был произведен в программе GCMS Solution. Величина RI на слабополярной фазе (HP-5) составила 954 ± 2 .

Хроматографические и масс-спектрометрические характеристики фтортабуна приведены в таблице 1. В скобках представлена относительная интенсивность сигнала (в процентах от максимального пика).

Таблица 1 - Хроматографические и масс-спектральные характеристики фтортабуна

Название соединения	Масс-спектр ИЭ [70 эВ, $m/z \geq 40$, $I_{\text{отн}} \geq 2\%$]	Масс-спектр в режиме SIM ГХМС высокого разрешения	ММП-ИЭ ¹ (энергия коллизии, эВ)
<i>N,N</i> -диметиламида-О-этилфторфосфат (Фтортабун) (CH ₃) ₂ NP(O)(F)OC ₂ H ₅	44(100), 43 (96), 42 (95), 126 (64), 155 (25)	155.0506 126.0115	155→126 (6) 155→44 (12) 126→42 (12)

Примечание: ¹ – ММП – мониторинг множественных реакций

Проведена успешная апробация подобранных условий идентификации методом ГХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций на образцах плазмы крови *in vitro* экспонированной табуном в рамках решения задач 3-го квалификационного теста ОЗХО по анализу биомедицинских проб.

В доступных литературных источниках способов определения фтортабуна методом ГХ-МС/МС не найдено, в библиотеках масс-спектров NIST 14, OCAD 2018 индекс удерживания данного соединения не представлен, таким образом, полученные результаты обладают научной новизной.

ЗАОЧНОЕ УЧАСТИЕ

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ДИКЛОФЕНАКА ПУТЕМ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ НА TiO_2

А.Ю. Горбунов¹, Е.П. Подольская^{2,3}, В.Н. Бабаков¹

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства

²ФГУП «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

³«Институт аналитического приборостроения РАН»

e-mail: gorbunov-a@inbox.ru

Редокс-рекции являются основными химическими процессами, определяющими направления метаболических трансформаций ксенобиотиков в организме. Расщепление экзогенных веществ часто приводит к неоднозначному протеканию ферментативных реакций и соответственно образованию целого ряда продуктов катаболизма. Гепатоксичность является причиной отзыва с рынка примерно 30% вновь выведенных лекарственных средств. Проведенные исследования показывают, что многие из препаратов, которые вызывают гепатоксичность подвергаются биоактивации, что приводит к образованию электрофильных промежуточных продуктов, способных ковалентно модифицировать биологические макромолекул путем образования стабильных аддуктов.

Известно, что сейчас невозможно внедрить препарат в лечебную практику без детального изучения его метаболизма. Традиционные методы *in vitro* моделирования метаболизма являются трудоемкими и дорогостоящими.

Перспективным и развивающимся методом моделирования метаболизма ксенобиотиков является фотокаталитическое окисление с помощью системы TiO_2 / УФ.

Суть фотокаталитических свойств TiO_2 заключается в том, что в объеме полупроводниковой частицы под действием электромагнитного излучения генерируются электрон – дырочные пары, которые при выходе на поверхность частицы TiO_2 вступают в окислительно-восстановительные реакции с адсорбированными молекулами.

В этой работе фотокаталитическое окисление в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения было использовано в качестве инструмента для моделирования окислительных путей диклофенака (DCI). На основе точного измерения массы продуктов окисления DCI были идентифицированы следующие метаболиты: DCI + O (m/z 310.0032); DCI + 2O (m/z 323.9825); DCI + 2O-2H; DCI + O-CO₂ (m/z 266.0145) и DCI + O-CO₂-2H (m/z 279.9926).

Реакционную способность образующихся продуктов окисления оценивали путем их инкубирования с глутатионом, что приводит к образованию трех аддуктов.

Таким образом моделирование метаболизма лекарственных препаратов путем фотокаталитического окисления с использованием нанопорошка TiO_2 в сочетании с УФ

облучением приводит к образованию важных промежуточных продуктов, также обнаруженных в исследованиях *in vivo*.

Важным преимуществом данного подхода является возможность получения стандартов метаболитов, химический синтез которых часто затруднен.

КРАЙНЕ ВЫСОКОЧАСТОТНАЯ ТЕРАПИЯ КАК МЕТОД ВОССТАНОВЛЕНИЯ В СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

И.Б. Сиваченко¹, Д.С. Медведев^{1,2}, Ю.А. Серёдкин¹

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург
e-mail: gpech@fmbamail.ru

Коррекция функционального состояния и восстановления функциональных резервов организма спортсменов после соревнований при различных видах спортивной деятельности является одной из ключевых проблем в спортивной медицине. Применение медикаментозных средств в спорте имеет серьезные ограничения, связанные с истощением физиологических резервов, токсическими и побочными эффектами. Одним из перспективных методов коррекции функционального состояния и восстановления функциональных резервов организма спортсменов после соревнований является метод аппаратной физиотерапии – низкоинтенсивная КВЧ-терапия. КВЧ-терапия эффективна для повышения резистентности организма спортсменов к экстремальным физическим нагрузкам, профилактики синдрома перетренированности [1].

Вместе с тем, ввиду недостаточной информированности специалистов спортивной медицины, отсутствия четких данных об эффективности применения данного метода для задач коррекции функционального состояния организма, КВЧ-терапия редко применяется в спортивной медицине, что свидетельствует о необходимости продолжения всестороннего научного изучения влияния КВЧ-терапии на функциональное состояние организма спортсменов при различных видах спортивной деятельности.

Целью исследования явилась оценка эффективности применения КВЧ-терапии для коррекции функционального состояния и восстановления функциональных резервов организма спортсменов после соревнований.

В исследовании участвовали 17 практически здоровых мужчин, в возрасте 19-31 года, занимающихся спортивной борьбой. Были сформированы 2 группы: получавшая электромагнитное излучение (n=9) и группа плацебо-контроля, получавшая имитацию воздействия (n=8). КВЧ-терапия осуществлялась в течение 10 дней и включала контрольные

исследования общих физиологических показателей и непосредственно воздействие электромагнитным излучением (или плацебо-воздействие). Тестирование проводилось на исходном уровне и на 5-ые сутки после завершения курса КВЧ-терапии.

В целях оценки влияния КВЧ-терапии на психофизиологические показатели использовались: методика оценки аэробной работоспособности, методика корректурной пробы по таблицам колец Ландольта, методика реакции различения (сложная сенсомоторная реакция), методика определения критической частоты слияния световых мельканий. Для оценки влияния КВЧ-терапии на функциональное состояние ЦНС и вегетативной нервной системы (ВНС), психомоторные процессы использовались тест на достижение и удержание максимальной мощности альфа-ритма, методика определения латентного времени простой зрительно-моторной реакции, методика «Теппинг-тест», методика оценки вариабельности сердечного ритма со спектральным анализом при одновременном проведении кардиоваскулярных проб. Так же использовалась регистрация ЭКГ, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, анализ мочи.

Установлено влияние КВЧ-терапии на функциональное состояние ЦНС и психомоторные процессы: происходит снижение показателей объема и скорости обработки информации при одновременном повышении точности выполнения работы и выносливости нервных процессов, снижение нервно-эмоционального напряжения, повышение произвольной регуляции мышечного тонуса и релаксации. Данные изменения свидетельствуют об адаптивной перестройке регуляции функций и активизации механизмов саморегуляции, развивающихся при утомлении и способствующих профилактике переутомления.

КВЧ - терапия вызывает перестройку вегетативной регуляции функций организма в сторону снижения влияния симпатического отдела и увеличения влияния парасимпатического отдела ВНС, повышается функция транспорта и утилизации кислорода и эффективность энергетического метаболизма по ваго-инсулярному типу, что актуально для раннего и позднего периодов восстановления после соревнований.

В результате исследования показана эффективность КВЧ-терапии как метода коррекции функционального состояния организма спортсменов после соревнований.

Литература

[1] Медведев Д. С. Применение низкоинтенсивной крайне высокочастотной терапии для психофизиологической реабилитации спортсменов: учебное пособие / Д. С. Медведев, И. Б. Сиваченко. – СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2018. – 64 с.

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО КОМФОРТА РАБОЧИХ I ГРУППЫ
КОНТАКТА С ФОВ НА ОБЪЕКТЕ УНИЧТОЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ В г.
ПОЧЕП ЗА 2016Г. И 2017Г.

М.Ф. Шишонок

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: gpech@fmbamail.ru

Чрезвычайно важным является определение пограничной психопатологической симптоматики начальных проявлений токсического воздействия ФОВ на человека, предшествующей клинической соматической патологии и хронической профессиональной интоксикации.

Действие психофизиологического фактора связано с высоким нервно-психическим напряжением, обусловленным риском острых отравлений, ответственностью за безопасность рабочих и качеством контроля производственных процессов, использованием средств индивидуальной защиты, сменностью работы и другими факторами, характеризующими напряженность труда.

Для оценки психофизиологического и психологического статуса были использованы следующие методики:

- «Реакция на движущийся объект» РДО (представляет собой разновидность сложной сенсомоторной реакции, т.е. такой реакции, которая помимо сенсорного и моторного периодов включает период относительно сложной обработки сенсорного сигнала центральной нервной системой).

- Простая зрительно-моторная реакция ПЗМР (позволяет оценить функциональное состояние ЦНС, устойчивость реакции и уровень функциональных возможностей, лабильность и реактивность нервной системы).

- «Помехоустойчивость» (тест на силу и уравновешенность нервных процессов и служит интегральным показателем адаптационных возможностей человека).

- Тест Шульте-Платонова (экспресс тест оценки внимания).

- Компьютерная методика ММРІ-383 – экспертная психодиагностическая система - представляет собой адаптацию Миннесотского многошкального личностного опросника ММРІ содержит модель интерпретации данных и основные правила интерпретации, предполагающие комплексную оценку личностных характеристик испытуемого.

- Уровень субъективного контроля (УСК). Тест для выявления уровня и структуры субъективного контроля личности (интернальность – экстернальность).

Посредством этих экспресс-методик, можно, в той или иной степени, дать оценку психологического комфорта исследуемого, а так же определить психофизиологические показатели на момент исследования.

- С помощью компьютерного комплекса «НС-Психотест» (Нейрософт, г. Иваново) был проведен ряд тестов у 56 человек:

- «Реакция на движущийся объект» - РДО. Результаты исследования отражают норму.

- «Помехоустойчивость». Мужские и женские показатели за оба года были в пределах нормы. Средние результаты мужчин оказались лучше, чем средние у женщин. Аналогичная картина выявлена и по тесту ПЗМР.

- Тест Шульте-Платонова. За 2016г. полученные результаты, являются нормой, в отличие от результатов 2017г., где показатели были существенно ниже нормы.

Результаты психологического тестирования с помощью методики НЧЛ (обследовано 23 человек), вне зависимости от пола, возраста, стажа контакта с ФОВ, в подавляющем большинстве выявили положительное отношение к исследованию, установка на сотрудничество, адекватность самооценки и оптимальная степень самораскрытия в ответах. Результаты исследований достоверны и не имеют существенных различий за оба года.

- По методике ИТТ (интегративный тест тревожности) 53 человека прошли обследование. Во всех возрастных группах, вне зависимости от пола, в большинстве случаев психическое состояние в момент исследования в целом характеризуется спокойным фоном настроения. В структуре переживаний преобладают положительные эмоции. При исследовании выявляется низкий уровень тревожности (ощущение удовлетворенности, психического комфорта. По результатам обследования выявлены низкие значения ситуативной и личностной тревожности.

- по ММРІ (Миннесотский многоаспектный личностный опросник) 44- экспертная психодиагностическая система - представляет собой адаптацию Миннесотского многошкального личностного опросника ММРІ содержит модель интерпретации данных и основные правила интерпретации, предполагающие комплексную оценку личностных характеристик испытуемого. По всем шкалам показатели либо занижены, либо в пределах нормы.

Ввиду малого количества обследованных абсолютных достоверных отличий не выявлено ни по одному из изучаемых параметров.

В целом результаты исследований за 2016 и 2017гг. можно охарактеризовать как положительные.

Литература

- [1] Александровский Ю.А. Пограничные психические расстройства: Руководство для врачей. 4 издание. Переработанное и дополненное. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007, 720 с.
- [2] Александров Ю.В., Левицкий В.В., Вареник В.И. и др. Клиника, диагностика, лечение, экспертиза трудоспособности при острых профессиональных отравления ФОВ (инструкция для врачей). - М. ФУ «Медбиоэкстрем», 2000. – 31 с.
- [3] ГОСТ 12.0.003-74 (с изменением №1) ИСТ СЭВ 790-77 Опасные и вредные производственные факторы.
- [4] Мантрова И.Н. Методическое руководство по психофизиологической и психологической диагностике. Иваново: ООО «Нейрософт», 2010. – 216 с.
- [5] Балин В.Д., Гайда В.К., Гербачевский В.К. Практикум по общей, экспериментальной и прикладной психологии: учебное пособие / под общей ред. А.А. Крылова, С.А. Маничева. – СПб. Питер. 2000. – 543 с.

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕГАЗАЦИИ ОБЪЕКТОВ ПОСРЕДСТВОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ НА ПРОСТЕЙШИХ

Л.П. Эрдниев, Я.А. Степанов, Е.Ю. Андреева, И.В. Мокшанов,
И.А. Ермолаева, Н.В. Степанова

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства
обороны Российской Федерации, г. Вольск-18, 412918, ул. Краснознаменная, д. 1
Войсковая часть 71432, г. Вольск-18, 412918, ул. Краснознаменная, д. 4
e-mail: lenochka1551@yandex.ru

Проблема совершенствования методов и критериев оценки воздействия остаточных количеств отравляющих веществ (ОВ) не утратила актуальность и практическое значение. На сегодняшний день применение средств биологического контроля при оценке дегазации объектов имеет важное значение в военной токсикологии, наряду с развитием методов аналитической химии. Вместе с тем, проведение исследований на лабораторных животных является дорогостоящим и при оценке некоторых соединений, данные биообъекты обладают высокой генетической вариабельностью на уровне сублетальных доз. Так, по данным практических исследований по оценке чувствительности организма к ингибиторам ацетилхолинэстеразы, выявлена генетическая неоднородность гена, кодирующего активность бутирилхолинэстеразы.

В настоящее время, при проведении токсикологических исследований в качестве тест-объектов все чаще практикуется использование представителей типа Простейшие. Наиболее подходящими являются инфузории различных видов. Широкое применение данных организмов обусловлено их высокой чувствительностью, генетической однородностью популяции, надежностью, универсальностью, а также малой себестоимостью.

Цель работы: отработка методических аспектов дегазации объектов вооружения и военной техники посредством использования различных биообъектов. Задачи: оценить генетическую вариабельность экспериментальных животных; оценить токсикометрические параметры модельного фосфорорганического соединения (МФОС) для наиболее генетически вариабельного вида экспериментальных животных; оценить токсикометрические параметры МФОС для инфузорий.

На первом этапе проводимых исследований было проведено разделение экспериментальных животных и человека в зависимости от генотипа бутирилхолинэстеразы (БХЭ), по критерию дибукаинового числа. В результате, для исследования антихолинэстеразной активности МФОС, ввиду наибольшей генетической вариабельности, был выбран кролик, как наиболее сопоставимый биологический вид по отношению к человеку.

Таблица 1 – Угнетение ацетилхолинэстеразы после внутримышечного введения зомана в дозе 10 PD₅₀, M±m

Экспериментальные группы по генотипам	Угнетение АХЭ, %					
	2 ч	Среднее угнетение в группе	4 ч	Среднее угнетение в группе	1 сут	Среднее угнетение в группе
Гомозиготы (n=4)	10	9,3±6,4	20	9,0±4,6	0	4,25
	0		0		0	
	27		13		17	
	0		3		0	
Гетерозиготы (n=4)	37	37,5±6,4	37	31,8±5,6	7	13,5±6,5
	50		30		17	
	20		17		0	
	43		43		30	
Атипичные гомозиготы (n=4)	13	14,5±7,1	0	8,5±5,5	0	4,25
	0		0		0	
	11		11		0	
	34		23		17	

По результатам воздействия МФОС отмечена устойчивость гомозиготного и атипичного гомозиготного генотипов кроликов к исследуемому образцу по критерию угнетения ацетилхолинэстеразы (таблица 1). Таким образом, была выявлена генетическая вариабельность антихолинэстеразного эффекта в группах с различными генотипами. Последнее подтверждается различием расчетного значения PD₅₀ МФОС для трех групп генотипов. Данный факт может исказить картину результаты оценки дегазации объектов

вооружения и военной техники посредством биоконтроля с использованием классических биомоделей.

Экспериментальные исследования по определению параметров токсичности пяти модельных фосфорорганических соединений для инфузорий показали удовлетворительную сходимость с данными для белых крыс. Отмечено отсутствие генетической вариабельности эффекта данного класса вещества для инфузорий. Благодаря генетической однородности популяции, использование инфузорий в качестве тест-объектов для различных токсикологических исследований, дает возможность получения интегральной оценки токсичности ОВ. Кроме того использование подобных тестов не требует специального обучения персонала и оснащения лабораторий дорогостоящим оборудованием, а также сокращает время проведения исследований.

ПИЛОТОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕСТНОЙ НЕЙРО– И МИОТОКСИЧНОСТИ 0,5% БУПИВАКАИНА У КРЫС

И.А Гемуа

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург.

e-mail: inal.gemua@gmail.com

Введение. Основным действием местных анестетиков является блокада потенциалзависимых натриевых каналов, однако была отмечена способность этих препаратов взаимодействовать с калиевыми и кальциевыми каналами, оказывая повреждающее воздействие на ткани в местах их введения [1]. Проводимые исследования показали, что это воздействие может приводить к поражению и даже разрушению мышечных и нервных волокон [2].

Цель данного исследования заключается в оценке локальных изменений седалищного нерва и мышечной ткани у крыс при введении 0,5% раствора бупивакаина.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование выполнено с одобрения независимого Этического комитета, на базе Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова с соблюдением правил использования и содержания лабораторных животных (приказ № 755 МЗ СССР от 12.07.1977г.), норм асептики и антисептики. В ходе пилотного исследования трем лабораторным крысам массой 160-200 г. выполнены блокада седалищного нерва с использованием ультразвуковой навигации параневральным введением 0,2 мл 0,5% р-ра. бупивакаина и введение в двухглавую мышцу 0,2 мл 0,5% р-ра. бупивакаина. Животных выводили из эксперимента через 1 час после введения местного анестетика, производили забор участка седалищного нерва и двухглавой мышцы, фиксировали в 10% формалине в течении 48 часов. Тканевые срезы, толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты исследования. Через 1 час после введения 0,5% раствора бупивакаина были изменения как при гистологическом исследовании периферического нерва, так и мышечной ткани. При оценке морфологии седалищного нерва выявлены развитие периневрального отека, отека структур нерва и дистрофические изменения нервных волокон (рис.1).

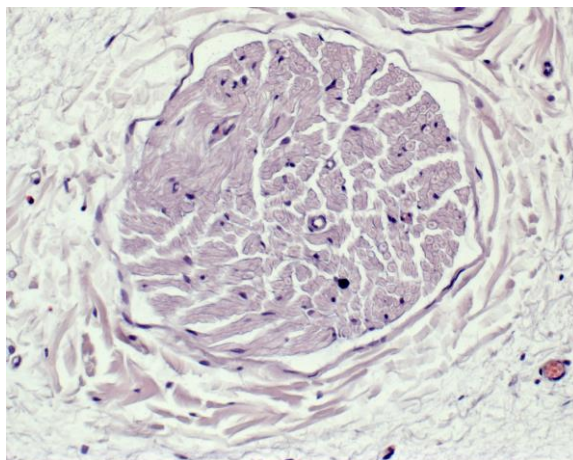


Рисунок 1 - Седалищный нерва крысы. Слабо выраженный периневральный отек, отек структур нерва и выраженные дистрофические изменения нервных волокон

Изменения в мышечной ткани характеризовались как перимускулярный отек, в части мышечных волокон возникли сократительные контрактуры, явления полихромазии и снижение поперечной исчерченности мышечных волокон (рис.2).

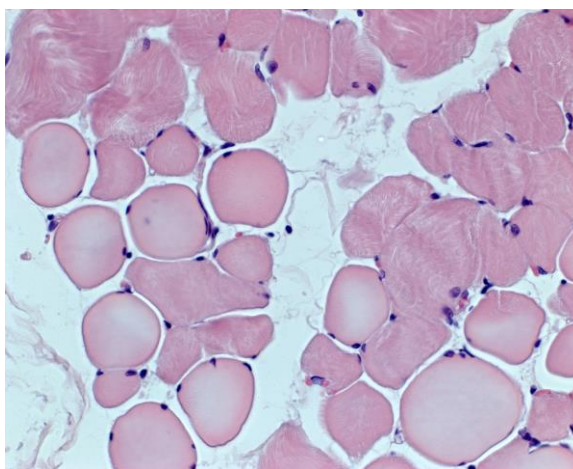


Рисунок 2 - Двуглавая мышца крысы. Неравномерный перимускулярный отек, группы мышечных волокон с дистрофическими изменениями в виде полихромазии.

Заключение: морфологическое исследование седалищного нерва и мышечной ткани показало развитие токсических изменений в месте введения 0,5% раствора бупивакаина.

Литература

- [1] Мельников К.Н. и др. // Журн. Психофармакол. и биол. наркол. 2004. Т. 4. № 2-3. С. 638–644.
- [2] Karamehmet Yildiz. et al // J. Clin Invest Med 2011; 34 (5): E273-E280

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТА ЦИТОХРОМА P450 - CYP3A4
ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПРИЕМЕ СИЛДЕНАФИЛА

И.Э. Ушал, Е.В. Светкина, Е.А. Колобова

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС
России, Санкт-Петербург
e-mail:innaushal@mail.ru

Группа изоферментов системы цитохром P450 активно участвует в метаболизме ряда лекарственных средств. Изучение их активности с помощью методов фенотипирования, как базовой, так и на фоне применения лекарственных средств, позволяет прогнозировать неблагоприятные побочные реакции, возникающие в результате индивидуальных особенностей пациентов, а также межлекарственных взаимодействий.

Около 40–50% лекарственных средств, в том числе, с узким терапевтическим диапазоном, применяемых в клинической практике, метаболизирует изофермент CYP3A4. Типичными субстратами для него являются: алпразолам, atorвастатин, винкристин, галотан, гидрокортизон, зидовудин, карбамазепин, кодеин, кортизол, кофеин, лидокаин, ловастатин, мидазолам, нифедипин, парацетамол, такролимус, тамоксифен, тестостерон, фенитоин, циклоспорин, циклофосфамид, эритромицин, R-варфарин, S-варфарин. Оценка его активности может проводиться фенотипически на основе определения хроматографическим методом концентрации эндогенного субстрата - кортизола и его метаболита 6 β -гидрокортизола. Это возможно потому, что 6- β -гидрокортизол образуется из кортизола исключительно под действием CYP3A4. Так как и кортизол, и его метаболит выводятся почками, на анализ берут не плазму крови, а мочу, что делает процедуру отбора биопроб неинвазивной и максимально простой. Высокие значения соотношения 6 β -гидрокортизол/кортизол свидетельствуют о повышенной активности CYP3A4.

Известно, что силденафил метаболизируется главным образом в печени под действием изофермента цитохрома CYP3A4 (основной путь) и изофермента цитохрома CYP2C9 (минорный путь). Таким образом, эффективность и безопасность применения препаратов силденафила непосредственно связана с активностью цитохрома CYP3A4.

Нами разработан и валидирован хромато-масс-спектрометрический метод фенотипического определения активности CYP3A4 по концентрации 6- β -гидрокортизола и кортизола в утренней моче. Метод реализован на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодно-матричным детектором. Разделение проводилось на хроматографической колонке Zorbax SD-C18 150 мм $\times$ 2.1 мм $\times$ 5 мкм. Использовался градиентный режим элюирования. Подвижная фаза: элюент А- 0.1 % муравьиная кислоты в воде; элюент В – ацетонитрил. Скорость потока – 0.6 мл/мин. Детекция осуществлялась на длине волны 242 нм. Пробоподготовка осуществлялась с помощью жидкостной- жидкостной

экстракции метилтретбутиловым эфиром. Калибровочный диапазон составил 25-1000 нг/мл для обоих аналитов. Валидация методики включала следующие параметры: линейность метода, установление пределов количественного определения, точность и достоверность внутри аналитической серии, точность и достоверность между аналитическими сериями, селективность, стабильность аналитов.

Изучена фармакокинетика силденафила у 19-ти практически здоровых добровольцев после однократного приема препарата «Виагра»®, 50 мг. Проведено пилотное исследование содержания кортизола и его метаболита в пробах утренней мочи участников исследования. По результатам оценки соотношения (6β-гидроксикортизол/кортизол) все добровольцы разделились на две группы – 13 добровольцев с нормальной активностью CYP3A4 и 6 добровольцев с повышенной активностью CYP3A4. В ходе исследования было установлено, что у добровольцев с повышенной активностью CYP3A4 были снижены такие фармакокинетические показатели, как период полувыведения и площадь под фармакокинетической кривой, что может значительно снижать эффективность препарата.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения метода фенотипического определения активности CYP3A4 по концентрации 6-β-гидроксикортизола и кортизола в утренней моче для оптимизации выбора дозировок лекарственных препаратов, метаболизм которых осуществляется под действием изофермента цитохрома CYP3A4, как при первичном назначении пациенту, так и в ходе длительного лечения. В первую очередь, это целесообразно для высокотоксичных препаратов, применяемых при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, эпилепсии, ведении онкологических больных, пациентов после трансплантации и ВИЧ-инфицированных.

АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ДЕТОКСИКАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ОРГАНИЗМА СОТРУДНИКОВ ГПС МЧС РОССИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

И.Э. Ушал, Е.В. Светкина, Е.А. Колобова

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС

России, Санкт-Петербург

e-mail:innaushal@mail.ru

Тушение пожаров и ликвидация последствий аварий осуществляются в сложных условиях, представляющих угрозу для жизни и здоровья, и предполагают повышенную физическую, психологическую нагрузку, воздействие физических и химических факторов, что может привести к снижению трудоспособности сотрудников ГПС МЧС России.

Особую опасность для пожарных представляют химические соединения, которые содержатся в продуктах горения (оксиды, диоксиды, фториды и различные токсические химические элементы), которые обладают мембраноповреждающим эффектом.

Для прогнозирования рисков последствий воздействия различных химических веществ целесообразно использовать комплексные методы диагностики, включающие оценку индивидуальной чувствительности к токсическим веществам. Наиболее пристальное внимание должно быть обращено на изучение процессов детоксикации организма от чужеродных веществ – ксенобиотиков, проведению поиска биомаркеров детоксикации, патогенетически значимых метаболизирующих ферментов и полиморфизма генов системы метаболических превращений, иммунологической реактивности.

Биотрансформация ксенобиотиков включает две основные фазы. Первая фаза – это метаболические реакции превращения эндогенных и экзогенных веществ с помощью микросомальных ферментов в более полярные метаболиты. Вторая фаза включает реакции конъюгации, не требующие использование основных энергетических ресурсов клетки. Первая фаза биотрансформации ксенобиотиков осуществляется главным образом с помощью большой группы изоферментов семейства цитохрома P450. Порядка 90% всех реакций окисления ксенобиотиков катализируют шесть изоферментов: CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1, CYP3A4. Существует два основных метода изучения индивидуальной активности изоферментов цитохрома P450 – генетический и фенотипический.

Методы генотипирования позволяют определить генетический потенциал индивида, но не обязательно его функциональные возможности в любой момент времени. На генетически предопределенную степень активности фермента может влиять ряд физиологических параметров: раса, пол, возраст, патологические состояния и заболевания, средовые влияния, применение лекарственных средств, профессия, поведенческие особенности. По этой причине фенотипы в разных условиях сильно отличаются друг от друга и не всегда согласуются с соответствующим генотипом. Таким образом, для определения точной картины ферментной активности нужно оценивать и текущую активность изофермента цитохрома P450. Методы фенотипирования, основанные на определении концентрации эндогенных субстратов и их метаболитов, позволяют определить детоксикационный потенциал реализуемый у индивида исходя из совокупности влияния воздействующих на него и генетической предрасположенности. В связи с тем, что в печени превалируют два изоферменты цитохрома P450 - CYP3A4 (40-55 %) и CYP2D6 (30 %), наиболее актуально изучение именно их активности. У каждого из них есть специфический эндогенный субстрат. Для CYP3A4 это кортизол, CYP2D6 – пинолин. Таким образом, для фенотипической оценки активности CYP3A4 используется отношение концентрации 6-β-гидрокортизола к концентрации

кортизола. Активность CYP2D6 может быть оценена по отношению концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина к концентрации пинолина. Так как и субстраты, и их метаболиты выводятся почками, к анализу пригодна моча, что значительно упрощает процедуру отбора биопроб. Все необходимые аналиты целесообразно определять хромато-масс-спектрометрическим методом.

Важной задачей для контроля профилактических мероприятий и обеспечения эффективности защитных механизмов организма при действии химических веществ является установление корреляции между генетическими полиморфизмами и вариантами функционирования систем организма при различных воздействиях внутренних и внешних факторов.

Очевидно, что безопасность при профессиональной деятельности сотрудников ГПС МЧС России зависит от индивидуальных особенностей организма, что требует персонализированного подхода к каждому конкретному человеку. Нами предложено определение индивидуального детоксикационного потенциала организма сотрудников ГПС МЧС России по совокупным результатам гено- и фенотипирования активности изоферментов цитохрома P450, что весьма актуально для целенаправленного проведения профотбора, лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий.

К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ РЕЦЕПТОРНОГО СВЯЗЫВАНИЯ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ

Е.А.Антипов Д.В.Иващенко

Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии», Москва.

e-mail: kutkin@gosniiohkt.ru

Разработка новых обезболивающих препаратов, сочетающих в себе высокую эффективность опиоидных анальгетиков с более благоприятным профилем респираторной и наркологической безопасности, является важным направлением развития современной фармакологии и медицины.

Острый болевой синдром является составляющей частью различных болезней и сопровождается подавляющее количество патологических процессов.

В травматологии и онкологии наиболее сильная и выраженная острая боль, как правило, купируется с помощью опиоидных анальгетиков. Высокая обезболивающая активность данных препаратов связана с активацией нейрогуморальной антиноцицептивной системы. Однако, несмотря на свою эффективность, данные средства обладают рядом нежелательных побочных эффектов, включающих в себя респираторную депрессию, наркогенный потенциал, седацию, нарушение моторики желудочно-кишечного тракта.

В ее состав, в частности, входят эндогенные пептиды, взаимодействующие с опиатными рецепторами, которые обнаружены в большинстве образований, принимающих участие в проведении и восприятии боли. Наиболее выраженное анальгетическое действие большинства опиоидных анальгетиков связано с преимущественной стимуляцией опиоидных рецепторов (ОР) μ - типа и в меньшей степени рецепторами δ - и κ -типа. В тоже время между ними имеются различия в анатомическом распределении, и эффекты активации рецепторов внутри представителей семейства могут различаются. В частности, стимулирование μ -ОР может привести к возникновению респираторной депрессии; воздействие на δ -ОР вызывает состояние тахикардии и судорог, а так же способствует возникновению психотомиметических эффектов; стимуляция κ -ОР приводит к седации и угнетению выработки антидиуретического гормона.

Моделирование болевых ощущений в опытных условиях привело к созданию ряда методик, направленных на изучение ответной реакции у животных на болевое раздражение, преимущественно использующихся при исследовании новых анальгетических соединений.

Простота выполнения подобных экспериментов обуславливается отсутствием необходимости использовать в опытах специальное и дорогостоящее оборудование. Однако, в подобных экспериментах нельзя ограничиваться исследованием латентного периода и расчетом среднеэффективной дозы для изучаемых веществ.

При создании новых средств регуляции болевой чувствительности у исследователей практический интерес вызывает, в первую очередь, изучение рецепторного механизма действия новых соединений. Оценка латентного периода не позволяет объяснить, с какими типами рецепторов взаимодействуют изучаемые соединения. Определение точки приложения вещества дает исчерпывающее понимание того, с какими типами рецепторов будет взаимодействовать соединение и какие физиологические и фармакологические эффекты может вызывать вещество, попав в организм. В частности, зная тип рецептора с которым связывается вещество, представляется возможным предугадать наличие вероятных побочных явлений и эффективно их купировать. С этой целью изучается механизм анальгетического действия на моделях подавления электроиндуцированных сокращений изолированных сегментов кишечника у грызунов, богатых различными типами опиоидных рецепторов. Исследование проводится на сегментах изолированной подвздошной кишки морской свинки, богатой μ -опиоидными рецепторами. Фенотип опиоидных рецепторов в семявыносящем протоке кролика представлен популяцией каппа-опиоидных рецепторов. В сегментах семявыносящих протоков мыши сконцентрированы δ -опиоидные рецепторы. В условиях эксперимента сокращения сегментов кишечника стимулируются низкочастотным электрическим током (10 Гц, амплитуда 50 Вг, 2 мсек). Методом регрессионного анализа

рассчитывается показатель концентрации исследуемого вещества, ингибирующего на 50% сократительный ответ гладких мышц в изолированных органах.

Подобная методология исследования при создании и получении новых анальгетиков позволит, в первую очередь, определить точки приложения оцениваемых веществ и выбрать наиболее перспективные соединения с заданной специфической активностью для дальнейшего исследования.

К ВОПРОСУ О НЕОБХОДИМОСТИ РАЗРАБОТКИ ЭКСПРЕСС-МЕТОДОЛОГИИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКОГО РЯДА

А. А. Борунов, О. И. Ачкасова

Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное государственное
унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт
органической химии и технологии», Москва
e-mail: kutkin@gosniokht.ru

Несмотря на то, что прошло более 50 лет с момента появления первого нейролептика, хлорпромазина, поиск средств лечения шизофрении остается актуальной проблемой. Это обусловлено не только тяжелыми медицинскими и социальными последствиями данного заболевания, но также и тем обстоятельством, что применяющиеся в настоящее время антипсихотические вещества имеют ряд недостатков. От 15% до 30% пациентов полностью резистентны ко всем антипсихотикам или демонстрируют лишь незначительное улучшение. У многих пациентов снимаются позитивные симптомы, а негативные, в частности нарушение когнитивных функций, не только не облегчаются, но даже усугубляются стандартными нейролептиками. Кроме того, имеющиеся в настоящее время нейролептики характеризуются многочисленными побочными эффектами. Эти обстоятельства, так же как и разнообразие индивидуальных проявлений шизофрении у различных людей, диктуют необходимость поиска принципиально новых стратегий создания высокоэффективных антипсихотиков, лишенных побочных эффектов.

Ограниченные возможности моделирования психопатологических нарушений на животных привели к созданию методов, основанных на поисках параллелей между эффектами препаратов с известными свойствами и действием на животных новых испытуемых веществ. Именно так были составлены различные схемы первичного исследования химических соединений на психотропную активность, которые, однако, не являются общепризнанными.

В большинстве существующих методических разработок и указаний не выделяются последовательные этапы исследования веществ от первичного выявления до всесторонней характеристики спектра их активности. Обычно приводится описание наиболее распространенных и адекватных методов, с помощью которых можно достаточно полно

описать основные свойства вещества с уже установленным типом активности. В то же время такое разделение важно, так как этап первичного отбора веществ с определенным типом активности и этап его углубленного изучения имеют различные задачи и программу.

Целью нашей работы стала разработка комплексной схемы первичных исследований, особенно необходимой при испытании большого количества соединений, требующем четкости и однородности условий проведения экспериментов.

Выбор методов первичных испытаний новых потенциальных нейролептиков осуществлялся на основании следующих критериев: набор экспериментальных тестов должен быть достаточно экономным и при минимальных затратах испытуемого вещества и животных давать максимально возможную информацию о его биологической активности; адекватно характеризовать профиль, тип активности; отражать основной механизм действия группы фармакологических препаратов, к которым может быть отнесено потенциально активное соединение.

В качестве основного метода для определения психотропной активности был выбран тест экстраполяционного избавления (ТЭИ), основанный на способности нейролептиков предотвращать нарушения когнитивных способностей у крыс в острой стресс-ситуации, вызванные введением Л-ДОФА. В программу исследования включены классические методы оценки влияния соединений нейролептического ряда на поведение лабораторных грызунов: оценка двигательной и ориентировочной активности в тесте «открытое поле», оценка каталептогенных свойств в тесте «поза лектора», оценка дофаминзависимой пойкилотермии посредством измерения ректальной температуры, а также гематологический и биохимический анализы.

Планируется исследование возможного токсического действия образцов с использованием метода клиновидной дегидратации капли сыворотки крови. Он активно применяется в клинической медицине для диагностики значимых изменений в соматических органах на ранних стадиях заболеваний. Суть метода заключается в том, что в норме сыворотка имеет более или менее однородную структуру, и в результате процесса дегидратации возникают регулярные и однородные структуры (радиальное растрескивание). Малейшее нарушение структуры белков и небелковых компонентов из-за различных факторов (окислительных, токсичных), их концентрации и экспрессии сказывается на формировании радиального растрескивания, возникающего в процессе кристаллизации, при этом обнаруживаются аномальные и нерегулярные структуры.

Изменения концентрации факторов дофаминергической системы будут регистрироваться посредством иммуноферментного анализа.

По нашему мнению, полученные результаты позволят выявлять возникновение нежелательных побочных эффектов у исследуемых соединений и сделать вывод о перспективности их дальнейшего изучения.

**ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ ОТ
ВОЗДЕЙСТВИЯ ИСТОЧНИКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА ОБЪЕКТА
ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ «ПОЧЕП»**

В.В. Смирнов, М.Ю. Комбарова, Э.Ю. Гюльмамедов
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: yjm-68@mail.ru

В современном мире концепция оценки риска здоровью населения принята практически во всех странах мира и международных организациях и рассматривается в качестве главного механизма разработки и принятия управленческих решений в области охраны здоровья населения, проживающего в районах расположения химически опасных объектов (ХОО), и разработки профилактических мероприятий противодействия вредным факторам среды обитания. В 2004 году в Российской Федерации на государственном уровне было утверждено «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду» (Руководство Р. 2.1.10.1920–04), которое подробно регулирует процедуру оценки рисков. Роль методологии оценки риска здоровью в системе обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения возрастает в последнее время значительными темпами. Сама методика оценки рисков включает четыре основных этапа: идентификации опасности, оценка зависимости «доза-ответ», оценка экспозиции и характеристика риска.

В рамках выполнения работ по установлению связи заболеваний населения с деятельностью объектов по уничтожению химического оружия (ОУХО) проведена оценка риска здоровью населения, проживающего в зоне защитных мероприятий объекта по уничтожению химического оружия «Почеп», в соответствии с программой, представленной в Руководстве «Р.2.1.10.1920-04». Анализ рисков выполнялся по расчетным среднегодовым концентрациям всех химических веществ от выбросов ОУХО «Почеп». Источником данных послужили Проекты нормативов предельно допустимых выбросов вредных (загрязняющих) веществ в атмосферный воздух для объекта по уничтожению химического оружия «Почеп» за 2014 и 2017 года.

В ходе проведения работы был сформирован перечень приоритетных загрязняющих веществ с учетом их валовых выбросов в атмосферный воздух, индексов сравнительной канцерогенной и неканцерогенной опасности, включенных в дальнейшую оценку риска для здоровья населения от воздействия выбросов ОУХО «Почеп».

Расчет рассеивания проведен в расчетной зоне размерами 36000 м на 23000 м с шагом расчетной сетки 200 м, которая равномерно покрывает территорию ОУХО «Почеп», санитарно-защитную зону и селитебную зону.

Моделирование рассеивания выбросов от ОУХО в выбранном расчетном прямоугольнике позволило рассчитать среднегодовые концентрации в точках воздействия, расположенных на границе санитарно-защитной зоны объекта, а также на селитебной территории близ расположенных населенных пунктов, попадающих в зону потенциального влияния выбросов ОУХО. На основании анализа территориального распределения среднегодовых привносимых уровней загрязнения установлено, что основными загрязнителями, определяющими максимальные уровни среднегодовых концентраций в расчетных точках, являются: диФосфора пентаоксид, азота диоксид, серы диоксид. Также в список включены специфичные для данного объекта вещества: зарин, зоман и вещество Vх.

Расчет неканцерогенных рисков показал, что уровни хронических неканцерогенных риска не превышали приемлемых значений риска ($HQ < 1$). На селитебных зонах значения коэффициентов опасности от воздействия диФосфор пентаоксида составили от $7,38E-01$ до $7,89E-02$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $2,16E-03$ до $2,52E-04$, по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия азота диоксид – от $6,40E-03$ до $6,74E-04$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $3,74E-03$ до $3,96E-04$ по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия серы диоксид - от $3,10E-03$ до $3,30E-04$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $5,50E-03$ до $6,66E-04$ по данным Проекта ПДВ 2017 года. Для специфичных для данного объекта веществ значения коэффициентов опасности составили: от воздействия зарин составили от $6,40E-06$ до $6,46E-07$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $6,01E-06$ до $5,70E-07$, по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия зомана – от $1,26E-06$ до $1,28E-07$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $1,50E-07$ до $1,10E-08$ по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия вещества Vх - от $6,30E-06$ до $6,40E-07$, по данным Проекта ПДВ 2014 года и от $4,95E-06$ до $4,57E-07$ по данным Проекта ПДВ 2017 года.

Вероятность развития канцерогенных эффектов оценивалась от воздействия веществ, выделяемых источниками ОУХО «Почеп»: свинец и его неорганические соединения, сажа, бенз/а/пирен. На селитебной зоне максимальные значения индивидуального канцерогенного риска от воздействия свинца и его неорганических соединений составил $1,78E-12$ по данным проекта ПДВ 2014 года и $9,87E-09$ по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия сажи – $4,41E-09$ по данным проекта ПДВ 2014 года и $3,31E-13$ по данным Проекта ПДВ 2017 года; от воздействия бенз/а/пирена – $1,88E-11$ по данным проекта ПДВ 2014 года и $1,16E-13$ по данным Проекта ПДВ 2017 года. Таким образом уровни индивидуального канцерогенного риска от воздействия свинца и его неорганических соединений, сажи, и бенз/а/пирена соответствуют

первому диапазону рисков и оцениваются как пренебрежимо малые (уровень De minimis) и не требуют никаких дополнительных мероприятий по их снижению.

Таким образом установлено, что уровни приземных среднегодовых концентраций, привносимые ОУХО «Почеп» в загрязнение атмосферного воздуха, по всем критериям не создают значимый риск для здоровья населения, проживающего в зоне защитных мероприятий ОУХО, который соответствует приемлемому уровню.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА

Н.А. Егоров, А.Е. Чиков, Н.В. Криницын, Д.С. Медведев

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: e_nicolay78@mail.ru

Кардиореспираторное нагрузочное тестирование – метод, который широко используется в современной спортивной медицине для определения выносливости спортсменов. Данная проба позволяет оценить функцию сердечно-сосудистой и дыхательной систем, которая заключается в поддержании клеточного дыхания. Нагрузочное тестирование позволяет оценить работоспособность, уровень нагрузки, при которой организм спортсмена обеспечивает адекватное потребление кислорода, установить количественное значение максимального потребления кислорода (МПК). В качестве одного из наиболее надежных показателей физической работоспособности человека мерой аэробной мощности и интегральным показателем состояния транспортной системы кислорода (O₂) является МПК. В спортивной физиологии применяется большое количество методик для определения аэробной производительности. Поэтому целью нашего исследования стало: изучить влияние разных протоколов нагрузочного тестирования на регистрируемую величину максимального потребления кислорода.

Организация и методы

В исследовании приняли участие 24 спортсмена в возрастной категории от 18 до 22 лет, специализирующихся в лыжных гонках и биатлоне. Спортсмены имели спортивные квалификации КМС и МС. Исследование проводилось с использованием беговой дорожки LE 580 CE h/p/cosmos (Care Fusion, Великобритания) и эргоспирометрической системы «Охусон Pro» (Erich Jaeger, Германия). В ходе исследования спортсмены выполняли следующие разновидности нагрузочного тестирования:

1. Ступенчато-возрастающая нагрузка, скорость первой ступени 5 км/ч, высота ступени 1,5 км/ч, длина ступени 1 мин, средняя продолжительность нагрузки составила $8,43 \pm 0,16$ мин.;

2. Ступенчато-возрастающая нагрузка, скорость первой ступени 5 км/ч, высота ступени 1,5 км/ч, и длинна ступени 2 мин, средняя продолжительность нагрузки составила $14,55 \pm 0,41$ мин.

Результаты исследования их обсуждения

Дизайн исследования позволил нам оценить величину мощности аэробных возможностей. После проведения первого и второго теста, видно, что увеличение продолжительности нагрузки практически с $8,43 \pm 0,16$ мин. до $14,55 \pm 0,41$ мин. не отразилось на фиксируемой величине максимального потребления кислорода. Количественные значения МПК в тесте 1 и 2 не имеют статистически достоверных различий ($p > 0,05$) и составили $63,42 \pm 1,51$ мл/мин/кг и $62,93 \pm 1,22$ мл/мин/кг соответственно (таблица).

Таблица – Показатели максимального потребления кислорода (ПК) при выполнении нагрузочных тестирований

Тест	Тест 1	Тест 2
ПК, мл/мин/кг	$63,42 \pm 1,51$	$62,93 \pm 1,22$
t-тест; p	Между 1 и 2 – 0,16; $> 0,05$	

Таким образом, если перед исследователем стоит задача определения мощности аэробных возможностей, то спортсмену можно предложить более короткую нагрузку.

Заключение

Для полноценного обследования аэробных возможностей спортсмена следует проводить несколько видов тестов имеющие разную продолжительность нагрузки максимальной мощности. Выявлено, что увеличение продолжительности с $8,43 \pm 0,16$ мин до $14,55 \pm 0,41$ мин не оказывает влияние на величину максимального потребления кислорода.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У РАБОТНИКОВ ЗАНЯТЫХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПО УНИЧТОЖЕНИЮ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

Н.А. Кабакова, Л.В. Янно, О.А. Прохоренко, О.М. Татаринова, Е.Л. Ефимова

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: putova.75@mail.ru

От того, насколько полноценно функционирует иммунная система, зависят многие процессы жизнедеятельности организма. Раннее выявление недостаточности иммунной системы позволяет проводить своевременно профилактические мероприятия, в чем заключается практическое значение иммунодиагностики для мониторинга лиц, работающих в контакте с ФОВ.

Обследовано 77 работников в возрасте от 25 до 69 лет, которые были разделены на две группы в зависимости от степени контакта с ФОВ. 1 группа – лица, работающие в условиях

постоянного контакта с ФОВ 26% (20 человек), и 2 группа – работники, имеющие периодический контакт с ФОВ, 74% (57 человек).

Исследования иммунного статуса включали оценку клинического анализа крови, расчет индекса аллергизации; определение относительного и абсолютного числа субпопуляций мононуклеаров в периферической крови с использованием иммуноцитохимического (стрептавидин-биотиновым) метода [1] (система визуализации Novocastra NCL, Великобритания) к следующим антигенам: CD3+, CD4+, CD8+, CD56+, CD20+, рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ). Определение содержания иммуноглобулинов классов (А, М, G) в сыворотке крови проводили турбодиметрическим методом, определение IgE, - методом твердофазного иммунного анализа (ИФА). Исследовали фагоцитарную способность нейтрофильных гранулоцитов [2]. Определяли содержание онкомаркеров в сыворотке крови методом ИФА (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск): РЭА, СА-19-9, СА-125, СА15-3, АФП, ПСА общий, ПСА свободный. Работу выполняли с соблюдением всех положений биоэтики.

Анализ лейкограмм обследуемых лиц выявил лимфоцитоз и нейтропению (45% и 25% соответственно) у лиц в 1 группе. Единичные случаи лейкопении, моноцитоза одинаково часто встречались в обеих группах. По результатам исследования лейкоцитограммы был рассчитан индекс аллергизации (ИА). Анализ результатов ИА в зависимости от степени контакта с ФОВ показал преобладание случаев повышения ИА в 1 группе (65,0% и 45,8% соответственно).

Сравнительный анализ в зависимости от степени контакта с ФОВ показал большую частоту отклонений Т-клеточного звена у лиц 2 группы (60,0% и 72,9% соответственно). Снижение числа CD3⁺ и CD4⁺ Т – лимфоцитов, характеризующее иммуносупрессию, не имело статистически значимых различий в группах, а снижение иммунорегуляторного индекса (ИРИ), чаще встречалось во 2 группе (55,0% и 69,5% соответственно).

Среди изменений фагоцитарной активности преобладали снижения показателей (ФИ и ФЧ), характеризующие более выраженное угнетение у персонала 1 группы, снижения ФИ имели статистическую значимость в зависимости от степени контакта с ФОВ (45% и 18,6%).

Изменения гуморального звена представлены единичными случаями отклонений независимо от степени контакта.

Результаты исследования на онкомаркеры показали наличие повышенных значений в 8,9% случаев. Частота случаев повышения онкомаркеров не зависела от степени контакта.

Таким образом, у работников объекта выявлена невысокая частота изменений гуморального звена и обусловленные преимущественно функциональными нарушениями изменения Т-клеточного звена. Вместе с тем, обращает внимание преобладание повышенных значений индекса аллергизации и супрессия фагоцитарной активности у персонала с постоянным контактом с ФОВ. Выявленные иммунологические особенности показывают

необходимость оценки иммунного статуса в общей структуре комплексного обследования лиц, работающих в контакте с ФОВ.

Литература

- [1] Тотолян А.А. и др. // *Мед. иммунология*. 1999. Т.1. № 5. С.21-43.
- [2] Кишкун А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике М.: Мед. информ. агенство, 2006. 536 с.

ОТСТАВЛЕННЫЕ ПОСТНАГРУЗОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ КРОВИ У СПОРТСМЕНОВ ЕДИНОБОРЦЕВ

М.В. Крылова, Г.В. Быховец

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: Margaritochka-88@mail.ru

В последние десятилетия, в связи с большими изменениями в системе общей и специальной подготовки представителей всех видов спорта, как никогда остро стоит вопрос о необходимости проведения специальных исследований, направленных на изучение особенностей адаптации отдельных физиологических систем организма к конкретному виду спортивной деятельности, выявление их оптимального функционального состояния, а также пред- и пограничных изменений последнего в постнагрузочном периоде.

Одним из перспективных направлений в спортивной физиологии является оценка функциональных возможностей организма на основе регистрации изменений компонентов крови, что позволяет оценить его адаптационный потенциал.

Активная мышечная деятельность сопровождается формированием в организме спортсменов системного ответа, направленного на восстановление исходного состояния при минимальных физиологических затратах. Согласно имеющимся представлениям, приспособительные реакции организма, в том числе и адаптация системы крови к физическим нагрузкам, могут носить срочный и долговременный характер. Долговременная адаптация устойчива и отражается в кумулятивных изменениях морфологического состава крови, присущих спортсменам по сравнению с не тренирующимися лицами или представителям тех или иных спортивных специализаций.

Целью данного исследования являлось изучение динамики показателей крови спортсменов после нагрузки субмаксимального типа.

Материалом исследования служила венозная кровь спортсменов единоборцев (n=30), анализировали следующие биохимические: АЛТ, АСТ, ЩФ, КФК, глюкоза, мочевины, креатинин, общий белок, альбумин, билирубин общий, триглицериды, калий, натрий, хлор, а так же клинические показатели: эритроциты, гемоглобин, гематокрит, MCV, MCH, MCHC,

ретикулоциты, лейкоциты, моноциты, базофилы, эозинофилы, лимфоциты, тромбоциты, нейтрофилы. С целью воссоздания субмаксимальной нагрузки у спортсменов проводили тренировки на тредбане со ступенчато-возрастающей нагрузкой, начиная со скорости 5 км/час, с повышением скорости каждые две минуты на 1,5 км/час. Время выполнения нагрузки - до отказа. Кровь у спортсменов отбиралась в состоянии покоя и через 24 часа после нагрузки.

Отставленные постнагрузочные изменения гематологического статуса проявляются в виде статистически достоверного снижения уровня эритроцитов(RBC) ,гемоглобина(Hb), гематокрита(Hct), а также повышением среднего содержания гемоглобина в эритроците(MCH) и средней концентрации гемоглобина в эритроците(MCHC). Отставленные постнагрузочные изменения клинико-биохимического статуса проявляются в виде статистически достоверного понижения уровня щелочной фосфатазы, альбумина и триглицеридов, а также повышение уровня хлора. Мы полагаем, что эти изменения у единоборцев, обусловлены активацией процессов разрушения эритроцитов в циркулирующей крови и синтезом ретикулоцитов в красном костном мозге. Таким образом, мы установили, что постнагрузочные сдвиги характеризуются перераспределением элементов крови и некоторыми структурными изменениями, но при этом нарушается соотношение между скоростью эритро и гемоглобинообразования, что ведёт к повышению значения MCH и MCHC.

Таким образом, после проведенных нами исследований было выявлено, что через сутки после нагрузки субмаксимальной мощности у единоборцев не наступало полного восстановления состава и структуры элементов крови. Полученные данные, могут быть полезными в процессе планирования тренировочного процесса, в данном случае в коррекции тренировочных нагрузок с целью предотвращения процессов утомления.

**КРЫСЫ «АКТИВНЫЕ ДОМИНАНТЫ»
ПРЕДРАСПОЛОЖЕНЫ К ПРОЯВЛЕНИЮ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ
ПРИ ДЕЙСТВИИ ДЛИТЕЛЬНОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА**

В.В. Немец, Е.Д. Рован, В.Е. Соболев, В.И. Шмурак, В.В. Гарнюк

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail:Seva_nemets@list.ru

Длительное пребывание в замкнутом пространстве неблагоприятно воздействует на организм. У животных, подвергавшихся такому воздействию, часто наблюдаются нарушения нервной, иммунной, гуморальной и нейромедиаторной систем. Однако, не все животные в одинаковой степени подвержены такому воздействию.

Проведенное на белых беспородных крысах исследование показало, что при действии длительного неконтролируемого стресса (иммобилизация в тесных пеналах в

течение 5-ти дней, по 4 часа в день) у животных (предварительно рандомизированных по типу стрессорной реакции и социальному рангу) из группы «активных доминантов», в отличие от «неактивных субординантов», на 5-й день воздействия наблюдаются признаки депрессивно-подобного состояния, выраженного в статистически значимом снижении, двигательной, исследовательской активности, болевой чувствительности по сравнению с фоном, уровня агедонии, увеличении тревожности; в то время как у «неактивных субординантов» наблюдается лишь стрессорная реакция, выраженная в снижении двигательной, исследовательской активности и увеличении тревожности.

Таким образом, можно заключить, что «активные доминанты», более подвержены действию длительного неконтролируемого стресса, чем «неактивные субординанты». Полученные данные могут быть использованы при прогнозировании стрессорных расстройств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОЙ СМЕСИ «КрипОкса 80/20»

Д.Г.Оськина

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: diana-gaechka@yandex.ru

Объектом исследования явилась газовая смесь «КрипОкса 80/20».

Цель работы – проведение доклинической оценки безопасности применения газовой смеси «КрипОкса 80/20».

Специальные смеси кислорода и инертных газов (гелия, аргона, ксенона, криптона) проявляют физиологическую активность в условиях нормального барометрического давления и могут найти широкое применение в качестве новых немедикаментозных средств оздоровительного и лечебного воздействия на организм человека.

Применение дыхательной газовой смеси на основе инертных газов показало свою высокую эффективность при лечении ряда заболеваний органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, при проведении ингаляционного наркоза и в послеоперационном периоде.

В зависимости от физико-химических свойств кислорода и различных сочетаний инертных газов в смесях, а также методов их применения появляется возможность целенаправленно воздействовать на разные уровни регуляции жизненно важных функций организма.

Доклиническая оценка безопасности газовой смеси «КрипОкса 80/20» проводилась при ингаляционном воздействии в двух экспозициях 15 и 30 минут ежедневно в течение 7 дней.

В экспериментах использовали дыхательную газовую смесь «КрипОкс», (газовая смесь кислородно-криптоновая, ТУ 2114-028-39791733-2007), содержащую 80% криптона и 20% кислорода. Содержание кислорода и углекислого газа в течение эксперимента контролировали с помощью газоанализатора Drager X-am 7000. Концентрацию кислорода поддерживали на уровне $20 \pm 0,5\%$ об.

Для поглощения углекислого газа в затравочной камере при проведении эксперимента применяли химический поглотитель известковый (ХПИ). Поглощение животными кислорода возмещали путем перепуска из баллона в затравочную камеру чистого кислорода.

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах.

Оценка поведенческих реакций показала большую активность животных, подвергавшихся ингаляционному воздействию газовой смеси «КрипОкса 80/20», по сравнению с контрольной группой.

Оценка внешнего вида экспериментальных животных в течение 14 дней наблюдения достоверно не отличалась от показателей в контрольной группе.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии психостимулирующего, противотревожного, анксиогенного или депрессивного эффекта при воздействии газовой смеси «КрипОкса 80/20».

Оценка гематологических показателей крови экспериментальных животных, при ингаляционном воздействии газовой смеси «КрипОкса 80/20» с экспозицией 15 и 30 минут показала отсутствие достоверных отличий от соответствующих показателей животных контрольной группы.

Показано, что исследованный режим воздействия газовой смеси не оказывал влияния на гематологические показатели вследствие быстрого вывода инертных газов из организма и, следовательно, данные процессы могут быть легко обратимы.

Оценка гормонального уровня (кортизол, тестостерон, свободные трийодтиронин и тироксин) экспериментальных животных показала отсутствие существенного влияния газовой смеси «КрипОкса 80/20» на данные показатели.

Значимых изменений биохимического статуса крови крыс при ингаляционном воздействии газовой смесью «КрипОкса 80/20» не выявлено, что свидетельствует об отсутствии у газовой смеси гепато-, кардио- и миотоксического действия, а также влияния на обмен веществ.

При макроскопическом исследовании различий между экспериментальными и контрольными животными установлено не было.

Таким образом, результаты доклинической оценки газовой смеси «КрипОкса 80/20» при ее ежедневном ингаляционном воздействии до 30 минут на протяжении 7 суток

свидетельствуют о хорошей переносимости экспериментальными животными и безопасности ее применения.

ВЛИЯНИЕ СТАРТОВОЙ ЧСС НА УСПЕШНОСТЬ СОРЕВНОВАТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У СКЕЛЕТОНИСТОВ

Е.Г. Трапезникова, Н.Ю. Петров, А.Н. Павлова

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: pishite22@mail.ru

Одним из интегральных показателей состояния организма в спорте является частота сердечных сокращений (ЧСС), которая тесно связана с комплексом физиологических изменений, возникающих в ответ на физическую нагрузку. Изменение ЧСС непосредственно перед стартом соревнований несет большую информацию преимущественно о нервно-психической готовности к спортивной деятельности, отражает уровень эмоционального возбуждения и вегетативных регуляций. Согласно литературным данным [1, 2], повышение ЧСС перед стартом в пределах 110-120 уд/мин свидетельствует о состоянии оптимального возбуждения, что способствует полной реализации функциональных возможностей и положительно сказывается на достижении высоких спортивных результатов. Повышение пульса до значений 120-135 уд/мин, характеризует состояние перевозбуждения и может негативно сказываться на координации и технике движений у спортсменов.

Таким образом, основной целью настоящей работы являлось изучение уровня стартовой ЧСС у спортсменов во время соревнования и его влияние на спортивный результат, на примере сборной РФ по скелетону.

Для оценки функционального состояния сердечно-сосудистой системы спортсменов использовали командную систему «POLAR TEAM PRO», которая позволяла проводить индивидуальный мониторинг сердечного ритма у 14 высококвалифицированных скелетонистов в период проведения Чемпионата России 2017 года. Для сравнительного анализа было сформировано 2 группы, в зависимости от спортивного результата, полученного на соревновании: 1 группа – спортсмены, занявшие первые 5 мест на соревновании; 2 группа – спортсмены с результатом выше 5 места ($n=9$).

Статистическую обработку материала проводили с помощью компьютерной программы Prizm 6.

В результате анализа полученных данных пульсометрии было выявлено, что уровень стартовой ЧСС у скелетонистов, вошедших в ТОП-5 на ЧР-2017 составил - $111 \pm 5,4$ уд/мин, что на 13.9% меньше, чем в группе спортсменов замыкающих турнирную таблицу ($129 \pm 6,3$ уд/мин).

Показатели ЧСС у спортсменов из 2 группы, свидетельствовали о высоком стартовом нервном напряжении, что могло негативно сказаться на реализации специальных двигательных действий на соревнованиях. В виду того, что скелетон является сложно-координационным видом спорта, состояние спортсмена, сопровождающееся повышением стартовой ЧСС, скорее всего негативно влияет на координационные способности спортсменов, приводит к увеличению ошибочных действий во время пилотирования по ледовой трассе и значительно влияет на спортивный результат.

Таким образом, результаты исследования подтверждают значимость взаимосвязи стартовой ЧСС и показателей спортивной результативности на соревнованиях у скелетонистов.

Мониторинг уровня ЧСС у спортсменов перед стартом на соревнованиях может послужить прогностическим признаком успешности соревновательной деятельности, а в случае выявления нервно-психических состояний проведение мероприятий по их коррекции, с целью улучшения спортивных результатов.

Литература

- [1] Ильин Е.П. Психология спорта/Е.П. Ильин. – СПб.: Питер, 2010.
- [2] Егоров А.С. О психологической «настройке» спортсменов //Легкая атлетика.-2001.-№ 9.

СВОЙСТВА НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КАК ФАКТОРЫ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ЗДОРОВЬЕ ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ ВО ВРЕДНЫХ УСЛОВИЯХ ТРУДА

Т.А. Федорова, Л.В. Янно

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства
e-mail: g_tanya_h@mail.ru

Рабочий процесс сопряжен с риском развития утомления. Утомление связано с напряженностью рабочего процесса, которая создается с помощью различных факторов, влияющих на работоспособность. Длительное утомление приводит к развитию астенического синдрома. Само по себе утомление носит временный характер и нужная гигиена труда и режим отдыха могут помочь работнику бороться с этим состоянием и вовсе его не испытывать. При развитии утомления производительность труда снижается не сразу, сначала возникает психоэмоциональный дискомфорт.

Одним из усугубляющих факторов является работа во вредных условиях. Это дополнительное психоэмоциональное напряжение для работника, а так же влияние этих условий непосредственно на здоровье.

Токсические вещества пагубно воздействуют на нервную систему, что может приводить к расстройствам астенического характера. Проявления астении в первую очередь проявляются на познавательных процессах - памяти и внимания. Объем внимания снижается, запоминание ухудшается.

Для контроля состояния работников необходимо проводить оценку функциональных резервов организма, а так же сенсомоторных систем.

Материалы и методы

В экспедиционных условиях было проведено психофизиологическое исследование 56 работников, имеющих в процессе своей трудовой деятельности контакт с токсическими веществами.

По степени контакта обследуемые были разделены на I и II группы. К I группе относятся лица (19 человек), в процессе своей трудовой деятельности имеющие контакт с токсическими веществами; лица, относящиеся ко II группе (35 человек) такого контакта не имели.

Определялись следующие показатели: скорость реакции, сбалансированность процессов возбуждения и торможения в нервной деятельности по силе, оценка внимания, помехоустойчивость, сила нервной системы. А так же функциональный уровень системы (ФУС), устойчивость реакции (УР) и уровень функциональных возможностей (УФВ) - показатели Т.Д. Лоскутовой, для оценки текущего состояния ЦНС.

Для определения этих параметров использовались методы, реализованные на базе компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования НС-ПсихоТест: оценка внимания, тест «помехоустойчивость», реакция различения.

Математическая обработка материала проводилась с помощью статистического метода «критерий χ^2 » программой Биостатистика и оценивалась с помощью критических значений χ^2 по таблице.

Результаты

В I группе лиц по результатам проведенных методик преобладает инертный тип нервной деятельности. Что говорит о преобладании процессов торможения в нервной системе, сниженной подвижности нервных процессов и проявилось в большем количестве ошибок при выполнении методик и снижении скорости реакции по ходу проведения исследования, что оказалось статистически значимо по сравнению с лицами II группы ($p < 0,05$). Оценка ФУС проводилась в методиках «Оценка внимания», «простая зрительно моторная реакция» и «Помехоустойчивость». Исследование показало, что у большинства наблюдается легкое отклонение от нормы в сторону снижения, УР и УФВ диагностируются в нормальных диапазонах.

Во II группе во всех методиках, кроме методики «Помехоустойчивость» отмечается преобладание лиц с промежуточным типом нервной деятельности. Дополнительные показатели Т.Д. Лоскутовой распределены по схожему принципу, ФУС имеет легкое отклонение от нормы, УР и УФВ в нормальных диапазонах.

Заключение

Таким образом, в группе лиц, в процессе своей трудовой деятельности имеющих контакт с токсическими веществами, достоверно отмечается снижение скорости реакции и подвижности нервной системы и может говорить о недостаточной адаптации и истощении функциональных резервов в процессе проведенного исследования. Рекомендуется динамическое наблюдение данной группы лиц для подтверждения влияния действия токсических веществ на свойства нервной системы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ ПАТОЛОГИИ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА В МОЧЕ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.И. Шмурак, О.И. Орлова, Г.В. Каракашев, Е.И. Савельева

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»

Федерального медико-биологического агентства

e-mail: vladimir.shmurak@gmail.com

Клиническая картина и тяжесть заболевания при нарушениях пуринового обмена значительно различаются. Пурины, так же как и пиримидины, служат в качестве молекул-предшественников в синтезе ДНК и РНК, используются как хранилища энергии, как метаболические регуляторы и присутствуют в качестве промежуточных продуктов в биосинтетических путях [1]. При нарушениях пуринового обмена в первую очередь страдают функции почек и кровеносная система, а накопление плохо растворимых метаболитов, таких как ксантин и мочевая кислота, приводит к образованию камней в мочевыводящих путях и артриту.

Циклофосфамид (циклофосфан, ЦФ), синтезированный в середине прошлого века, до настоящего времени является одним из наиболее широко применяющихся в клинике противоопухолевых препаратов. Неактивный сам по себе, в условиях организма он гидроксيليруется микросомальными монооксигеназами печени с образованием 4-гидроксициклофосфамида, превращающегося при раскрытии кольца в таутомерный альдофосфамид, который неферментативно распадается на активные алкилирующие соединения – фосфорамидный иприт (ФИ) и акролеин [2]. Предполагается, что ФИ отвечает за терапевтическое действие ЦФ, в то время как акролеин вызывает побочные эффекты [3]. Некоторое число работ, начиная с 1984 года, показывает, что ацетилцистеин обладает не только антиоксидантной активностью, но также способен снижать риск развития рака и

других заболеваний, связанных с мутациями ДНК [4]. В то же время показана способность АЦЦ связывать акролеин, выступая в роли протектора при противоопухолевой терапии.

Нами была разработана методика количественного определения в моче биомаркеров пуринового обмена, таких как ксантин, гипоксантин, мочева кислота и алантоин, с использованием внутреннего стандарта в рамках одной процедуры подготовки пробы к анализу [5]. Идентификацию и количественное измерение определяемых соединений в пробах мочи выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием в режиме высокого разрешения с использованием внутреннего стандарта. Разделение компонентов пробы осуществляли на неполярной хроматографической колонке (С-8) жидкостного хроматографа Agilent серии 1200 Infinity, оснащенного автосэплером и термостатом колонки. Детектирование проводили на масс-селективном детекторе Agilent 6530 Accurate mass Q-TOF LC/MS с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении и программным обеспечением для управления и обработки данных «MassHunter».

Методику применили в токсикологическом эксперименте с введением циклофосфамида на фоне приема ацетилцистеина (АЦЦ).

Литература

- [1] Simmonds H.A. et al // *J Inherit Metab Dis*, 1997. V.20. N.2. P.214-226.
- [2] В. И. Каледин, и др. // *Доклады академии наук*, 2008. Т. 420, № 4, С. 568-570
- [3] M. Yoshida et al // *Biochem Biophys Res Comm*, 2009. V.378. P. 313–318
- [4] S. De Flora et al // *Cancerogenesis*, 2001. V.22. N.7. P. 999-1013.
- [5] Шмурак В.И. и др. // *Ядерные техн. на страже здоровья*, 2016. С. 128-130.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ АЗИДОПЕНТОНА И ОСНОВНОЙ СВИНЦОВО-НИКЕЛЕВОЙ СОЛИ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников, Л.П. Точилкина
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства
(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)
г. Волгоград
e-mail: maslennikov@rihtop.ru

Разработка и производство новых энергоемких материалов и их смесевых составов влечет за собой увеличение химической нагрузки на контактирующих и объекты окружающей среды. Особую опасность представляют малоизученные вещества, в частности, компоненты ракетных топлив: поли-3,3-бис(азидометил)оксетан (азидопетон) и основная свинцово-никелевая соль фталевой кислоты (ФНС). В этой связи, в настоящей работе проведена

экспериментальная оценка их возможной мутагенной активности и влияния на генеративную функцию лабораторных животных.

При выполнении исследований компоненты ракетных топлив испытывали в следующих уровнях: азидопентон – 10,0 мг/кг; 3,0 мг/кг и 1,0 мг/кг, основная свинцово-никелевая соль фталевой кислоты – 1,0 мг/кг; 0,3 мг/кг и 0,1 мг/кг.

При характеристике генотоксических свойств токсикантов принимали во внимание, что повреждения наследственной информации могут происходить как на генном, так и хромосомном уровнях. С учётом этого оценку мутагенных свойств веществ проводили в тесте Эймса и методом доминантных летальных мутаций. Исследование гонадо- и эмбриотоксических свойств выполняли с учётом основных положений профильных методических документов.

В ходе изучения перечисленных отдаленных последствий наличия у азидопентона и ФНС мутагенной активности, а также токсического влияния на генеративную функцию самцов крыс не установлено.

Однако репродуктивная функция особей женского пола оказалась более уязвима к воздействию одного из исследуемых компонентов ракетных топлив.

Так, у самок, получавших ФНС на высшем уровне (1,0 мг/кг), обнаружен гонадотоксический эффект, выражавшийся содружественными достоверными изменениями контролируемых органомерических характеристик плаценты (уменьшение диаметра и массы органа), что косвенно указывало на функциональную неполноценность плацентарной системы жизнеобеспечения плода и повышение рисков для развития потомства в ante- и постнатальном онтогенезе. В то же время азидопентон при хроническом пероральном поступлении не оказал негативного влияния на репродуктивную функцию крыс.

Последствия воздействия соединений на грызунов в период гестации также различались. В частности, эмбриолетальная и тератогенная активность, проявлявшаяся снижением плодовитости самок, повышением внутриутробной гибели плодов и появлением достоверно значимых пороков развития костной системы, зафиксирована у азидопентона при его поступлении в организм беременных в максимальной дозе (10,0 мг/кг). При аналогичном режиме введения основная свинцово-никелевая соль фталевой кислоты не оказывала повреждающего действия на развитие потомства *in utero*.

На основании анализа спектра и глубины выявленных отклонений доза поли-3,3-бис(азидометил)оксетана высокомолекулярного 10,0 мг/кг квалифицирована как порог эмбриотоксического действия, уровень воздействия 3,0 мг/кг признан максимально недействующим. Порог гонадотоксического действия основной свинцово-никелевой соли

фталевой кислоты соответствует значению 1,0 мг/кг, а доза 0,3 мг/кг расценена как максимально недействующая.

Изложенные данные включены в состав материалов по экспериментальному обоснованию ПДК обоих соединений в воде водоёмов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСНОВНОЙ СВИНЦОВО-НИКЕЛЕВОЙ СОЛИ ФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»

Федерального медико-биологического агентства

(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

г. Волгоград

e-mail: maslennikov@rihtop.ru

Впервые проведено исследование хронической токсичности компонента твердых ракетных топлив – основной свинцово-никелевой соли фталевой кислоты (ФНС) при экспериментальном обосновании предельно допустимой концентрации вещества в воде водоемов. Соединение используется в качестве катализатора скорости горения композиций баллистического типа. Массовая доля (в пересчете на сухой продукт) свинца 28,0 – 32,0 %, никеля 24,0 – 27,0 %; плотность – 3,25 г/см³. Растворимость в воде – 0,015 г.

Вещество испытано в следующих дозах: 1,0 мг/кг; 0,3 мг/кг и 0,1 мг/кг. Тестируемое соединение в течение шести месяцев вводили крысам-самцам интрагастрально в виде взвеси в 2,5 % растворе водного крахмала при помощи зонда из расчёта 1,0 мл на 100,0 г массы тела. Особи контрольной группы получали адекватные объёмы водного крахмала.

Обследование животных проводили с применением общепринятых тестов: физиологических, поведенческих, биохимических, гематологических и иммунологических. Наряду с этим, осуществлено гистоморфологическое исследование внутренних органов.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что у подопытных грызунов независимо от уровней и длительности воздействия, обнаружен комплекс достоверных сдвигов.

В частности, у особей установлено статистически значимое снижение массы тела, разнонаправленные изменения порога реакции на тепловое воздействие, учащение дыхательных движений, брадикардия, отклонения в поведении (снижение горизонтальной, вертикальной и суммарной активности, повышение норкового рефлекса и эмоциональности).

Статистически достоверное возрастание численности лимфоцитов и уменьшение количества моноцитов зафиксировано в процессе характеристики показателей периферической крови.

Биохимическими исследованиями у крыс, экспонированных ФНС в хроническом режиме, выявлены метаболические сдвиги, включавшие в себя разнонаправленные изменения уровней таких показателей, как мочевины, холестерин, альбумин, глюкоза, триглицериды, креатинин, ЛДГ, АСТ, лактат, отношения лактат/пируват.

При расчёте относительной массы внутренних органов у лабораторных крыс установлено увеличение показателей селезёнки, надпочечников, головного мозга, почек и сердца.

Иммунотоксический эффект соединения проявлялся повышением уровня иммуноглобулинов в периферической крови.

Анализ изложенных результатов исследований свидетельствует о том, что независимо от дозы длительное поступление основной свинцово-никелевой соли фталевой кислоты в организм лабораторных крыс сопровождалось нарушением их гомеостаза. Учитывая количество зарегистрированных отклонений, токсический эффект ксенобиотика существенно уменьшался с убыванием воздействия его уровней, что свидетельствует о наличии дозоэффективной зависимости. Так, в ходе исследования животных первой опытной группы на протяжении 6 месячного опыта выявлено 36 достоверных изменений, 3 из которых выходили за пределы бисигмальных отклонений параллельного контроля. Во второй группе число статистически значимых различий снизилось до 22. При этом значение 1 показателя имело выход за пределы 2 сигм параллельного контроля. У подопытных грызунов, получавших соединение в наименьшем уровне, рассматриваемое соотношение составило 10/0.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что уровни 1,0 и 0,3 мг/кг исследуемого ксенобиотика являются явно действующими. В то же время, принимая во внимание немногочисленное количество изменений у животных при внутрижелудочном поступлении основной свинцово-никелевой соли фталевой кислоты в дозе 0,1 мг/кг, последняя принята в качестве порога хронического общетоксического действия.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРОРАЛЬНОЙ ЭМБРИОТОКСИЧНОСТИ АЗИДОПЕНТОНА

Л.Ю. Бочарова, А.А. Масленников, Л.П. Точилкина
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства
(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)
г. Волгоград
e-mail: maslennikov@rihtop.ru

Промышленное производство новых видов твердых ракетных топлив должно быть экологически безопасно и обеспечено наличием соответствующих гигиенических нормативов. В то же время способность их компонентов (в частности, поли-3,3-бис(азидометил)оксетана) проявлять отдаленные последствия (обязательный раздел исследований при разработке ПДК) практически не изучена. В этой связи цель настоящей работы заключалась в экспериментальной оценке эмбриотоксических свойств указанного соединения при его пероральном воздействии.

В качестве объекта настоящих исследований использован стандартный образец поли-3,3-бис(азидометил) оксетана высокомолекулярного (азидопентона) – CAS № 17607-20-4, представляющий собой нерастворимый в воде порошок, из которого готовили суточную водную вытяжку. Соединение вводили беспородным белым крысам интрагастрально при помощи зонда из расчёта 1,0 мл на 100,0 г массы тела с 1 по 20 день гестации в следующих дозах: 10,0 мг/кг; 3,0 мг/кг и 1,0 мг/кг. Крысы контрольной группы в аналогичном режиме получали дистиллированную воду.

В процессе проведения эксперимента установлено, что вещество не оказывало влияния на способность животных к зачатию и вынашиванию беременности.

На протяжении экспозиционного цикла не установлено патологических отклонений в протекании гестационного периода: репродуктивные органы и средний прирост массы тела самок опытных групп за время беременности не имели значимых отличий от параллельного контроля.

Наряду с этим, в процессе исследования эмбриотоксических свойств компонента твердых ракетных топлив установлено, что у особей, получавших азидопентон в максимальной дозе, обнаружено статистически значимое возрастание общей антенатальной смертности, приводившее к снижению среднего, в расчёте на одну самку, количества живых плодов. Тератогенная активность исследуемого соединения выявлена при микроанатомическом анализе состояния костной системы плодов с просветлёнными мягкими тканями по методике Доусона, о чем свидетельствовало достоверное повышение относительно

параллельного контроля суммарной частоты аномалий у плодов первой опытной группы (10,0 мг/кг).

Выявленные эмбриотоксические свойства азидопентона учтены при расчете его максимально недействующей концентрации по санитарно-токсикологическому признаку вредности, подлежащего обязательной оценке при обосновании ПДК соединения в воде водоемов.

СОСТОЯНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ 3,3-БИС(ХЛОРМЕТИЛ)ОКСЕТАНА

Ю.И. Великородная, А.А. Масленников, А.А. Коба

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»

Федерального медико-биологического агентства

(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

г. Волгоград

e-mail:maslennikov@rihtop.ru

В последнее время при производстве порохов нового поколения активно применяются соединения, для которых на момент выполнения данной работы отсутствовали разработанные необходимые гигиенические нормативы. Одним из таких компонентов является 3,3-бис(хлорметил)оксетан (БХМО, регистрационный номер CAS 78-71-7), по своей структуре относящийся к полимерам.

В рамках выполнения санитарно-токсикологического раздела исследований проведена сравнительная оценка негативного воздействия БХМО на организм лабораторных животных в условиях субхронического (28 дней) и хронического (6 месяцев) экспериментов. Токсикант вводили *per os* крысам-самцам в следующих дозах: 26,0; 5,2 и 1,0 мг/кг в субхронике и 0,3; 0,1 и 0,03 мг/кг в хронике. У животных по окончании всех этапов опытов проводили оценку физиологических, поведенческих, биохимических, гематологических, иммунологических и патоморфологических параметров.

При оценке результатов физиологических показателей в субхроническом эксперименте у подопытных животных отмечено снижение частоты дыхательных движений. Аналогичное изменение зарегистрировано у крыс и в хроническом опыте. Однако при этом у особей опытных групп установлена брадикардия и снижение порога болевой реакции.

В то же время нарушения в поведении лабораторных грызунов имели противоположную направленность в зависимости от длительности эксперимента. Так, если воздействие БХМО в более высоких уровнях в месячном опыте способствовало угнетению у подопытных животных горизонтальной, суммарной активности, а также поискового рефлекса, то экспонирование соединения в низких дозах в условиях хронического эксперимента, наоборот, приводило к

существенному увеличению значений показателей всех поведенческих тестов (горизонтальная, вертикальная, суммарная активность, поисковый рефлекс, груминг).

Выявленные в субхроническом эксперименте изменения в гемограмме, реализованные в увеличении гемоглобина, эритроцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и гематокрита, при постановке более длительного опыта не зарегистрированы.

Сопоставление биохимических данных, полученных по завершении обоих экспериментов, свидетельствовало о равном количестве изменений отдельных показателей, часть из которых имела сходный характер нарушений и идентичную направленность (повышение билирубина и снижение триглицеридов). В то же время в условиях субхроники уровень мочевины в крови подопытных животных снижался, а на протяжении всего хронического опыта оставался повышенным.

Длительное хроническое внутрижелудочное воздействие БХМО оказывало иммунотоксическое влияние на лабораторных животных, проявившееся в активации фагоцитарной активности нейтрофилов, не обнаруженное по окончании субхронического опыта. С другой стороны, экспонирование крыс химагентом в более высоких дозах в течение 28 дней приводило к снижению у них относительной массы легких и печени, не отмеченное по окончании всех этапов хронического эксперимента.

При этом, проведенное в двух опытах патоморфологическое исследование внутренних органов и тканей самцов, межгрупповых отличий не выявило.

Обобщенный анализ данных, полученных в ходе постановки обоих экспериментов, свидетельствует о том, что соединение не зависимо от продолжительности поступления в организм крыс оказывало практически равное по широте эффекта негативное влияние, которое, однако, имело определенную специфичность. Так, если в высоких уровнях при месячном поступлении БХМО обнаруживал выраженные токсические свойства, реализованные в угнетении защитных сил организма, то его более продолжительное введение в меньших дозах вызывало проявление компенсаторно-приспособительных реакций.

Отмеченные особенности негативного воздействия соединений с учетом разных уровней и продолжительности перорального поступления необходимо учитывать при контакте с данным соединением.

ОСОБЕННОСТИ СУБХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
ЭТИЛКАРБИТОЛА И НИТРАТА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Ю.И. Великородная, А.А. Масленников, А.В. Рябова

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»

Федерального медико-биологического агентства

(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

г. Волгоград

e-mail: maslennikov@rihtop.ru

В связи с производством и применением новых компонентов порохов не исключено загрязнения ими основных объектов окружающей среды. Для поливинилнитрата и поливинилбутираля, используемых при производстве порохов, проведена оценка опасности их содержания в воде водоемов [1, 2]. Однако для нитрата целлюлозы на момент выполнения данной работы предельно допустимая концентрация в воде водоемов отсутствовала.

Основанием для выполнения исследований этилкарбитола послужило то обстоятельство, что в процессе экспериментального изучения его токсических свойств сотрудниками ФГУП «НИИГТП» ФМБА РФ выявлено явное негативное действие соединения на организм лабораторных животных при пероральном поступлении на уровне действующей ПДК (0,3 мг/л). Исходя из этого, с целью обеспечения безопасности контактирующих было принято решение о проведении экспериментальных работ по пересмотру гигиенического норматива этилкарбитола в воде водоемов. Представленные результаты субхронических экспериментов по обоим веществам являлись составной частью санитарно-токсикологического раздела исследований.

В процессе выполнения экспериментальных работ руководствовались положениями действующих «Методических указаний ...» МУ 2.1.5.720 – 98.

Этилкарбитол испытывали на крысах-самцах в следующих дозах: 60,0 мг/кг; 12,0 мг/кг и 2,4 мг/кг, а нитрат целлюлозы – 200,0 мг/кг; 70,0 мг/кг и 25,0 мг/кг.

На 14-е и 28-е сутки эксперимента после регистрации физиологических показателей, оценки поведения и забора крови для гематологических, биохимических и иммунологических тестов животных умерщвляли методом декапитирования для патоморфологического изучения внутренних органов.

В ходе исследований у подопытных крыс, независимо от дозы оцениваемых веществ, зафиксирован комплекс достоверных сдвигов, которые обладали рядом особенностей.

Так, пероральное введение этилкарбитола приводило к появлению брадикардии, а также изменению поведения самцов (увеличение двигательной активности, поисковой реакции). При оценке гематологических параметров установлено, что токсикант вызывал существенное снижение гемоглобина и гематокрита. Биохимический анализ крови выявил как значительные

нарушения в углеводном обмене, так и признаки развития гепатотоксического эффекта. Расчет относительной массы внутренних органов крыс показал увеличение массы печени, почек и сердца. Кроме того, вещество обладало определенным иммунотоксическим эффектом (снижение количества Т-и В-лимфоцитов).

В противоположность отмеченному внутрижелудочное введение нитрата целлюлозы вызывало иную картину нарушений. Так в ходе оценки интегральных показателей у самцов отмечена тахикардия. Изменений поведения у подопытных особей в оба срока тестирования не выявлено. При этом у крыс зарегистрировано существенное увеличение гематокритной величины, но нарушений биохимических показателей крови не установлено. Однако расчетные значения относительной массы печени и почек достоверно снижены. В ходе оценки иммунного статуса животных отмечены изменения, имевшие, в отличие от этилкарбитола, другой характер нарушений, реализованный в увеличении бактерицидной активности и наличии модулирующего эффекта на функциональное состояние циркулирующих фагоцитов крови. Общим для обоих веществ является факт отсутствия патологических изменений при изучении микроскопического строения внутренних органов и тканей подопытных крыс.

Анализ качественных и количественных нарушений свидетельствует о том, что этилкарбитол проявил более выраженное токсическое действие в существенно меньших уровнях, чем нитрат целлюлозы. В то же время у нитрата целлюлозы установлено наличие слабого кумулирующего эффекта, который отсутствовал у этилкарбитола.

Выявленные особенности негативных проявлений обоих соединений учтены при обосновании их ПДК в воде водоемов.

Литература

- [1] Масленников А.А., Демидова С.А., Рябова А.В. Экспериментальная оценка опасности загрязнения компонентом порохов воды водоемов // Медицина экстремальных ситуаций. 2015. № 3. С. 78-86.
- [2] Масленников А.А., Демидова С.А., Рябова А.В. Эколого-токсикологическая оценка опасности загрязнения воды водоемов поливинилнитратом // Токсикологический вестник. 2018. № 1. С. 12-19.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОКСАЗИНА

А.В. Рябова, А.А. Масленников

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства
(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

г. Волгоград

e-mail: maslennikov@rihtop.ru

Производство в промышленных масштабах новых компонентов порохов требует обязательного наличия комплекса соответствующих гигиенических нормативов, как в производственной зоне, так и объектах окружающей среды, необходимых для обеспечения санитарного надзора за степенью их загрязнения. Для двух полимеров, используемых при производстве порохов, проведена оценка опасности их содержания в воде водоемов [1, 2]. Однако для метоксазина такие исследования отсутствовали. Представленные в настоящей работе данные являлись составной частью экспериментального обоснования ПДК метоксазина при его содержании в воде водоемов.

Исследования проведены в соответствии с действующими «Методическими указаниями ...» МУ 2.1.5.720 — 98.

В ходе проведения хронического опыта соединения испытывали в следующих дозах: 0,3 мг/кг; 0,1 мг/кг; 0,03 мг/кг. Продолжительность эксперимента составила 6 месяцев. Состояние крыс-самцов оценивали ежемесячно с применением комплекса физиологических, поведенческих, гематологических, биохимических, патоморфологических и иммунологических тестов по общепринятой схеме. Кроме того, рассчитывали относительную массу внутренних органов.

На протяжении периода экспозиции выявлено, что соединение во всех трех дозах оказывало негативное воздействие на крыс, как по широте, так и глубине эффекта. В частности, при проведении физиологических тестов установлены разнонаправленные значимые сдвиги частоты дыхательных движений подопытных особей, получавших вещество в двух больших уровнях. При оценке поведения зафиксированы достоверные изменения горизонтальной и суммарной активности у животных всех опытных групп, а так же вертикальной активности и норкового рефлекса у самцов, получавших токсикант на уровне 0,3 мг/кг. Анализ гематологических данных показал увеличение уровня гемоглобина (у животных первой и второй группы) и гематокрита, у особей подвергавшихся воздействию ксенобиотика в дозе 0,3 и 0,1 мг/кг. Кроме того, отмечены незначительные изменения иммунного статуса организма, а так же зарегистрированы значимые сдвиги основных обменных процессов в крови самцов первой и второй опытных групп относительно

параллельного контроля. При расчете относительной массы внутренних органов установлено снижение массы легких и селезенки у крыс, однако при патоморфологических исследованиях структурные изменения данных органов отсутствовали.

По завершении эксперимента общее количество достоверных изменений составило у животных, получавших ксенобиотик в наибольшей дозе – 17, 2 из которых выходили за пределы бисигмальных отклонений параллельного контроля. При снижении количества соединения, вводимого самцам, в 3 раза данное соотношение составило – 10/1. А у крыс третьей подопытной группы – 4/1.

Количество выявленных, в условиях хронического эксперимента, нарушений свидетельствует о наличии у вещества дозозависимого эффекта.

В качестве величины порога хронического общетоксического действия метоксазина принята доза равная 0,03 мг/кг.

Полученные данные необходимо учитывать при контакте с данным компонентом порохов.

Литература

- [1] Масленников А.А., Демидова С.А., Рябова А.В. Экспериментальная оценка опасности загрязнения компонентом порохов воды водоемов // Медицина экстремальных ситуаций. 2015. № 3. С. 78-86.
- [2] Масленников А.А., Демидова С.А., Рябова А.В. Эколого-токсикологическая оценка опасности загрязнения воды водоемов поливинилнитратом // Токсикологический вестник. 2018. № 1. С. 12-19.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБХРОНИЧЕСКОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОКСАЗИНА И ПОЛИВИНИЛНИТРАТА

А.В. Рябова, А.А. Масленников

Федеральное государственное унитарное предприятие

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»

Федерального медико-биологического агентства

(ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)

г. Волгоград

e-mail:maslennikov@rihtop.ru

Проблема загрязнения окружающей среды компонентами нового поколения порохов представляется достаточно актуальной. При этом для поливинилнитрата выполнена эколого-токсикологическая оценка опасности его содержания в воде водоемов [1]. В то же время на момент выполнения данных работ аналогичные исследования метоксазина отсутствовали. В этой связи представляет несомненный как научный, так и практический интерес сопоставление негативных проявлений рассматриваемых компонентов порохов на организм лабораторных животных в условиях длительного воздействия, что и явилось целью настоящих

исследований.

В качестве объектов исследований использованы стандартные образцы метоксазина и поливинилнитрата. Метоксазин – (метиленис(N'-метоксидиазено-N-оксид), молекулярная масса 164,12 а.е.м. Твердое кристаллическое вещество с дисперсностью менее 5 микрон (95%). Растворимость в воде $\approx 2,5$ г/ 100 мл воды.

Поливинилнитрат (азотнокислый эфир поливинилового спирта, ПВН), Регистрационный номер CAS 26355-31-7. Термопластичный полимер с содержанием азота 15,0 – 15,45 %, плотностью (1,52 – 1,6) г/см³. Не растворим в одно- и многоатомных спиртах, воде.

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах по 16 особей в группе, с исходной массой тела 200,0-250,0 г.

При выполнении субхронических опытов животным вводили метоксазин в дозах 30,0 мг/кг; 6,0 мг/кг и 1,0 мг/кг, а поливинилнитрат – 150,0 мг/кг; 50,0 мг/кг и 16,6 мг/кг.

С целью выявления способности соединений к кумуляции лабораторных грызунов обследовали на 14 и 28 сутки экспериментов с применением комплекса общепринятых тестов: физиологических, поведенческих, гематологических, биохимических и иммунологических. Кроме того, проводили морфологическую оценку внутренних органов.

Опыты проведены в соответствии с действующими «Методическими указаниями ...» МУ 2.1.5.720 — 98.

В ходе выполнения исследований установлено, что оба вещества не зависимо от дозы и продолжительности воздействия оказывали на подопытных самцов токсическое влияние.

Так в отсутствие отклонений физиологических показателей, тестируемые химагенты способствовали изменению поведения крыс, оказавшиеся более значимыми как по широте, так и глубине эффекта при поступлении метоксазина. В частности, если ПВН однократно на 14 сутки опыта вызывал достоверное понижение у грызунов только поискового рефлекса, то метоксазин в указанный срок повышал двигательную активность самцов (с выходом значений вертикальной активности у животных всех групп за пределы 2 сигм контроля) и снижал показатель груминга.

Негативное воздействие метоксазина реализовалось и в сдвиге гематологических показателей (стойкое снижение численности гранулоцитов в ходе всего опыта на фоне повышения тромбоцитов). При этом ПВН не изменял гемограмму самцов.

Помимо указанного при поступлении метоксазина в организм животных отмечено массовое и продолжительное повышение значений ряда биохимических показателей, характеризующих белковый и липидный обмен, ряд из которых выходил за пределы физиологических норм контрольных значений. В противоположность отмеченному

субхроническое воздействие ПВН вызывало однократное понижение билирубина и аланинаминотрансферазы.

В то же время тестирование животных, получавших ПВН в течение 28 суток, вывило более значимое по широте и продолжительности негативное воздействие на их иммунный статус. Метоксазин, напротив, способствовал только однократному повышению количества содержания в селезенке самцов В-лимфоцитов.

Следует особо отметить отсутствие у обоих соединений способности проявлять кумулятивные свойства.

Обобщая полученные данные, можно констатировать следующее. Сопоставление уровней субхронического воздействия двух компонентов порохов и характера качественных и количественных изменений, в организме подопытных животных, позволяет констатировать превалирование токсического эффекта у метоксазина.

Установленный факт свидетельствует о проявлении повышенной токсичности и опасности данного соединения, что необходимо учитывать при длительном контакте с ним.

Литература

- [1] Масленников А.А., Демидова С.А., Рябова А.В. Эколого-токсикологическая оценка опасности загрязнения воды водоемов поливинилнитратом // Токсикологический вестник. 2018. № 1. С. 12-19.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ЦИНКА

Ю.М. Гармаза, А.В. Тамашевский

Государственное научное учреждение “Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси”, Минск, Беларусь

e-mail: garmaza@yandex.ru

Известно, что цинк (Zn^{2+}) является одним из жизненно важных микроэлементов организма человека, который контролирует такие процессы жизнедеятельности как пролиферация, дифференцировка и клеточная гибель, может имитировать действие гормонов, ростовых факторов, цитокинов, тем самым, выступая в качестве “сигнальной молекулы”. При этом физиологическая концентрация ионов цинка в сыворотке крови человека составляет порядка 2–15 мкМ, в то время как их свободный уровень в большинстве клеток чрезвычайно низкий (~1 нМ). К настоящему времени накоплен эмпирический материал о негативных эффектах повышенной концентрации ионов цинка в клетках как при физиологических (возрастные изменения), так и при патологических (артериальная гипертензия, болезнь Альцгеймера и др.) условиях в организме. Цинк является также одним из наиболее распространенных токсичных компонентов крупномасштабного загрязнения окружающей среды (выброс оксида цинка в атмосферу происходит при высокотемпературных

технологических процессах), а при ингаляционном воздействии паров, содержащих цинк даже в низких концентрациях, выявлены серьезные нарушения здоровья человека [1]. Определение нарушений функционирования клеток крови, вызванных высокой концентрацией ионов цинка, является сложной задачей, которая пока не решена. Известно, что клетки крови первыми реагируют на неблагоприятные факторы, а клеточная мембрана является главной мишенью действия токсичных агентов. В связи с этим на протяжении последних 10 лет в нашей лаборатории (медицинской биофизики) активно проводятся исследования молекулярно-мембранных механизмов действия ионов цинка в физиологических (порядка 2–15 мкМ), фармакологических (до 100 мкМ) и токсичных (свыше 100 мкМ) концентрациях на эритроцитах человека.

Целью работы явилась разработка клеточной тест-системы для оценки токсичности ионов цинка в организме человека на основе анализа полученных нами данных о молекулярно-мембранных ответах эритроцитов в условиях нарушения цинкового гомеостаза [1]. Эритроциты человека были выбраны в качестве объекта, т.к. они являются подходящими клетками для оценки статуса цинка в организме (при попадании соединений цинка в кровь человека в них накапливается более 90% микроэлемента), а отсутствие ядра позволяет исключить возможные генотоксические эффекты этого микроэлемента.

Принцип анализа основан на флуориметрическом исследовании суспензии эритроцитов периферической крови человека, проинкубированных с флуоресцирующими красителями (FluoZin-3-AM, кальцеин-AM, 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетат (H₂DCF-DA)), а также с рекомбинантным белком (аннексин V-FITC). Специфичность данного анализа заключается в использовании высоколипофильных красителей, быстро проникающих через плазматическую мембрану клеток и подвергающихся деацетилированию внутриклеточными эстеразами до флуоресцирующих соединений (FluoZin-3, кальцеин, дигидрофлуоресцеин (DCF)), по интенсивности флуоресценции которых можно судить об изменении внутриклеточной концентрации лабильных ионов цинка, жизнеспособности клетки и уровня активных форм кислорода, соответственно, что может свидетельствовать о внутриклеточных изменениях, предшествующих апоптозу (ранняя стадия). В свою очередь, метод с использованием аннексина-V основан на быстром и селективном связывании с фосфатидилсерином, находящимся на внешнем монослое липидного бислоя клеточной мембраны, свидетельствующим об апоптотических изменениях в клетке (поздняя стадия).

Схематическое изображение предложенной клеточной тест-системы для определения токсичности ионов цинка в организме человека по изменению параметров флуоресцентных зондов в эритроцитах представлено на рисунке 1.

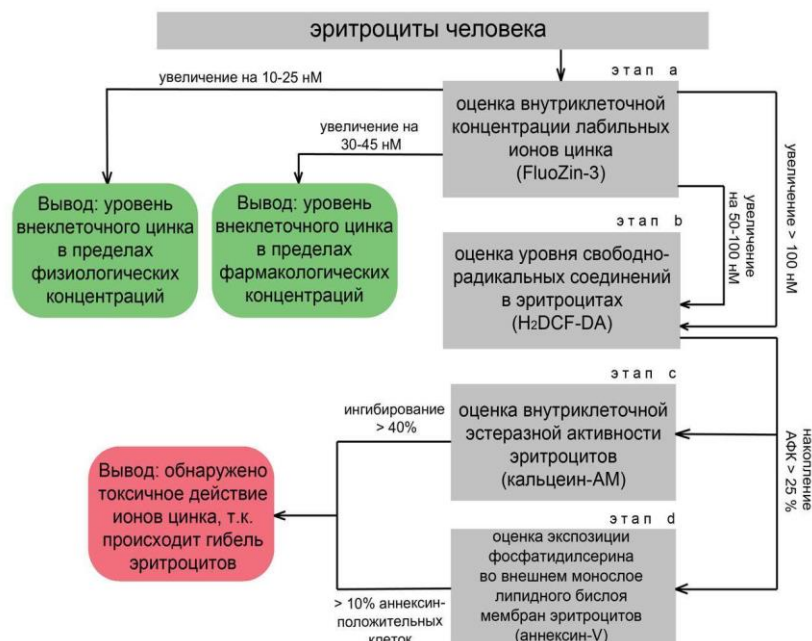


Рисунок 1 - Схематическое изображение клеточной тест-системы для оценки токсичности ионов цинка.

Сначала проводится этап "а". 1) Если концентрация Zn^{2+} > на 10–45 нМ, то можно считать отсутствие его токсичного действия в организме. Проведение этапов "б"–"д" не требуется. 2) Если концентрация Zn^{2+} > на 50–100 нМ, то необходимо проведение этапа "б". Если обнаружено накопление АФК до 20%, то можно считать, что нет изменений в жизнеспособности клеток, но необходимо проведение последующих проверок через 5-7 дней, т.к. при долгосрочном воздействии Zn^{2+} возможна последующая гибель клеток.

3) Если концентрация Zn^{2+} > на 100 нМ необходимо проведение этапов "б"–"д". Если в клеточной системе обнаружено накопление АФК (> 25%), ингибирование цитозольной эстеразной активности (> 40%) и экспозиция фосфатидилсерина во внешний монослой (> 10% аннексин-позитивных клеток), то токсичное действие цинка выявлено.

Разработанная тест-система предназначена для оценки влияния Zn^{2+} на эритроциты при проведении "цинковой терапии" и является полезной для создания методов коррекции патологий, вызванных дисбалансом цинка в организме человека.

Литература

- [1] Harmasa Y.M., Slobozhanina E.I. // Biofizika. 2014. V. 59. N. 2. P. 322-337.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПЛАЗМИДНЫХ ДНК ПОСЛЕ ПОДОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ МАЛАТИОНОМ

Т.В. Щербаков¹, В.В. Шилов¹, М.А. Юдин²

¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья», Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
e-mail: taraskbr@yandex.ru, vshilov@inbox.ru

Цель исследования: изучение эффективности геннотерапевтических препаратов, кодирующих синтез факторов роста нервов, на модели токсической нейропатии при подостром отравлении малатионом.

Задачи исследования:

- разработать модель токсической нейропатии
- на разработанной модели изучить эффективность геннотерапевтических препаратов.

Объект исследований – крысы линии Wistar, подверженные воздействию малатиона (внутрижелудочное введение малатиона в дозе 0,5 ЛД₅₀ трехкратно с интервалом 24 часа). Развитие периферической нейропатии подтверждали данными электронейромиографии (ЭНМГ) с использованием электронейромиографа «Нейро-ЭМГ-Микро» и тактильной чувствительности, которые исследовались до и через 7, 14, 21 и 28 сут после подострого отравления малатионом.

В ходе исследований доказано, что рекомбинантные плазмидные ДНК (РПД) оказывает достоверный положительный эффект по уменьшению частоты встречаемости отклонений показателей ЭНМГ. Эффективность фактора роста эндотелия сосудов (РПД VEGF) характеризовалась кратковременным уменьшением количества животных с отклонениями порога раздражения нерва, длительности и амплитуды М-ответа. У животных контрольной группы отмечали достоверное изменение большинства показателей, что дает право говорить о снижении исследовательского поведения после подострого отравления малатионом. Применение фактора роста нервов (РПД NGF) и РПД VEGF частично компенсировало изменения в ориентировочно-исследовательском поведении. Так по отношению к контролю было отмечено достоверное уменьшение латентного периода выхода из центра, а также число пересечений квадратов. По данным электронейромиографии можно говорить об эффективности РПД NGF (наименьшее снижение параметров ЭНМГ относительно фоновых показателей: максимальный М-ответ и площадь М-ответа в 3 раза, амплитуда и длительность М-ответа в 2,5 раза).

В целом, данные проведенных экспериментов показали, что оказывает более эффективное действие на нервно-мышечную проводимость и предупреждает развитие периферической нейропатии после подострого отравления малатионом в дозе 0,5 ЛД₅₀.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- | | | |
|------------------------------|----------------------------|--|
| Абзианидзе В.В. 26, 111 | Горбунов А.Ю. 25, 131 | Кобцов С.Н. 28 |
| Александров Г.В. 69 | Горбунов Н.П. 62 | Коваленко И.В. 28 |
| Алюшина Т.И. 51, 93 | Грибкова С.Е. 38 | Колобов А.А. 29 |
| Андреев К.В. 28 | Григорьев А.М. 20, 38 | Колобова Е.А. 140, 141 |
| Андреева Е.Ю. 136 | Григорьева Т.А. 98, 114 | Колюбакин С.Д. 30 |
| Антипов Е.А. 143 | Гуреев М.А. 98 | Комбарова М.Ю. 147 |
| Арефьева Д.В. 100 | Гусев Д.М. 99 | Конева В.Ю. 104 |
| Артемов И.В. 109 | Густылева Л.К. 51 | Короткевич Е.И. 105, 107 |
| Ачкасова О.И. 58, 145 | Гюльмамедов Э.Ю. 147 | Корягина Н.Л. 51, 93, 128 |
| Бабаков В.Н. 25, 36, 131 | Демидов О.М. 122 | Кострова Т.А. 66 |
| Бакина В.Н. 82 | Демьянова Е.В. 42 | Кострюкова Л.В. 107 |
| Балабанова О.Л. 20 | Денисенко Е.С. 62 | Кочкин А.С. 109 |
| Баландин Н.В. 94 | Дохов М.А. 100 | Кочура Д.М. 32, 111 |
| Баяшова В.В. 47 | Дубровина И.А. 75 | Криворотов Д.В. 32, 111 |
| Белинская Е.А. 96 | Дубровский Я.А. 25, 36 | Криницын Н.В. 149 |
| Бельская А.В. 68, 113 | Егоров Н.А. 149 | Крылова М.В. 152 |
| Бельтюков П.П. 25, 36, 117 | Егорова Д.А. 102 | Крысько М.В. 34 |
| Беляева А.В. 60 | Ермолаева И.А. 136 | Кузнецов В.А. 22, 32, 26, 111 |
| Бокарева Д.А. 44 | Ефимова Е.Л. 150 | Кузьмина Т.И. 54, 72, 88 |
| Бондаренко А.А. 68, 113 | Жахов А.В. 42, 62 | Ларионов А.Н. 109 |
| Борунов А.А. 58, 145 | Захаренкова С.А. 26 | Ларькина М.В. 49 |
| Бочарова Л.Ю. 160, 162, 164 | Захаров М.С. 69 | Лисицкий Д.С. 68, 113 |
| Бунев А.С. 99 | Зенкевич И.Г. 13, 40 | Лодягин А.Н. 20 |
| Быховец Г.В. 152 | Золотоверхая Е.А. 66 | Лякин А.С. 109 |
| Ваулин Г.Ф. 100 | Зыкова Г. В 96 | Лянгинен Л.В. 68 |
| Вахитов Т.Я. 42, 80 | Иващенко Д.В. 143 | Мазина С.Е. 96 |
| Вахитова Ю.В. 23 | Ипатова О.М. 107 | Мандыч В.Г. 28 |
| Великородная Ю.И. 165, 167 | Исаев И.Н. 28 | Мартинovich Н.Н. 111 |
| Ветошкин С.Л. 56 | Исаева А.Ю. 56 | Масленников А.А. 160, 162, 164, 165, 167, 169, 170 |
| Войцехович К.О. 113 | Ищенко А.М. 42, 62 | Медведев Д.С. 132, 149 |
| Воронина П.А. 22, 117 | Кабакова Н.А. 150 | Медведева Н.В. 107 |
| Гарабаджиу А.В. 98, 114, 116 | Калашников В.А. 38 | Мелехова А.С. 68, 113 |
| Гармаза Ю.М. 172 | Калашникова И.В. 44 | Мельников П.А. 23 |
| Гарнюк В.В. 153 | Камшилин С.А. 64 | Михайлов В.Г. 56 |
| Гемуа И.А. 138 | Каракашев Г.В. 51, 93, 159 | Михайлова М.В. 68, 113 |
| Гладких В.Д. 94 | Кессених Е.Д. 51, 128 | Михеева М.Е. 69 |
| Глазков А.В. 28 | Кириллова С.М. 56 | Могиленкова Л.А. 16 |
| Глушков С.И. 20 | Кирьянова А.С. 69 | Мокшанов И.В. 136 |
| Голованов А.А. 23, 99 | Коба А.А. 165 | Мурашко Е.А. 25, 36 |

- Мусатова В.Ю. 44
 Мясников В.А. 75
 Немец В.В. 153
 Никитин Е.В. 38
 Новиков М.А. 77
 Новикова Д.С. 98, 114
 Новичкова Д.А. 72
 Нугманова Т.А. 44
 Один И.С. 23
 Оковитый С.В. 126
 Орлова Д.Д. 116
 Орлова О.И. 159
 Оськина Д.Г. 154
 Павлова А.Н. 156
 Паламарчук К.В. 44
 Петров Н.Ю. 156
 Петушок А.В. 100
 Плотникова И.С. 90
 Подольская Е.П. 131
 Полянская А.Э. 69
 Прозоровский В.Н. 107
 Прохоренко О.А. 150
 Пушкарева Т.И. 40
 Радилов А.С. 84, 93, 120, 128
 Рамш С.М. 22
 Рембовский В.Р. 16
 Рован Е.Д. 22, 117, 153
 Роговская Н.Ю. 25
 Родин И.А. 38
 Рощина Е.К. 80
 Румянцева А.Б. 69
 Руссу А.Д. 118
 Рябова А.В. 167, 169, 170
 Савельева Е.И. 18, 51, 93, 120, 128, 159
 Салль Т.С. 42
 Светкина Е.В. 140, 141
 Семенов С.А. 44
 Серёдкин Ю.А. 74, 132
 Сиваченко И.Б. 74, 132
 Синегубова Е.О. 75
 Ситкин С.И. 42, 80
 Слустовская Ю.В. 34
 Смирнов В.В. 147
 Смирнова М.П. 29
 Смирнова О.Д. 44
 Соболев В.Е. 71, 153
 Соболев Д.Н. 47
 Сорокоумов П.Н. 120
 Соседова Л.М. 77
 Станиславович Т.И. 54
 Степанов Я.А. 136
 Степанова Н.В. 136
 Стернин В.Е. 100
 Стрелова О.Ю. 34
 Ступникова М.П. 122
 Тамашевский А.В. 172
 Татарина О.М. 150
 Титов Е.А. 77
 Тихонова Е.Г. 105
 Толкач П.Г. 79
 Торопов В.А. 80
 Торховская Т.И. 107
 Точилкина Л.П. 160, 164
 Трапезникова Е.Г. 156
 Трибулович В.Г. 98, 114, 116
 Тришин Ю.Г. 26
 Уколов А.И. 84, 128
 Ушал И.Э. 140, 141
 Федорова Т.А. 157
 Фейсханов М.Р. 49
 Ферезанова М.В. 109
 Филатов Е.В. 122
 Филимонов В.Б. 82
 Филиппов В.Л. 74
 Хлебникова Н.С. 93, 128
 Хонина Т.Г. 88
 Хуттунен О.Э. 69
 Челуснова Ю.В. 124
 Чермашенцева Э.В. 86
 Чиков А.Е. 149
 Чистый Л.С. 124
 Чистякова Е.Ю. 126
 Чистякова И.В. 88
 Чурилова И.В. 102
 Шалаева О.Н. 80
 Шачнева М.Д. 51, 128
 Шилов В.В. 20, 174
 Шишенок М.Ф. 134
 Шмурак В.И. 51, 153, 159
 Штрыкова Е.В. 90
 Щепеткова К.М. 66
 Щербаков Т.В. 174
 Щербакова Е.С. 42
 Щипалкин А.А. 22, 117
 Эрдниева Л.П. 136
 Юдин М.А. 174
 Янно Л.В. 82, 150, 157