

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРОФИЛИ ВРЕДНЫХ ЭФФЕКТОВ ДЛИТЕЛЬНОГО ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕТРАБРОМЭТАНА

Александр Степанович ОГУДОВ, Галина Петровна ИВЛЕВА,
Галина Александровна КОРОТАЕВА, Елена Викторовна РЕЗАНОВА,
Нина Александровна ЗУБЦОВСКАЯ

Новосибирский НИИ гигиены Роспотребнадзора
630108, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, 7

Цель исследования – разработка диагностических профилей вредных эффектов, вызванных длительным ингаляционным воздействием 1,1,2,2-тетрабромэтана (ТБЭ). **Материал и методы.** Объектом исследования являлись белые крысы-самцы, которые в течение трех месяцев подвергались круглосуточному ингаляционному воздействию ТБЭ. Концентрацию ТБЭ в пробах воздуха из затравочных камер определяли на хроматографе «Agilent 7890В» (Франция). С помощью общепринятых и унифицированных лабораторных методов проводили общий анализ мочи и биохимические исследования крови, взятой из хвостовой вены. **Результаты и их обсуждение.** Ингаляционные затравки ТБЭ в концентрациях $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$, $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ приводили к структурно-функциональным изменениям органов-мишеней, выраженность и спектр которых нарастали по мере повышения уровня токсического воздействия. Анализ материалов лабораторных исследований установил комплекс отклонений биохимических показателей, имеющих биологически оправданные связи с механизмами токсического действия и патоморфологическими изменениями органов-мишеней. При планировании клинических исследований с высокой вероятностью следует ожидать диагнозы, относящиеся к критическим органам и системам – нервной системе, печени и почкам.

Ключевые слова: ингаляционное воздействие 1,1,2,2-тетрабромэтана, вредные эффекты, диагностические профили.

Оценка вреда, причиняемого здоровью населения при воздействии химических факторов среды обитания, является актуальной задачей профилактической медицины [2]. Качественное и количественное определение лабораторных показателей, адекватных характеру и уровню воздействия химического фактора, осуществляется на этапе медико-биологических исследований. Вместе с тем, согласно установке экспертов ВОЗ, выводы о наличии зависимостей между отклонениями лабораторных показателей и уровнем токсического воздействия должны базироваться на материалах патоморфологических исследований [6]. Исследование морфогенеза эффектов воздействия, являющегося выражением механизмов токсичности, предполагает использование в хроническом эксперименте нескольких уровней концентраций токсиканта. «Концептуаль-

ным мостом», связующим экспериментальные и медико-биологические исследования, являются современные представления о вредных для здоровья эффектах, включающих изменения не только морфологии, но и физиологии и способности компенсировать дополнительный стресс [5]. Научное обоснование системы лабораторных тестов вредных для здоровья эффектов, эквивалентных патоморфологическим изменениям органов-мишеней, и их группирование в диагностические профили способны существенно повысить эффективность профилактики нарушений здоровья населения при воздействии химических факторов среды обитания.

Целью исследования была разработка диагностических профилей вредных эффектов, вызванных длительным ингаляционным воздействием 1,1,2,2-тетрабромэтана (ТБЭ).

Огудов А.С. – к.м.н., зав. отделом токсикологии, e-mail: ogudov.tox@yandex.ru

Ивлева Г.П. – к.м.н., ученый секретарь, e-mail: ivlevagp@niig.su

Коротаева Г.А. – научный сотрудник отдела токсикологии, e-mail: galinakorotaeva2016@yandex.ru

Резанова Е.В. – научный сотрудник отдела токсикологии, e-mail: elena_ostanina@mail.ru

Зубцовская Н.А. – научный сотрудник организационно-методического отдела, e-mail: zubtsovskaya_na@niig.su

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись белые крысы-самцы, которые в течение трех месяцев подвергались круглосуточному ингаляционному воздействию ТБЭ в концентрациях $0,03 \pm 0,002$ (1-я основная группа), $0,2 \pm 0,01$ (2-я основная группа), $0,6 \pm 0,03$ (3-я основная группа) и $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ (4-я основная группа). Концентрацию ТБЭ в пробах воздуха из затравочных камер определяли на хроматографе «Agilent 7890В» (Франция). Экспериментальные исследования выполняли в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (Приказ МЗ России № 708н от 23.08.2010). Выбор маркеров ответа основывался на представленной в научной литературе информации о токсикодинамике ТБЭ [1, 8, 9]. Лабораторное обследование животных основных и контрольной групп включало фоновое исследование, проводимое до начала эксперимента, и шесть динамических исследований – в конце 2-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-й недели затравок. С помощью общепринятых и унифицированных лабораторных методов выполняли общий анализ мочи и биохимические исследования крови, взятой из хвостовой вены крыс. Для сбора проб мочи крысам давали 3%-ю водную нагрузку, помещали в обменные клетки. Для количественного определения белка в моче (БМ) использовали колориметрический метод. Концентрации в сыворотке крови креатинина (КР), мочевины (МН), общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли на анализаторе биохимическом AU480 («Beckman Coulter», США) с использованием стандартных наборов. По завершении периода затравок, после декапитации выполняли отбор легких, печени и почек крыс основных и контрольной групп и подвергали их гистологическим исследованиям по общепринятой схеме.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что ингаляционные затравки ТБЭ в концентрациях $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$ и $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ приводят к структурно-функциональным изменениям органов-мишеней, выраженность и спектр которых нарастает по мере усиления токсического воздействия. В частности, в срезах ткани легких выявлено увеличение толщины межальвеолярных перегородок, площади зон дистелектазов, полнокровия сосудов микроциркуляторного русла, активности альвеолярных макрофагов и воспалительной инфильтрации бронхов. Воздействие

ТБЭ в концентрации $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ вызывало выраженные явления перибронхиального фиброза, васкулита, ацинарной серозной пневмонии и аллергического воспаления в ткани легких. Дистрофические поражения в паренхиме печени по мере повышения уровней экспозиции ТБЭ модифицировались в некробиотические и некротические изменения гепатоцитов. На этом фоне усиливались проявления нарушений кровообращения, воспалительного и фибропластических процессов в портальных трактах, пролиферация клеток ретикулогистиоцитарной системы. В срезах ткани почек при усилении интенсивности ингаляционного воздействия установлено сокращение количества клубочков, нарастание полнокровия капиллярных петель и кровоизлияний в просветы капсул, изменения почечных канальцев достигали степени некронефроза. Усиливались отек стромы, очаговая лимфоцитарная инфильтрация, дистрофические и склеротические изменения. Анализ морфологических данных позволил констатировать, что последовательными стадиями поражения органов-мишеней при ингаляционном воздействии ТБЭ выступают дистрофия и некроз. Закономерным следствием тканевого повреждения являлось развитие системного воспалительного ответа при повышении уровней экспозиции с исходом в фиброз. При ингаляционном воздействии ТБЭ в концентрации $0,03 \pm 0,002$ мг/м³ специфических изменений со стороны органов-мишеней не обнаружено.

Анализ материалов лабораторных исследований установил комплекс отклонений биохимических показателей, имеющих биологически оправданные связи с механизмами токсического действия и патоморфологическими изменениями органов-мишеней. Степень повреждения внешних мембран гепатоцитов (увеличение выхода в системный кровоток АЛТ) в фазу первичных реакций хронической интоксикации имела зависимость от концентраций ТБЭ $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$, $1,8 \pm 0,07$ мг/м³, что правдоподобно отражало гепатотоксический эффект (рисунок, а, в, д). Приспособительное усиление процессов глюконеогенеза и анаэробного гликолиза (увеличение выхода в системный кровоток АСТ и ЛДГ) при воздействии ТБЭ в концентрациях $0,03 \pm 0,002$ и $0,2 \pm 0,01$ мг/м³ отмечалось в период от 2-й до 6-й недели затравок [4]. В заключительном периоде затравки активность АЛТ, АСТ и ЛДГ во 2-й основной группе утрачивала характер вредного эффекта, что ассоциировалось со становлением фазы компенсации хронической интоксикации ТБЭ. При возрастании интенсивности ингаляционного воздействия максимумы активности АСТ и ЛДГ смещались на более поздние сроки, что от-

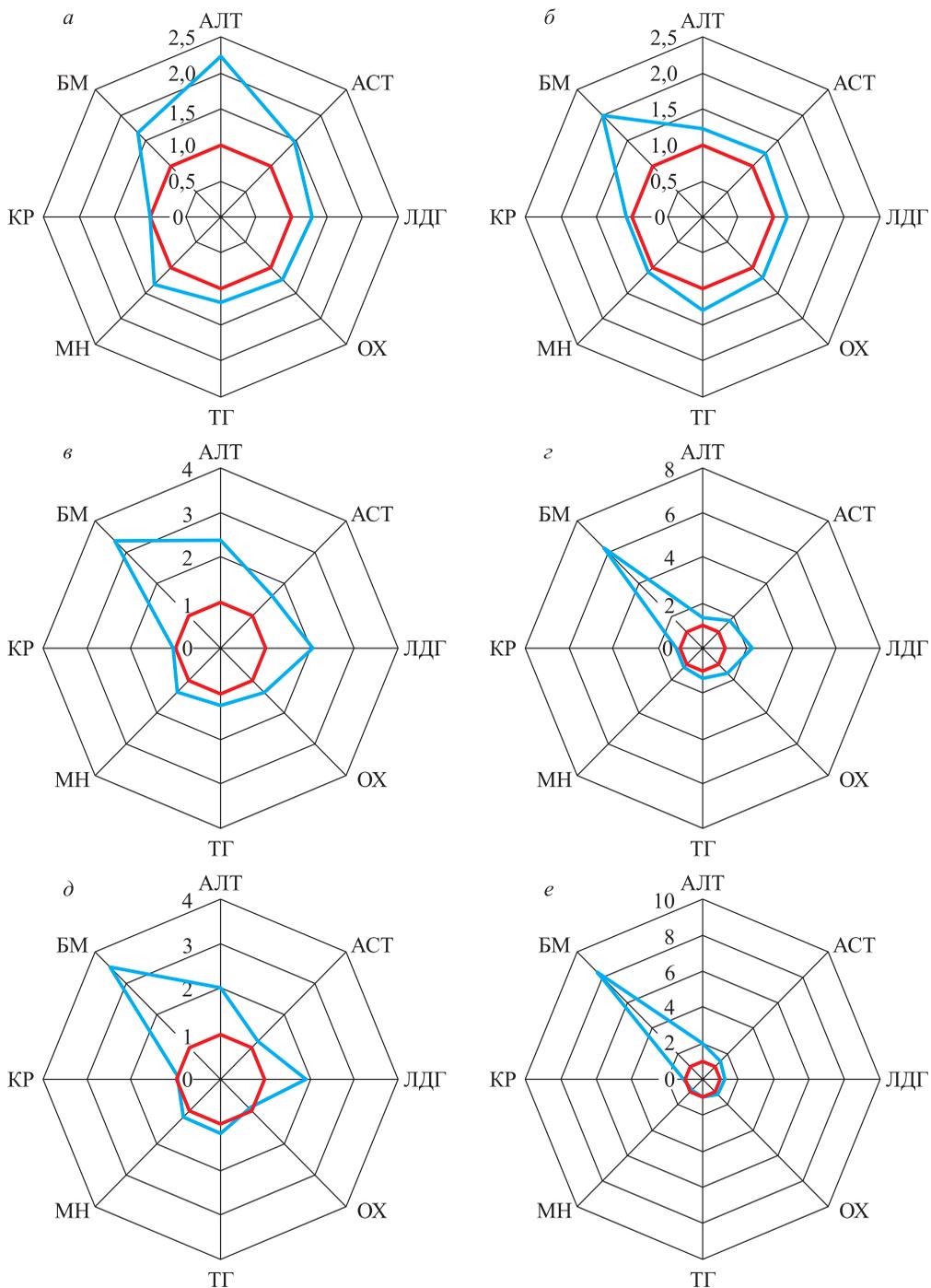


Рис. Диагностические профили вредных эффектов при ингаляционном воздействии ТБЭ в концентрациях $0,2 \pm 0,01 \text{ мг/м}^3$ (2-я основная группа) (а, б), $0,6 \pm 0,03 \text{ мг/м}^3$ (3-я основная группа) (в, г) и $1,8 \pm 0,07 \text{ мг/м}^3$ (4-я основная группа) (д, е) в конце 2-й (а, в, д) и 10-й (б, г, е) недели затравок. Цифрами обозначена кратность отклонения показателей относительно уровней в контрольной группе (1,0). Условные обозначения в тексте

ражало активацию цитолитического процесса и замедление развития фазы компенсации [3].

В фазу декомпенсации токсического процесса стойкие неблагоприятные сдвиги ферментемии у животных 3-й и 4-й основных групп являлись биохимическими эквивалентами развития про-

цессов некроза и фиброза в печеночной ткани. Ослабление активности АСТ, АЛТ и ЛДГ у крыс 4-й основной группы, подвергавшихся более интенсивной затравке по отношению к уровням 3-й основной группы, отражало уменьшение доли влияния стрессорной реакции на ферментатив-

ную активность сыворотки крови при усилении наркотического эффекта ТБЭ. Это согласуется с данными литературы о том, что высокие уровни экспозиции галогенпроизводных углеводородов вызывают торможение активности микросомальных ферментов печени, ответственных за процессы биотрансформации. Следствием торможения метаболических процессов является усиление наркотического эффекта и, одновременно, снижение продукции метаболитов, обладающих гепатотоксичностью [3, 7]. Стрессовое усиление процессов обмена липидов (повышение содержания в крови ОХ и ТГ) у подопытных крыс зависело от уровня и сроков ингаляционных затравок, что ассоциировалось с изменением количества совершаемой в организме внутренней работы (см. рисунок).

В сочетании с токсической нагрузкой на клеточные мембраны нарушения липидного обмена у экспериментальных животных при концентрациях $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$ и $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ усиливали опасность развития жировой дистрофии гепатоцитов. Стрессовое увеличение продукции глюкокортикоидов и усиление процессов катаболизма белков (повышение концентраций МН и КР) при всех испытываемых уровнях воздействия ТБЭ установлено в первой половине периода затравок (см. рисунок, а–в). В заключительном периоде затравок содержание мочевины и креатинина в крови крыс, подвергающихся воздействию ТБЭ в концентрации $0,2 \pm 0,01$ мг/м³, нормализовалось, что являлось одним из признаков развития фазы адаптации хронической интоксикации (см. рисунок, б). Сохранение повышенных уровней мочевины и креатинина при ингаляционной затравке в концентрации $0,6 \pm 0,03$ мг/м³ отражало риск нарушения функционального состояния почек (см. рисунок, б). Достоверное снижение содержания в крови животных мочевины в конце 10-й недели затравки ТБЭ в концентрации $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ подтверждало нарушение белоксинтезирующей функции печени (см. рисунок, в). Вредный эффект в отношении почечной мембраны при концентрациях ТБЭ $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$ и $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ в различные сроки затравок выразился в увеличении содержания в моче подопытных животных белка (см. рисунок). В совокупности полученные данные свидетельствуют, что общий токсический эффект ТБЭ по показателям функционального состояния печени и почек является результатом действия специфических и неспецифических механизмов токсичности.

Исследования эмоционально-поведенческих реакций крыс с помощью метода «Открытое поле» подтвердили, что длительное ингаляционное воздействие ТБЭ в концентрации $0,03$ мг/м³

приводит к развитию физиологической адаптационной реакции, в концентрациях $0,2$ и $0,6$ мг/м³ – усиленного стресс-ответа организма на токсическое воздействие, в концентрации $1,8$ мг/м³ – ослабленного наркотическим эффектом стресс-ответа. Закономерно, что длительная экспозиция ТБЭ, по характеру токсического действия являющегося наркотиком [1], в концентрации $1,8$ мг/м³ вызывала достоверное снижение возбудимости центральной нервной системы подопытных животных по суммационно-пороговому показателю. При уменьшении интенсивности ингаляционного воздействия менее выраженные отклонения в функциональном состоянии центральной нервной системы наблюдались в конце периода затравки.

Результаты динамического наблюдения за экспериментальными животными и произведенные расчеты показали, что из всего комплекса исследуемых показателей приоритетное значение для установления вероятностных параметров зависимости «концентрация – эффект» имеют активность в сыворотке крови АЛТ, содержание в моче белка и суммационно-пороговый показатель. В фазу первичной декомпенсации хронической интоксикации изменения данных показателей коррелировали с концентрацией ТБЭ $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$, $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ и подтверждали гепатотоксическое, нефротоксическое и нейротоксическое действие. Во второй половине периода затравок в фазах компенсации, декомпенсации и адаптации хронической интоксикации изменения маркеров ответа у подопытных животных становились менее значимыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 3-месячные ингаляционные затравки ТБЭ в концентрациях $0,2 \pm 0,01$, $0,6 \pm 0,03$, $1,8 \pm 0,07$ мг/м³ приводили к морфологическим изменениям органов-мишеней и сдвигам биохимических показателей, выраженность которых нарастала по мере повышения интенсивности токсического воздействия. Патоморфологические и клинико-диагностические представления об эффектах длительного ингаляционного воздействия ТБЭ положены в основу разработки оптимальных методов диагностики и прогнозирования хронической интоксикации и заболеваемости, имеющей биологически оправданные связи со специфическими и неспецифическими механизмами токсичности. При проведении медико-биологических исследований приоритетными являются показатели, характеризующие нейротоксическое, гепатотоксическое и нефротоксическое действие. При планировании клинических исследований

с высокой вероятностью следует ожидать диагнозы, относящиеся к критическим органам и системам – нервной системе, печени и почкам. К ожидаемым видам болезней нервной системы относятся токсическая энцефалопатия (G92) и невротические расстройства, связанные со стрессом (F40–F48). К ожидаемым видам болезней печени следует отнести токсическое поражение печени (K71), печеночную недостаточность (K72), хронический гепатит, не классифицированный в других рубриках (K73), фиброз и цирроз печени (K74), к ожидаемым видам болезней мочеполовой системы – токсическую нефропатию (N14.4) и тубулоинтерстициальное поражение почек (N16.8). С высокой вероятностью следует ожидать регистрацию диагнозов, относящихся к органам дыхания, непосредственно соприкасающимся с атмосферными загрязнителями (J00–J99).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бандман А.Л., Войтенко Г.А., Волкова Н.В., Дикун П.П., Иванова В.А., Ивин Б.А., Каган Ю.С., Кротов Ю.А., Левина Э.Н., Минкина Н.А., Михеев М.И., Москвин А.В., Петухова Н.Е., Румянцев А.П., Селюжицкий Г.В., Семенова В.В., Тиунов Л.А., Тиунова Л.В., Филов В.А., Фролова А.Д., Чекунова М.П. / под. ред. В.А. Филова, А.П. Румнцева, А.А. Потехина. Вредные химические вещества. Углеводороды. Галогенпроизводные углеводороды: справ. изд. Л.: Химия, 1990. 732 с.
2. Зайцева Н.В., Май И.В., Кирьянов Д.А., Горяев Д.В., Клейн С.В. Социально-гигиенический

мониторинг на современном этапе: состояние и перспективы развития в сопряжении с риск-ориентированным надзором // Анализ риска здоровью. 2016. (4). 4–16.

3. Красовский В.О., Карамова Л.М., Башарова Г.Р., Власова Н.В. Гигиеническая оценка производства терефталевой кислоты // Медицина труда и экология человека. 2015. (2). 39–44.

4. Рослый И.М., Абрамов С.В., Покровский В.И. Ферментемия – адаптивный механизм или маркер цитолиза? // Вестн. РАМН. 2002. (8). 3–10.

5. Седусова Э.В., Клейн С.В., Май И.В., Никифорова Н.В. Практика и перспективы доказательства в досудебных и судебных разбирательствах вреда здоровью человека, наносимого загрязнением атмосферного воздуха и воздуха закрытых помещений // Анализ риска здоровью. 2015. (4). 13–20.

6. Хамидулина Х.Х., Щербатов П.А. Развитие «зеленой» химии в рамках стратегического подхода к международному регулированию химических веществ (СПМРХВ/SAICM) // Токсикол. вестн. 2017. (5). 50–55.

7. Hauser R., Calafat A.M. Phthalates and human health // Occup. Environ. Med. 2005. 62. 806–818.

8. Hirata-Koizumi M., Kusuoka O., Nishimura N., Wada H., Ogata H., Fukuda N., Ito Y., Kamata E., Ema M., Hasegawa R. Susceptibility of newborn rats to hepatotoxicity of 1,3-dibromopropane and 1,1,2,2-tetrabromoethane, compared with young rats // J. Toxicol. Sci. 2005. 30. (1). 29–42.

9. Kay V.R., Chambers C., Foster W.G. Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females // Crit. Rev. Toxicol. 2013. 43. (3). 200–219.

THE DIAGNOSTIC PROFILES OF HARMFUL EFFECTS OF TETRABROMOETHANE LONG INHALATION IMPACT

**Aleksandr Stepanovich OGUDOV, Galina Petrovna IVLEVA,
Galina Aleksandrovna KOROTAeva, Elena Viktorovna REZANOVA,
Nina Aleksandrovna ZUBTSOVSKAYA**

*Novosibirsk Research Institute of Hygiene of Rospotrebnadzor
630108, Novosibirsk, Parkhomenko str., 7*

The purpose of the study was to provide of diagnostic profiles of harmful effects caused by long inhalation of 1,1,2,2-tetrabromoethane (TBE). **Material and methods.** The object of research was white rats exposed to the round-the-clock inhalation of TBE within three months. The TBE concentration in air samples from exposure chambers was determined by means of the Agilent 7890 B chromatograph (France). Urine analysis and biochemical blood test were conducted by means of the standard and unified laboratory methods. **Results and discussion.** TBE inhalation (concentration 0.2 ± 0.01 , 0.6 ± 0.03 and 1.8 ± 0.07 mg/m³) leads to structural and functional changes in target organs. The expressiveness and the changes range grew with the toxic effect level increase. We have defined group of deviations of biochemical indicators connected with the mechanism of toxic action and pathological changes in target organs. When planning clinical trials with high probability it is necessary to expect the diagnoses relating to critical organs and systems – nervous system, liver and kidneys.

Key words: inhalation impact of 1,1,2,2-tetrabromoethane, harmful effects, diagnostic profiles.

Ogudov A.S. – candidate of medical sciences, head of the toxicological department, e-mail: ogudov.tox@yandex.ru

Ivleva G.P. – candidate of medical sciences, the scientific secretary, e-mail: ivlevagp@niig.su

Korotaeva G.A. – researcher of toxicological department, e-mail: galinakorotaeva2016@yandex.ru

Rezanova E.V. – researcher of toxicological department, e-mail: elena_ostanina@mail.ru

Zubtsovskaya N.A. – researcher of organizational and methodological department, e-mail: zubtsovskaya_na@niig.su