

С. А. КУЦЕНКО **ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИИ**, Санкт-Петербург, 2002

ОГЛАВЛЕНИЕ

Аннотация

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА

Раздел 1. Введение

Глава 1.1. Предмет и задачи токсикологии

1. Предмет изучения
 - 1.1. Попытка определения
 - 1.2. Токсичность
 - 1.3. Токсический процесс
 - 1.3.1. Формы проявления токсического процесса на разных уровнях организации жизни
 - 1.3.2. Основные характеристики токсического процесса, выявляемого на уровне целостного организма
 - 1.3.2.1. Интоксикация
 - 1.3.2.2. Другие формы токсического процесса

2. Цель и задачи токсикологии

3. Структура токсикологии

Глава 1.2. Токсикант (яд)

1. Общая характеристика токсикантов
2. Краткая характеристика отдельных групп токсикантов
 - 2.1. Токсиканты биологического происхождения
 - 2.1.1. Бактериальные токсины
 - 2.1.2. Микотоксины
 - 2.1.3. Токсины высших растений
 - 2.1.4. Токсины животных (зоотоксины)
 - 2.2. Неорганические соединения естественного происхождения
 - 2.3. Органические соединения естественного происхождения
 - 2.4. Синтетические токсиканты
 - 2.4.1. Пестициды
 - 2.4.2. Органические растворители
 - 2.4.3. Лекарства, пищевые добавки, косметика
 - 2.4.4. Боевые отравляющие вещества (БОВ)

Глава 1.3. Биосистемы - мишени действия токсикантов

1. Уровни организации материи. Особенности взаимодействия ксенобиотиков с биосистемами
2. Термодинамика биосистем. Термодинамические аспекты токсичности
3. Фундаментальные свойства живых систем. Токсиканты, как модуляторы фундаментальных свойств живых систем
4. Степени свободы токсического воздействия

Глава 1.4. Свойства токсиканта, определяющие его токсичность

1. Размеры молекулы
2. Геометрия молекулы токсиканта
3. Физико-химические свойства вещества
4. Стабильность в среде
5. Химические свойства.
 - 5.1. Типы химических связей, образующихся между токсикантом и структурой-мишенью.

Раздел 2. Токсикодинамика

Глава 2.1. Механизмы токсического действия

1. Определение понятия "рецептор" в токсикологии
2. Действие токсиканта на элементы межклеточного пространства
3. Действие токсикантов на структурные элементы клеток
 - 3.1. Взаимодействие токсикантов с белками.
 - 3.1.1. Энзимы
 - 3.1.1.1. Усиление каталитической активности
 - 3.1.1.2. Угнетение каталитической активности
 - 3.1.1.3. Биологические последствия действия токсикантов на энзимы
 - 3.2. Взаимодействие токсикантов с нуклеиновыми кислотами.
 - 3.3. Взаимодействие токсикантов с липидами.
 - 3.4. Взаимодействие токсиканта с селективными рецепторами
 - 3.4.1. Селективные рецепторы клеточных мембран
4. Локализация рецепторов

- 5. Понятие полирецепторного профиля связывания токсиканта
- 6. Радиолигандные методы изучения процесса взаимодействия токсиканта с рецепторами

Глава 2.2. Механизмы цитотоксичности

- 1. Нарушение процессов биоэнергетики
 - 1.1. Системы энергообеспечения клетки
 - 1.2. Механизмы токсического повреждения систем энергообеспечения клетки
- 2. Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция
 - 2.1. Повреждение цитоскелета
 - 2.2. Активация фосфолипаз
 - 2.3. Активация протеаз
 - 2.4. Активация эндонуклеаз
- 3. Активация свободно-радикальных процессов в клетке
 - 3.1. Сущность явления
 - 3.2. Механизмы клеточной антирадикальной защиты
 - 3.3. Механизмы активации ксенобиотиков и образование свободных радикалов
 - 3.4. Биологические последствия активации свободно-радикального процесса в клетке
- 4. Повреждение мембранных структур
 - 4.1. Основные свойства и функции биологических мембран
 - 4.2. Действие токсикантов на мембраны
 - 4.2.1. Прямое действие на мембраны
 - 4.2.2. Активация перекисного окисления липидов
 - 4.2.3. Активация фосфолипаз
 - 4.3. Биологические последствия действия токсикантов на мембраны
- 5. Повреждение процессов синтеза белка и клеточного деления.
 - 5.1. Синтез ДНК. Репликация
 - 5.2. Синтез РНК. Транскрипция
 - 5.3. Синтез белков. Трансляция
 - 5.4. Биологические последствия действия токсикантов на нуклеиновый обмен и синтез белка

Глава 2.3. Действие токсикантов на биологические механизмы регуляции клеточной активности

- 1. Прямое межклеточное взаимодействие
- 2. Механизмы гуморальной регуляции
- 3. Механизмы нервной регуляции
- 4. Особенности токсического повреждения механизмов регуляции клеточной активности
 - 4.1. Изменение числа рецепторов, вызываемое действием ксенобиотиков
 - 4.1.1. Уменьшение количества рецепторов при воздействии токсикантов
 - 4.1.2. Увеличение числа мембраносвязанных рецепторов при воздействии токсикантов
 - 4.2. Десенсибилизация рецепторов

Раздел 3. Токсикометрия

Глава 3.1. Зависимость "доза-эффект" в токсикологии.

- 1. Общие замечания
- 2. Зависимость "доза-эффект" на клеточном уровне
 - 2.1. Предварительные замечания
 - 2.2. Основные понятия
 - 2.3. Аффинность
 - 2.3.1. Описание взаимодействия "токсикант-рецептор" в соответствии с законом действующих масс
 - 2.3.2. Более сложные оккупационные модели взаимодействия "токсикант-рецептор"
 - 2.4. Эффективность
 - 2.4.1. Оккупационные теории
 - 2.4.2. Теория "скорости взаимодействия"
 - 2.4.3. Теории конформационных изменений рецептора
- 3. Зависимость "доза-эффект" на уровне целостной системы
 - 3.1. Предварительные замечания
 - 3.2. Кривая "доза-эффект"
 - 3.2.1. Среднеэффективная доза (ED_{50})
 - 3.2.2. Относительная активность
 - 3.2.3. Крутизна кривой зависимости "доза-эффект"
 - 3.3. Биологическая изменчивость
 - 3.4. Совместное действие нескольких токсикантов на биообъект
 - 3.4.1. Параллельный сдвиг кривой "доза-эффект"
 - 3.4.2. Снижение максимальных значений кривой "доза-эффект"
 - 3.4.3. Параллельный сдвиг с одновременным снижением максимальных значений
 - 3.5. Определение кажущихся констант диссоциации комплекса "агонист-рецептор"
- 4. Зависимость "доза-эффект" в группе
 - 4.1. Зависимость "доза-эффект" для одного токсиканта
 - 4.1.1. Анализ зависимости "доза-эффект" методом формирования подгрупп
 - 4.1.2. Анализ зависимости "доза-эффект" без формирования подгрупп
 - 4.1.3. Зависимость "доза-эффект" по показателю летальность
 - 4.1.3.1. Общие представления

4.1.3.2. Интерпретация и практическое использование результатов

4.1.4. Определение безопасных доз действия токсикантов

4.2. Зависимость "доза-эффект" при комбинированном действии нескольких веществ

Глава 3.2. Эпидемиологические методы исследования в токсикологии

1. Основные категории и типы эпидемиологических исследований

2. Основные показатели, используемые при организации эпидемиологических исследований

2.1. Классификация показателей

2.1.1. Показатели состояния обследуемой популяции

3. Замысел эпидемиологического исследования

3.1. Метод регистрации серии событий

3.2. Исследование типа "случай-контроль" (болезнь - контроль)

3.3. Метод когортных исследований

3.4. Метод "поперечного среза"

3.5. Другие методы

4. Интерпретация результатов (принципы формирования выводов)

Глава 3.3. Оценка риска действия токсиканта

1. Исторические аспекты

2. Что такое оценка риска?

3. Процесс оценки риска

3.1. Идентификация опасности

3.2. Оценка токсичности

3.3. Оценка воздействия

3.4. Характеристика риска

4. Недостатки методологии оценки риска

4.1. Экстраполяция данных

4.2. Неадекватные исследования

4.3. Различные методики оценки

4.4. Различия в механизмах токсического действия

4.5. Популяционные различия

4.6. Неопределенность при оценке воздействия

4.7. Неопределенность, связанная с комбинированным действием токсикантов

Раздел 4. Токсикокинетика

Глава 4.1. Общие закономерности токсикокинетики

1. Растворение и конвекция

2. Диффузия в физиологической среде

2.1. Проникновение веществ через биологические мембраны

2.2. Диффузия веществ через липидный бислой

2.3. Диффузия через поры

2.4. Межклеточный транспорт химических веществ

2.5. Диффузия растворенных газов

3. Осмос

4. Фильтрация

4.1. Капиллярная фильтрация

5. Специфический транспорт веществ через биологические барьеры

5.1. Активный транспорт

5.2. Каталитическая (облегченная) диффузия

5.3. Транспорт веществ путем образования мембранных везикул

5.4. Взаимодействие процессов активного и пассивного транспорта

Глава 4.2. Резорбция

1.1. Факторы, влияющие на резорбцию

2. Резорбция через кожу

2.1. Способы резорбции

2.2. Факторы, влияющие на скорость резорбции

2.2.1. Площадь и область резорбции

2.2.2. Кровоснабжение

2.2.3. Свойства действующих веществ

2.3.4. Экзогенные факторы

3. Резорбция через слизистые оболочки

3.1. Резорбция в ротовой полости

3.2. Резорбция в желудке

3.2.1. Растворимость в жирах и pH

3.2.2. Растворимость в воде

3.2.3. Содержимое желудка

3.3. Резорбция в кишечнике

3.3.1. Значение pK_a

3.3.2. Коэффициент распределения в системе масло/вода

3.3.3. Размеры молекулы

3.3.4. Заряд молекулы

3.3.5. Отдел кишечника

3.3.6. Кровоснабжение

- [illegible]

6.2. Пол и возраст

6.3. Влияние химических веществ

6.3.1. Индукция энзимов

6.3.1.1. Индукторы монооксигеназ

6.3.1.2. Механизмы индукции

6.3.1.3. Влияние индукторов на токсичность ксенобиотиков

6.3.2. Угнетение активности энзимов

6.3.3. Двухфазный эффект: угнетение и индукция

7. Активные метаболиты и их роль в инициации токсического процесса

Глава 4.5. Выведение ксенобиотиков из организма

1. Выделение через легкие

2. Почечная экскреция

2.1. Фильтрация

2.2. Канальцевая реабсорбция

2.3. Канальцевая секреция

2.4. Совместное действие механизмов почечной экскреции

3. Выделение печенью

4. Выделение через кишечник

5. Другие пути выведения

Глава 4.6. Количественные характеристики токсикокинетики

1. Скорость элиминации. Константа скорости элиминации. Время полуэлиминации

2. Объем распределения.

3. Клиаренс

4. Биодоступность

5. Соотношение между значениями клиаренса, объема распределения и времени полувыведения вещества

6. Компартменты

6.1. Однокомпарментная модель

6.1.1. Моделирование поведения ксенобиотика при однократном внутривенном введении

6.1.2. Моделирование поведения ксенобиотика с параллельными путями выведения

6.1.3. Моделирование поведения ксенобиотика полностью резорбирующегося из места введения

6.2. Многокомпарментные модели

6.3. Нелинейные токсикокинетические процессы

6.3.1. Нелинейная однокомпарментная модель распределения с ограниченным характером процесса элиминации

7. Физиологические токсикокинетические модели

Раздел 5. Факторы, влияющие на токсичность

Глава 5.1. Особенности биосистем и их влияние на чувствительность к ксенобиотикам

1. Генетически обусловленные особенности реакций организма на действие токсикантов

1.1. Межвидовые различия

1.1.1. Особенности токсикокинетики

1.1.1.1. Резорбция

1.1.1.2. Распределение

1.1.1.3. Биотрансформация

1.1.1.4. Экскреция

1.1.2. Особенности токсикодинамики

1.1.2.1. Связывание с рецептором

1.1.2.2. Эффекторные реакции

1.2. Внутривидовые различия

1.2.1. Генетические особенности личности

1.2.2. Различия, связанные с полом

2. Необусловленные генетически особенности реакции организма на действие токсикантов

2.1. Возрастные различия

2.2. Влияние массы тела

2.3. Влияние беременности

Глава 5.2. Влияние условий проведения эксперимента и качества среды обитания на токсичность

1. Питание

2. Условия содержания экспериментальных животных

3. Содержание в стерильных условиях

4. Периодические изменения чувствительности к токсикантам

4.1. Циркадные ритмы

4.2. Годичные ритмы

5. Температура окружающего воздуха

6. Влажность воздуха

Глава 5.3. Явления, наблюдаемые при длительном воздействии токсиканта

1. Толерантность

1.1. Виды толерантности

1.2. Некоторые механизмы толерантности

- [1.2.1.](#) Ослабление резорбции
 - [1.2.2.](#) Усиление метаболизма ксенобиотиков
 - [1.2.3.](#) Усиление экскреции.
 - [1.2.4.](#) Изменение распределения
 - [1.2.5.](#) Изменение рецепторов и реактивных систем
 - [1.2.6.](#) Индукция веществ-антагонистов
 - [1.2.7.](#) Истощение запасов нейромедиаторов
 - [1.3.](#) Тахифилаксия
 - [1.4.](#) Хроническая форма толерантности
 - [1.5.](#) Биологическое значение толерантности
 - [2.](#) Химическая зависимость
 - [2.1.](#) Психическая зависимость
 - [2.2.](#) Физическая зависимость
 - [2.3.](#) Механизм химической зависимости
 - [3.](#) Привыкание
 - [4.](#) Хроническое отравление
 - [Глава 5.4. Коергизм ксенобиотиков](#)**
 - [1.](#) Механизмы коергизма
 - [1.1.](#) Взаимодействие в период аппликации
 - [1.2.](#) Токсикокинетические механизмы коергизма.
 - [1.2.1.](#) Взаимодействие веществ при резорбции
 - [1.2.2.](#) Коергизм веществ в процессе распределения
 - [1.2.2.1.](#) Модификация связывания белками плазмы крови
 - [1.2.2.2.](#) Изменение свойств тканей
 - [1.2.2.3.](#) Мобилизация биологически активных веществ
 - [1.2.3.](#) Коергизм в процессе биотрансформации
 - [1.2.3.1.](#) Угнетение активности ферментов, метаболизирующих ксенобиотики
 - [1.2.3.2.](#) Повреждение органов и тканей, метаболизирующих ксенобиотики
 - [1.2.3.3.](#) Индукция ферментов, метаболизирующих ксенобиотики
 - [1.2.3.](#) Коергизм веществ при их выведении
 - [1.2.3.1.](#) Выведение через почки
 - [1.2.3.1.1.](#) Канальцевая реабсорбция
 - [1.2.3.1.2.](#) Канальцевая секреция
 - [1.2.3.2.](#) Печеночная экскреция
 - [1.3.](#) Токсикодинамические механизмы коергизма
 - [1.3.1.](#) Взаимодействие на уровне рецепторов
 - [1.3.1.1.](#) Конкуренция за рецепторы одного типа
 - [1.3.1.2.](#) Коергизм при действии ксенобиотиков на разные участки рецепторной молекулы
 - [1.3.2.](#) Коергизм на уровне реактивных систем и целостного организма
 - [2.](#) Представление данных, получаемых в ходе изучения явления коергизма
 - [3.](#) Токсикологическое значение явления коергизма
 - [5.5. Антидоты \(противоядия\)](#)**
 - [1.](#) История вопроса.
 - [2.](#) Характеристика современных антидотов
 - [2.1.](#) Краткая характеристика механизмов антидотного действия
 - [2.1.1.](#) Антидоты, связывающие токсикант (химические антагонисты)
 - [2.1.1.1.](#) Прямое химическое взаимодействие
 - [2.1.1.2.](#) Опосредованная химическая нейтрализация.
 - [2.1.2.](#) Биохимический антагонизм
 - [2.1.3.](#) Физиологический антагонизм.
 - [2.1.4.](#) Противоядия, модифицирующие метаболизм ксенобиотиков.
 - [2.2.](#) Применение противоядий
 - [3.](#) Разработка новых антидотов.
 - [3.1.](#) Оценка эффективности.
 - [3.1.1.](#) Опыты *in vitro*
 - [3.1.2.](#) Опыты *in vivo*.
 - [3.2.](#) Создание комплексных антидотных рецептов
 - [3.3.](#) Внедрение новых антидотов в практику
 - [3.4.](#) Перспективы
- Раздел 6. Специальные виды токсического действия**
 - [Глава 6.1. Иммунотоксичность](#)**
 - [1.](#) Краткая характеристика морфофункциональных особенностей иммунной системы млекопитающих
 - [1.1.](#) Иммунокомпетентные клетки
 - [1.2.](#) Органы и ткани иммунной системы
 - [1.3.](#) Особенности функционирования системы
 - [1.4.](#) Иммунокомпетентность
 - [2.](#) Действие токсикантов на иммунную систему
 - [2.1.](#) Понятие иммунотоксичности
 - [2.2.](#) Иммуносупрессия
 - [2.2.1.](#) Иммуносупрессия и инфекция

Глава 7.2. Дерматотоксичность

1. Химические дерматиты
 - 1.1. Контактные химические дерматиты
 - 1.2. Аллергические дерматиты
2. Фотодерматиты
3. Токсидермии
4. Краткая характеристика отдельных токсикантов
 - 4.1. Поражение органическими растворителями
 - 4.2. Поражения мышьякорганическими соединениями
 - 4.3. Поражение сернистым ипритом
 - 4.4. Поражение альдегидами
 - 4.5. Поражение эпоксидными смолами
 - 4.6. Поражение щелочами
 - 4.7. Поражение кислотами
 - 4.7.1. Поражение кожи хромовой кислотой
 - 4.7.2. Поражение плавиковой кислотой.
5. Оценка дерматотоксичности ксенобиотиков в эксперименте

Глава 7.3. Пульмонотоксичность

1. Краткая характеристика морфологии дыхательной системы
 - 1.1. Насофарингиальный отдел
 - 1.2. Трахеобронхиальный отдел
 - 1.3. Паренхима легких
 - 1.4. Циркуляция крови и лимфы в лёгких
2. Физиология дыхательной системы
 - 2.1. Вентиляция
 - 2.1.1. Легочные объемы
 - 2.1.2. Рефлексы, влияющие на дыхание
 - 2.1.3. Механизмы регуляции тонуса бронхов
 - 2.2. Газообмен
 - 2.3. Метаболизм ксенобиотиков и биологически активных веществ
 - 2.4. Депонирование и клиаренс ксенобиотиков в легких
3. Основные формы патологии дыхательной системы химической этиологии
 - 3.1. Острые ингаляционные поражения
 - 3.1.1. Локализация поражения
 - 3.1.1.1. Верхние дыхательные пути
 - 3.1.1.2. Глубокие дыхательные пути
 - 3.1.1.3. Паренхима легких
 - 3.1.1.3.1. Острые химические пневмонии
 - 3.1.1.3.2. Отек легких
 - 3.1.2. Острая дыхательная недостаточность
 - 3.1.3. Диагностика
 - 3.1.4. Оказание помощи
 - 3.1.5. Краткая характеристика некоторых пульмонотоксикантов
 - 3.1.5.1. Хлор
 - 3.1.5.2. Паракват
 - 3.1.5.3. Цинк
 - 3.2. Хронические патологические процессы химической этиологии
 - 3.2.1. Аллергические и гиперреактивные заболевания легких
4. Оценка пульмонотоксичности ксенобиотиков в эксперименте
5. Выявления пульмонотоксического действия профессиональных и экотоксикантов
 - 5.1. Профессиональный анамнез
 - 5.2. Биологический мониторинг
 - 5.3. Обследование рабочего места

Глава 7.4. Гематотоксичность

1. Гемопоез
2. Нарушение функций гемоглобина
 - 2.1. Метгемоглинообразование
 - 2.1.1. Причины метгемоглинообразования
 - 2.1.1.1. Врожденная метгемоглинемия
 - 2.1.1.2. Приобретенная метгемоглинемия
 - 2.1.2. Краткая характеристика некоторых токсикантов
 - 2.1.2.1. Анилин
 - 2.1.2.2. Дапсон (4,4-диаминодифенилсульфон)
 - 2.1.2.3. Нитриты
 - 2.1.3. Проявления метгемоглинемии
 - 2.1.4. Лабораторная диагностика
 - 2.1.5. Принципы оказания помощи
 - 2.2. Образование карбоксигемоглобина
3. Изменение числа форменных элементов
 - 3.1. Гемолитические анемии

- 3.1.2. Краткая характеристика некоторых токсикантов
 - 3.1.2.1. Арсин
 - 3.1.2.1.1. Основные проявления острой интоксикации
 - 3.1.2.1.2. Предельно допустимые уровни воздействия на производстве
 - 3.1.2.2. Стибин
 - 3.1.2.3. Тринитротолуол
 - 3.1.3. Биомониторинг
 - 3.2. Аплазия костного мозга
 - 3.2.1. Основные проявления интоксикаций
 - 3.2.1.1. Панцитопения
 - 3.2.1.2. Агранулоцитоз
 - 3.2.1.3. Тромбоцитопения
 - 3.3. Лейкемии
 - 3.3.1. Распространённость
 - 3.3.2. Диагноз
 - 3.3.3. Профессиональные воздействия и лейкемии
 - 3.3.4. Характеристика наиболее известных токсикантов, вызывающих патологию крови
 - 3.3.4.1. Бензол
 - 3.3.4.1.1. Производственные воздействия
 - 3.3.4.1.2. Токсикокинетика бензола
 - 3.3.4.1.3. Основные проявления интоксикации бензолом
 - 3.3.4.1.4. Механизм действия
 - 3.3.4.2. Свинец
 - 3.3.4.3. Мышьяк
 - 3.3.4.4. Этиленоксид
 - 3.3.4.5. Эфиры гликолей
 - 3.3.4.6. Производные феноксиуксусной кислоты
 - 4. Мониторинг состояния системы крови лиц, работающих в условиях опасных производств
- Глава 7.5. Нейротоксичность**
- 1. Структурно-функциональная организация нервной системы
 - 1.1. Нейроны
 - 1.2. Синапс
 - 1.3. Глиальные клетки
 - 1.4. Цереброспинальная жидкость
 - 1.5. Гематоэнцефалический барьер
 - 1.6. Мозговой кровоток
 - 1.7. Энергетический обмен
 - 1.8. Внутричерепное давление
 - 2. Причины уязвимости нервной системы
 - 3. Характеристика нейротоксикантов и нейротоксических процессов
 - 3.1. Нейротоксиканты
 - 3.2. Нейротоксические процессы
 - 3.2.1. Механизмы действия нейротоксикантов
 - 4. Проявления нейротоксических процессов
 - 4.1. Острые нейротоксические процессы
 - 4.1.1. Судорожный синдром. Конвульсанты
 - 4.1.1.1. Конвульсанты, активирующие возбуждающие процессы в ЦНС
 - 4.1.1.1.1. Вещества, действующие на возбудимые мембраны и нарушающие механизмы ионного транспорта
 - Пентилентетразол (метразол)
 - Оуабаин
 - Фторэтил (гексафтордиэтиловый эфир)
 - 4.1.1.1.2. Вещества, активирующие холинэргические структуры мозга
 - ФОС
 - Карбаматы
 - 4.1.1.1.3. Вещества, активирующие глутаматэргические структуры мозга
 - 4.1.1.2. Конвульсанты, блокирующие тормозные процессы в ЦНС
 - 4.1.1.2.1. Конвульсанты, действующие на ГАМК-эргический синапс.
 - 4.1.1.2.1.1. Антагонисты ГАМК
 - Бикукуллин
 - Судорожные барбитураты
 - Пикротоксин
 - Тетраметилendisulfотетрамин (дисульфотетраадаматнтан, ДСТА).
 - Бициклические фосфорорганические соединения (БЦФ)
 - Норборнан
 - 4.1.1.2.1.2. Ингибиторы синтеза ГАМК
 - 4.1.1.2.1.3. Вещества, блокирующие высвобождения ГАМК из нервных окончаний
 - Тетанотоксин
 - 4.1.1.2.2. Конвульсанты, действующие на глицинергические синапсы

Стрихнин

4.1.1.3. Вещества, нарушающие процессы биоэнергетики в мозге

Фторорганические соединения

4.1.2. Седативно-гипнотический эффект. Наркотики

4.1.2.1. Неэлектролиты

Бензол

4.1.3. Психодислептический синдром. Психодислептики

4.1.3.1. Эйфориогены

Δ-тетрагидроканнабинол

4.1.3.2. Галлюциногены

Диэтиламид лизергиновой кислоты (ДЛК)

4.1.3.3. Делириогены

BZ

Фенциклидин

4.1.4. Нарушение нервной регуляции периферических органов и систем

4.1.4.1. Нарушение механизмов синаптической передачи

Яды змей

Ботулотоксин

4.1.4.2. Блокаторы ионных каналов

Сакситоксин

Тетродотоксин

4.2. Хронические нейротоксические процессы. Токсические нейропатии

4.2.1. Токсическая сегментарная миелинопатия

4.2.2. Токсическая дистальная аксонопатия

Три-О-крезилфосфат (ТОКФ)

4.2.3. Перикариальная токсическая нейронопатия

Метилртуть

Тетраэтилсвинец

Алюминий

Таллий

Адриамицин

Винкристин

5. Оценка нейротоксичности в эксперименте

6. Диагностическая стратегия в нейротоксикологии

6.1. Сбор анамнестических данных

6.2. Исследование специалистами

6.3. Функциональные исследования

Глава 7.6. Гепатотоксичность

1. Общая характеристика

2. Анатомо-физиологические особенности печени

3. Патологические состояния, формирующиеся при действии гепатотоксикантов

3.1. Стеатоз

3.2. Некроз

3.3. Холестаз

3.4. Фиброз (цирроз)

3.5. Канцерогенез

4. Морфологические формы токсического повреждения печени

5. Краткая характеристика гепатотоксикантов

5.1. Облигатные гепатотоксиканты

5.2. Идиосинкратические гепатотоксиканты

6. Условия воздействия гепатотоксикантов

7. Факторы, влияющие на гепатотоксичность

8. Краткая характеристика отдельных гепатотоксикантов

8.1. Токсины бледной поганки

8.2. Дихлорэтан

9. Исследования по оценке гепатотоксичности

9.1. Определение активности ферментов в плазме крови

9.2. Функциональные пробы

9.2.1. Оценка метаболической активности печени

9.2.2. Оценка синтетической активности печени

9.3. Структурные исследования

10. Принципы выявления токсических гепатопатий у человека

10.1. Острые гепатопатии химической этиологии.

10.2. Подострые и хронические токсические гепатопатии

10.3. Выявление гепатотоксичности в популяции лиц, контактирующих с опасными химическими агентами.

Заключение

Глава 7.7. Нефротоксичность

1. Общая характеристика

- 2. Анатомо-физиологические особенности органа
- 3. Характеристика нефротоксического действия
 - 3.1. Механизмы действия
 - 3.1.1. Биохимические механизмы
 - 3.1.2. Иммунологические механизмы
 - 3.1.3. Гемодинамические механизмы
 - 3.2. Проявления токсического действия
- 4. Краткая токсикологическая характеристика отдельных нефротоксикантов
 - 4.1. Металлы
 - 4.2. Технические жидкости
- 5. Оценка нефротоксичности ксенобиотиков
- 6. Выявление токсических поражений почек у человека

Раздел 8. Экоотоксикология

Глава 8.1. Основы экоотоксикологии

- 1. Ксенобиотический профиль среды
- 2. Экоотоксикокинетика
 - 2.1. Формирование ксенобиотического профиля. Источники поступления поллютантов в среду
 - 2.2. Персистирование
 - 2.3. Трансформация
 - 2.3.1. Абиотическая трансформация
 - 2.3.2. Биотическая трансформация
 - 2.4. Процессы элиминации, не связанные с разрушением
 - 2.5. Биоаккумуляция
 - 2.5.1. Факторы, влияющие на биоаккумуляцию
 - 2.5.2. Значение биоаккумуляции
 - 2.6. Биомагнификация
- 3. Экоотоксикодинамика
 - 3.1. Общие понятия
 - 3.2. Экоотоксичность
 - 3.2.1. Острая экотоксичность
 - 3.2.2. Хроническая экотоксичность
 - 3.2.3. Механизмы экотоксичности
- 4. Экоотоксикометрия
 - 4.1. Общая методология
 - 4.2. Оценка экологического риска
- 5. Характеристика некоторых экотоксикантов
 - 5.1. Полигалогенированные ароматические углеводороды
 - 5.1.1. Диоксины
 - 5.1.2. Полихлорированные бифенилы
 - 5.1.3. Хлорированные бензолы
 - 5.2. Металлы
 - 5.2.1. Кадмий

Глава 8.2. Синдром неспецифической повышенной химической восприимчивости

- 1. Состояние проблемы
- 2. Многофакторная химическая восприимчивость, как заболевание
- 3. Клиническая экология
- 4. Диагностика СПХВ
- 5. Лечение СПХВ

РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1.1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ ТОКСИКОЛОГИИ

1. Предмет изучения

1.1. Попытка определения

Любой предмет уясняется через определение. Общепринятого определения токсикологии в настоящее время не существует. Самым простым является, непосредственно вытекающее из названия науки: *toxicon* - яд, *logos* - наука. Токсикология - наука о ядах. Многие авторы, по сути, повторяют именно это определение, уточняя и оттеняя важные, как им кажется, характеристики предмета. К числу таковых, несомненно, относятся реакции биологических объектов (организма) на действие химического вещества, механизмы их развития и т.д.

Так, в "Энциклопедическом словаре медицинских терминов" (1982) читаем: "Токсикология - область медицины, изучающая физические, химические свойства ядов (вредных и отравляющих веществ), механизмы их действия на организм человека и разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений".

В качестве примеров можно привести и другие определения:

"Токсикология - наука, изучающая ядовитые вещества и их влияние на растительный и животный организм" (Баженов С.В., 1964).

"Токсикология - это область медицины, изучающая законы взаимодействия живого организма и яда" (Лужников Е.А., 1994).

"Токсикология - наука, изучающая закономерности развития и течения патологического процесса (отравления), вызванного воздействием на организм человека или животного ядовитых веществ" (Голиков С.Н., 1972).

В основе цитированных понятий лежит представление о токсикологии, как о науке, изучающей (так или иначе) особую группу веществ, именуемую ядами, ядовитыми, вредными, отравляющими веществами и т.д.

Принять эти характеристики рассматриваемой области науки и практики было бы вполне возможно при условии четкого определения самого понятия "яд". Однако, не смотря на многочисленные попытки, сделать это не удастся.

Еще в начале XIX века основоположник научной токсикологии Матео Жозе Бонавентура Орфила (1814) писал: "Яд - вещество, которое в малом количестве, будучи приведенным в соприкосновение с живым организмом, разрушает здоровье или уничтожает жизнь". Также определял "яд", спустя практически сто лет, и один из пионеров отечественной токсикологии профессор Российской военно-медицинской академии Косоротов Д.П. (1907): "Ядами называются вещества, которые, будучи введены в организм в малых количествах, в силу своих химических свойств, могут причинить расстройство здоровья или самую смерть".

В этих определениях подчеркивается одна важная, по мнению авторов, характеристика ядов: малое количество, необходимое для провокации отравления. Однако, что считать малым количеством? Ответ на этот вопрос носит весьма субъективный характер. В настоящее время науке известны вещества, вызывающие смерть экспериментального животного, при введении в дозах равных нескольким нанограммам (ботулотоксин). Вместе с тем самым распространенным "ядом" современности является спирт и его суррогаты, вызывающие отравление при поступлении в организм в количестве десятков и сотен грамм.

Вот почему существуют определения, в которых "малое количество", как свойство "ядов", упускают вовсе:

"Ядом называется всякое химическое вещество, способное причинить смерть или серьезный вред здоровью своим действием на ткани или соки тела" (Пеликан Е., 1878).

"Можно определить яд как меру (единство количества и качества) действия химического вещества, в результате которого при определенных условиях возникает отравление" (Саватеев Н.В., 1978).

Из этих определений вытекает, что при тех или иных условиях любое вещество может стать ядом. Один из основоположников отечественной промышленной токсикологии, выдающийся ученый и педагог Н.В. Лазарев пишет (1936): "Яды - суть вещества, вызывающие повреждение организма немеханическим путем".

В настоящее время человечеству известно около 10 миллионов химических соединений. Из них более 60 тысяч широко используются в быту, медицине, на производстве и в сельском хозяйстве. Это количество веществ продолжает из года в год увеличиваться (по некоторым данным примерно на 1000 наименований ежегодно). И большая их часть при определенных обстоятельствах может причинить "серьезный вред здоровью".

Подобное обстоятельство ставит под сомнение саму возможность выделить из всей совокупности химических веществ окружающего мира, естественных и синтезированных человеком, некую группу, обозначаемую как "яд". В наиболее категоричной форме эта мысль выражена еще в XIX веке известным французским судебным медиком Тардьё: "Ядов в научном смысле слова нет".

Накопленные человечеством знания давно привели к осознанию того факта, что практически любое химическое вещество, в зависимости от действующего количества, может быть безразличным, полезным, вредным для организма (т.е. выступать в качестве яда).

Впервые на это указал еще в XV веке выдающийся врач, химик, основоположник ятрохимии Теофраст Бомбаст фон Гогенгейм (Парацельс). В своей оправдательной речи, сказанной им по поводу обвинения в отравлении больных ядами (солями металлов, которые он применял в качестве лекарств), Парацельс произнес: "Все есть яд. Ничто не лишено ядовитости. И только доза отличает яд от лекарства".

Таким образом, понятие о яде никак не может быть положено в основу определения токсикологии. Не удивительно, что ученые пытаются исключить этот термин из своих определений. Так, Олдридж (1980) пишет: "Токсикология - наука о веществах, дезорганизирующих биологические системы". Но мы уже знаем, что

дезорганизовать биосистемы могут практически любые вещества, действуя в достаточном количестве, и в таком случае токсикология - это наука практически обо всех веществах окружающего мира.

Не смотря на общую критику, приведенных выше определений, следует признать, что все они содержат несомненно правильные элементы. Так, токсикология действительно изучает механизмы **вредного** действия веществ на организм человека и животных, закономерности развивающихся при этом **патологических процессов**, разрабатывает методы диагностики, лечения и профилактики **отравлений** и т.д.

Однако все сказанное выше призвано подчеркнуть важнейшее обстоятельство - **химические вещества, обладают неким свойством, в силу которого их контакт с биологическими системами может иметь пагубные последствия для последних. Это свойство - токсичность.**

1.2. Токсичность

Токсичность - основное понятие современной токсикологии. **В общей форме можно определить токсичность, как свойство (способность) химических веществ, действуя на биологические системы немеханическим путем, вызывать их повреждение или гибель**, или, применительно к организму человека, - способность вызывать нарушение работоспособности, заболевание или гибель.

Вещества существенно различаются по токсичности. Чем в меньшем количестве вещество способно вызывать повреждение организма, тем оно токсичнее (таблица 1).

Таблица 1. Сравнительная токсичность некоторых веществ для белых мышей (доза, вызывающая гибель при внутрибрюшинном способе введения)

Вещество	Источник	Токсичность (ЛД ₅₀) мкг/кг
Ботулотоксин	Бактерии	0,0003
Тетанотоксин	Бактерии	0,001
Батрахотоксин	Земноводные	2
Тайпоксин	Змеи	2
Рицин	Растения	3
Тетродотоксин	Рыбы	8
Сакситоксин	Простейшие	9
Латротоксин	Пауки	10
Бунгаротоксин	Змеи	14
Диоксин	Синтетический	200
Курарин	Растения	500
ДФФ	Синтетический	1000
Иприт	Синтетический	8600
Цианид натрия	Синтетический	10000
Таллия сульфат	Соль	35000
Атропин	Растения	90000
Метанол	Синтетический	1000000

Теоретически не существует веществ, лишенных токсичности. При тех или иных условиях, обнаружится биологический объект, реагирующий повреждением, нарушением функций, гибелью на действие вещества в определенных дозах. Токсичность веществ, полностью инертных в отношении биологических объектов, может быть количественно обозначена, как стремящаяся (но не равная) к нулю.

В связи с изложенным, представляется возможным определить токсикологию как науку, изучающую **свойство**, присущее практически всем веществам окружающего нас мира, как естественного, так и антропогенного происхождения.

Токсикология - наука о токсичности - свойстве, присущем практически всем химическим веществам окружающего мира.

Действие веществ, приводящее к нарушению функций биологических систем, называется **токсическим действием**. В основе токсического действия лежит взаимодействие вещества с биологическим объектом на молекулярном уровне. **Химизм взаимодействия токсиканта и биологического объекта на молекулярном уровне называется механизмом токсического действия.**

Следствием токсического действия веществ на биологические системы является развитие **токсического процесса**.

1.3. Токсический процесс

Токсичность проявляется и может быть изучена только в процессе взаимодействия химического вещества и биологических систем (клетки, изолированного органа, организма, популяции).

Формирование и развитие реакций биосистемы на действие токсиканта, приводящих к её повреждению (т.е. нарушению её функций, жизнеспособности) или гибели называется токсическим процессом. Важнейшим элементом любого токсикологического исследования является изучение характеристики, закономерностей формирования токсического процесса. **Поэтому токсикология - это наука о токсическом процессе.**

Механизмы формирования и развития токсического процесса, его качественные и количественные характеристики, прежде всего, определяются строением вещества и его действующей дозой (рисунок 1):

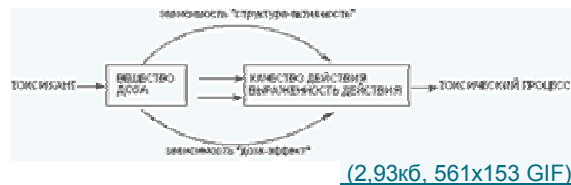


Рисунок 1. Основные характеристики токсического действия

Однако формы, в которых токсический процесс проявляется, несомненно, зависят также от вида биологического объекта, его свойств.

Внешнего потребителя токсикологических знаний (гражданина, инженера по технике безопасности, химика-синтетика, эколога, обеспечивающего сохранение окружающей среды и т.д.) прежде всего, интересует токсичность рассматриваемого вещества. Врача, биолога, глубоко исследующего пагубные последствия вредного действия этого вещества на организм, обеспечивающего профилактику и лечение поражений - токсический процесс.

Вот почему **предмет науки токсикологии, призванной развивать и углублять представления человечества о явлениях, возникающих при взаимодействии химических веществ и живых организмов, можно определить как учение о токсичности и токсическом процессе.**

1.3.1. Формы проявления токсического процесса на разных уровнях организации жизни

Внешние, регистрируемые признаки токсического процесса называются его проявлениями. В ряде приведенных выше определений токсикологии просматривается представление, согласно которому единственной формой проявления токсического процесса является интоксикация (отравление). Интоксикация действительно основная и наиболее изученная, однако далеко не единственная форма.

Проявления токсического процесса определяются **уровнем организации биологического объекта**, на котором токсичность вещества изучается:

- клеточном;
- органном;
- организменном;
- популяционном.

Если токсический эффект изучают **на уровне клетки** (как правило в опытах *in vitro*), то судят прежде всего о **цитотоксичности** вещества. Цитотоксичность выявляется при непосредственном действии соединения на структурные элементы клетки.

На практике к изучению цитотоксичности прибегают:

- при использовании культур клеток для оценки токсичности новых веществ в опытах *in vitro*;
- при исследовании механизмов токсического действия веществ;
- при проведении процедуры биотестирования (выявления токсикантов) объектов окружающей среды и т.д.

Токсический процесс на клеточном уровне проявляется:

- **обратимыми структурно-функциональными изменениями клетки** (изменение формы, средства к красителям, подвижности и т.д.);
- **преждевременной гибелью клетки** (некроз, апоптоз);
- **мутациями** (генотоксичность).

Если в процессе изучения токсических свойств веществ исследуют их повреждающее действие **на отдельные органы и системы**, выносят суждение об **органный токсичности соединений: нейротоксичности, гепатотоксичности, гематотоксичности, нефротоксичности и т.д.**

Органотоксичность оценивают и исследуют:

- в процессе изучения свойств (биологической активности, вредного действия) новых химических веществ;
- в процессе диагностики заболеваний, вызванных химическими веществами.

Токсический процесс со стороны органа или системы проявляется:

- **функциональными реакциями** (спазм гортани, кратковременное падение артериального давления, учащение дыхания, усиление диуреза, лейкоцитоз и т.д.);
- **заболеваниями органа;**
- **неопластическими процессами.**

Токсический процесс на уровне **целостного организма** проявляется:

- **болезнями химической этиологии** (интоксикации, отравления);
- **транзиторными токсическими реакциями** - быстро и самопроизвольно проходящими состояниями, сопровождающимися кратковременной утратой дееспособности (явление раздражение глаз, дыхательных путей; седативно-гипнотические состояния; психодислептические состояния и т.д.);
- **аллобиозом** - стойкими изменениями реактивности организма на воздействие физических, химических, биологических факторов окружающей среды, а также психические и физические нагрузки (аллергия, иммуносупрессия, повышенная утомляемость и т.д.);
- **специальными токсическими процессами** - развивающимися лишь у части популяции, как правило, в особых условиях (действие дополнительных веществ; в определенный период жизнедеятельности организма и т.д.) и характеризующимися продолжительным скрытым периодом (канцерогенез, эмбриотоксичность, нарушение репродуктивных функций и т.д.).

Токсическое действие веществ, регистрируемое **на популяционном и биогеоэкологическом уровне**, может быть обозначено как **экотоксическое**. Экотоксический процесс, как правило, исследуют

врачи профилактики либо в порядке текущего планового контроля, либо в процессе заданных исследований.

Экотоксический процесс на уровне популяции проявляется:

- ростом заболеваемости, смертности, числа врожденных дефектов развития, уменьшением рождаемости;
- нарушением демографических характеристик популяции (соотношение возрастов, полов и т.д.);
- падением средней продолжительности жизни членов популяции, их культурной деградацией.

Глубокое понимание множественности форм проявлений токсического процесса современным врачом, экологом, специалистом в области управления совершенно необходимо для:

- правильной организации изучения токсичности новых химических веществ и интерпретации получаемых результатов;
- выявления пагубных последствий действия токсикантов на человека и окружающую природу;
- планирования и проведения мероприятия по санации выявленных очагов химической опасности для отдельного человека, коллективов, населения в целом.

1.3.2. Основные характеристики токсического процесса, выявляемого на уровне целостного организма

Токсические процессы, выявляемые на уровне организма, можно отнести к одной из следующих групп:

А. Процессы, формирующиеся по пороговому принципу.

Причинно-следственная связь между фактом действия вещества и развитием процесса носит безусловный характер: при действии вещества в дозах ниже определенных уровней токсический процесс не развивается; при достижении определенной дозы процесс развивается непременно. Зависимость "доза-эффект" прослеживается на уровне каждого отдельного организма, при этом, чем больше доза, тем значительнее проявления токсического процесса. К этой группе относятся: интоксикации, транзиторные токсические реакции, некоторые аллобиотические состояния.

Б. Процессы, развивающиеся по беспороговому принципу.

Причинно-следственные связи между фактом действия вещества и развитием процесса носят вероятностный характер: вероятность формирования эффекта сохраняется при действии на организм даже одной молекулы токсиканта, вместе с тем у отдельных организмов процесс может и не развиваться не смотря на значительное увеличение дозы вещества (близкие смертельным). Дозовая зависимость выраженности повреждающего действия, как правило, прослеживается на уровне популяции - чем больше доза, тем у большей части особей испытываемой (исследуемой) группы регистрируется эффект. К таким токсическим процессам относятся: некоторые аллобиотические состояния, специальные токсические процессы (канцерогенез, тератогенез, отчасти нарушение репродуктивных функций и т.д.).

1.3.2.1. Интоксикация (отравление)

Из всех форм проявления токсического процесса наиболее изученной и в наибольшей степени привлекающей внимание врача является интоксикация. Механизмы формирования и особенности течения интоксикаций, зависят от строения ядов, их доз, условий взаимодействия с организмом. Однако можно выделить некоторые общие характеристики этой формы токсического процесса.

1. В зависимости от продолжительности взаимодействия химического вещества и организма интоксикации могут быть острыми, подострыми и хроническими.

Острый называется интоксикация, развивающаяся в результате однократного или повторного действия веществ в течение ограниченного периода времени (как правило, до нескольких суток).

Подострой называется интоксикация, развивающаяся в результате непрерывного или прерываемого во времени (интермиттирующего) действия токсиканта продолжительностью до 90 суток.

Хронической называется интоксикация, развивающаяся в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

Не следует путать понятие острой, подострой, хронической интоксикации с острым, подострым, хроническим течением заболевания, развившегося в результате контакта с веществом. Острая интоксикация некоторыми веществами (иприты, люизит, диоксины, галогенированные бензофураны, паракват и др.) может сопровождаться развитием длительно текущего (хронического) патологического процесса.

2. Периоды интоксикации. Как правило в течении любой интоксикации можно выделить четыре основных периода: период контакта с веществом, скрытый период, период разгара заболевания, период выздоровления. Иногда особо выделяют период осложнений. Выраженность и продолжительность каждого из периодов зависит от вида и свойств вещества, вызвавшего интоксикацию, его дозы и условий взаимодействия с организмом.

3. В зависимости от локализации патологического процесса интоксикация может быть местной и общей.

Местной называется интоксикация, при которой патологический процесс развивается непосредственно на месте аппликации яда. Возможно местное поражение глаз, участков кожи, дыхательных путей и легких, различных областей желудочно-кишечного тракта. Местное действие может проявляться алтерацией тканей (формирование воспалительно-некротических изменений - действие кислот и щелочей на кожные покровы и слизистые; ипритов, люизита на глаза, кожу, слизистые желудочно-кишечного тракта, легкие и т.д.) и функциональными реакциями (без морфологических изменений - сужение зрачка при действии фосфорорганических соединений на орган зрения).

Общей называется интоксикация, при которой в патологический процесс вовлекаются многие органы и системы организма, в том числе удаленные от места аппликации токсиканта. Причиной общей интоксикации, как правило, являются: резорбция токсиканта во внутренние среды, резорбция продуктов распада пораженных покровных тканей, рефлекторные механизмы.

Если какой-либо орган или система имеют низкий порог чувствительности к токсиканту, в сравнении с другими органами, то при определенных дозовых воздействиях возможно **избирательное** поражение этого

органа или системы. Вещества, к которым порог чувствительности того или иного органа или системы значительно ниже, чем других органов, иногда обозначают как **избирательно действующие**. В этой связи используют такие термины как: нейротоксиканты (например, психотомиметики), нефротоксиканты (например, соли ртути), гепатотоксиканты (например, четыреххлористый углерод), гематотоксиканты (например, мышьяковистый водород), пульмонотоксиканты (например, фосген) и т.д. Такое действие развивается крайне редко, как правило, при интоксикациях чрезвычайно токсичными веществами (например, ботулотоксином, тетродотоксином, аманитином). Чаще общее действие ксенобиотика сопровождается развитием патологических процессов со стороны нескольких органов и систем (например хроническое отравление мышьяком - поражение периферической нервной системы, кожи, легких, системы крови).

В большинстве случаев интоксикация носит смешанный, как местный, так и общий характер.

4. В зависимости от интенсивности воздействия токсиканта (характеристика, определяющаяся дозо-временными особенностями действия) интоксикация может быть тяжелой, средней степени тяжести, и легкой.

Тяжелая интоксикация - угрожающее жизни состояние. Крайняя форма тяжелой интоксикации - смертельное отравление.

Интоксикация средней степени тяжести - интоксикация, при которой возможны длительное течение, развитие осложнений, необратимые повреждение органов и систем, приводящее к инвалидизации или обезображиванию пострадавшего (химический ожог кожи лица).

Легкая интоксикация - заканчивается полным выздоровлением в течение нескольких суток.

1.3.2.2. Другие формы токсического процесса

Транзиторные токсические реакции наиболее часто развиваются вследствие раздражающего и седативно-гипнотического действия токсикантов.

Явления раздражения слизистой дыхательных путей, глаз, кожи отмечается при остром воздействии многими веществами - альдегидами, кетонами, галогенами и т.д. Не являясь заболеванием, это состояние, тем не менее обращает на себя внимание, поскольку субъективно тяжело воспринимается пострадавшим, нарушает профессиональную работоспособность.

При действии наркотических средств, многих лекарств, органических растворителей, пищевых продуктов (спирт) в малых дозах проявляется их седативно-гипнотическое действие (опьянение).

Транзиторные токсические реакции могут стать следствием только острого действия химических веществ. Увеличение дозы токсиканта приводит к превращению реакции в отравление: опьянение перерастает в кому; явление раздражения - в воспалительный процесс и т.д. Токсические реакции могут угрожать жизни пострадавшего, так и не трансформировавшись в болезнь (рефлекторная смерть от остановки сердечной деятельности и дыхания при ингаляции аммиака в высоких концентрациях).

Аллобиоз. К числу аллобиотических состояний можно отнести:

- умеренную иммуносупрессию и, как следствие, повышение чувствительности к инфекции;
- аллергизацию организма и повышение чувствительности к токсикантам;
- фотосенсибилизацию покровных тканей некоторыми веществами (псораленом; аминокислотой и т.д.);
- изменение скорости метаболизма ксенобиотиков, в результате длительного приема веществ;
- постинтоксикационные астении;
- "доклинические" формы патологии и др.

Аллобиотические состояния развиваются в результате острых, подострых и хронических воздействий, могут быть этапом на пути развития интоксикации (субклинические формы патологии различных органов и систем), следствием перенесенного отравления (остаточные явления) и, наконец, самостоятельной формой токсического процесса.

Специальные токсические процессы. Развиваются в результате острых, подострых и хронических воздействий ксенобиотиков. Как правило, в основе специальных токсических процессов лежит способность веществ изменять генетический код клеток.

2. Цель и задачи токсикологии

Цель токсикологии, как области человеческой деятельности - непрерывное совершенствование системы мероприятий, средств и методов, обеспечивающих сохранение жизни, здоровья и профессиональной работоспособности отдельного человека, коллективов и населения в целом в условиях повседневного контакта с химическими веществами и при чрезвычайных ситуациях.

Эта цель достигается путем решения фундаментальных и прикладных токсикологических задач:

1. Установление количественных характеристик причинно-следственных связей между фактом воздействия каждого из известных человеку химических веществ и развитием различных форм токсического процесса; оценка токсичности веществ. Раздел токсикологии, в рамках которого совершенствуется методология и осуществляется оценка токсичности химических веществ, называется **"токсикометрия"**. Результаты токсикометрических исследований в медицинской практике используют для разработки системы нормативных и правовых актов, обеспечивающих химическую безопасность населения; оценки риска действия ксенобиотиков в условиях производства, экологических и бытовых контактов с токсикантами; сравнительной оценки эффективности средств и методов обеспечения химической безопасности населения и т.д.

2. Изучение механизмов, лежащих в основе токсического действия различных химических веществ, закономерностей формирования токсического процесса, его проявлений. Эта задача решается с помощью методических приемов, разрабатываемых и совершенствуемых в рамках раздела токсикологии **"токсикодинамика"**. Токсикодинамические характеристики веществ необходимы для разработки медикаментозных средств профилактики и терапии интоксикаций, средств и методов предупреждения и минимизации пагубных последствий развития иных форм токсического процесса; совершенствования

методов диагностики интоксикаций и оценки функционального состояния лиц, подвергшихся воздействию сверхнормативных доз токсикантов; совершенствования методов оценки токсичности ксенобиотиков и биотестирования исследуемых проб.

3. Выяснение механизмов проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения. Совокупность методических приемов, используемых для решения задачи, и накопленных сведений формируют раздел токсикологии - **"токсикокинетика"**. Знания токсикокинетики ксенобиотиков необходимы для разработки надежной системы профилактики токсических воздействий; диагностики интоксикаций, выявления профессиональной патологии, проведения судебно-медицинской экспертизы; они широко используются в процессе создания новых противоядий и схем их оптимального использования; совершенствования методов форсированной детоксикации организма и т.д.

4. Установление факторов, влияющих на токсичность вещества: свойств токсикантов, особенностей биологических объектов, условий их взаимодействия, состояния окружающей среды и т.д.

Все упомянутые задачи решаются в ходе экспериментальных исследований на животных, в процессе лечения острых и хронических отравлений человека в условиях клиники, эпидемиологических исследований среди профессиональных групп и населения, подвергшихся действию токсикантов.

3. Структура токсикологии

Токсикологическая наука представлена несколькими основными направлениями.

Экспериментальная токсикология изучает общие закономерности взаимодействия веществ и биологических систем (зависимости: "доза токсиканта - эффект", "строение токсиканта - эффект", "условия взаимодействия - эффект"), механизмы формирования и течения токсического процесса; рассматривает проблемы токсикологии в эволюционном аспекте; разрабатывает методологию экстраполяции данных с животных на человека; обеспечивает решение практических задач, стоящих перед профилактической и клинической токсикологией.

Профилактическая токсикология изучает токсичность новых химических веществ; устанавливает критерии их вредности, обосновывает и разрабатывает ПДК токсикантов, нормативные и правовые акты, обеспечивающие сохранение жизни, здоровья, профессиональной работоспособности населения в условиях химических воздействий и осуществляет контроль за их соблюдением;

Клиническая токсикология - область практической медицины, связанная с оказанием помощи при острых токсических поражениях, выявлением и лечением патологии, обусловленной действием профессиональных вредностей и т.д. В рамках клинической токсикологии совершенствуются средства и методы диагностики и лечения острых интоксикаций, изучаются особенности течения профессиональных болезней, вызванных действием химических веществ на организм.

С учетом условий (преимущественно особенностей профессиональной деятельности), в которых наиболее вероятно воздействие того или иного токсиканта на организм человека, в медицинской токсикологии иногда выделяют **промышленную, сельскохозяйственную, коммунальную токсикологию, токсикологию специальных видов деятельности** и т.д.

Новым направлением современной токсикологии является **экотоксикология**.

ГЛАВА 1.2. ТОКСИКАНТ (ЯД)

1. Общая характеристика токсикантов

Как указывалось ранее, следует исключить понятие яд из определения науки токсикологии. Однако это не означает, что этот термин не следует использовать в практической деятельности. Необходимо лишь признать, что ядом СТАНОВИТСЯ любое химическое вещество, если при взаимодействии с организмом оно вызвало заболевание или гибель (интоксикацию, отравление и т.д.).

Помимо термина яд в токсикологии используют и другие термины, характеризующие химические вещества, как потенциальную или реализовавшуюся причину повреждения биологических систем.

Токсикант - более широкое понятие, употребляющееся не только для обозначения веществ вызвавших интоксикацию, но провоцирующих и другие формы токсического процесса, и не только организма, но и биологических систем иных уровней организации: клеток (цитотоксикант), популяций (экоотоксикант).

Нередко в токсикологической литературе используют термин ксенобиотик, подчеркивая тем самым, что некое химическое вещество рассматривается без учета последствий его действия на организм.

Ксенобиотик - это чужеродное (не участвующее в пластическом или энергетическом обмене) вещество, попавшее во внутреннюю среду организма.

В качестве токсикантов (ядов) могут выступать практически любые соединения различного строения, если, действуя на биологические системы не механическим путем, они вызывают их повреждение или гибель.

В настоящее время известны тысячи химических веществ, используемых человеком в быту, медицине, на производстве, в сельском хозяйстве. Поскольку, как следует из определения, по сути, любое из химических веществ при тех или иных условиях может вызвать токсический процесс, полная классификация токсикантов возможна только на принципе их химического строения. Она-то и положена в основу наиболее подробных справочных пособий по токсикологии как у нас в стране, так и за рубежом ("Вредные вещества в промышленности"; "Вредные химические вещества"). Однако такая классификация не позволяет составить общего представления о содержании проблемы химической опасности. Предлагаемая читателю структура токсикантов является рубрикатом, позволяющим идентифицировать химическую опасность по ряду принципов:

1. По происхождению

1.1. Токсиканты естественного происхождения

1.1.1. Биологического происхождения

1.1.1.1. Бактериальные токсины

1.1.1.2. Растительные яды

1.1.1.3. Яды животного происхождения

1.1.2. Неорганические соединения

1.1.3. Органические соединения небиологического происхождения

1.2. Синтетические токсиканты

2. По способу использования человеком

2.1. Ингредиенты химического синтеза и специальных видов производств

2.2. Пестициды

2.3. Лекарства и косметика

2.4. Пищевые добавки

2.5. Топлива и масла

2.6. Растворители, красители, клеи

2.7. Побочные продукты химического синтеза, примеси и отходы

3. По условиям воздействия

3.1. Загрязнители окружающей среды (воздуха, воды, почвы, продовольствия)

3.2. Профессиональные (производственные) токсиканты

3.3. Бытовые токсиканты

3.4. Вредные привычки и пристрастия (табак, алкоголь, наркотические средства, лекарства и т.д.)

3.5. Поражающие факторы при специальных условиях воздействия

3.5.1. Аварийного и катастрофального происхождения

3.5.2. Боевые отравляющие вещества и диверсионные агенты

2. Краткая характеристика отдельных групп токсикантов

2.1. Токсиканты биологического происхождения

2.1.1. Бактериальные токсины

По большей части бактериальные токсины представляют собой высокомолекулярные соединения, как правило, белковой, полипептидной или липополисахаридной природы, обладающие антигенными свойствами. В настоящее время выделены и изучены более 150 токсинов (таблица 1).

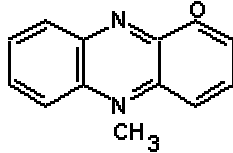
Таблица 1. Бактериальные токсины белковой и полипептидной природы

Общее число	более 150
Продуцируемые:	
-Грам-положительными организмами	около 66%
-Грам-отрицательными организмами	около 33%
Экстрацеллюлярные	70%
Интрацеллюлярные	30%
Энтеротоксины	20 (13%)
Цитолитические токсины	40 (26%)
Известна энзиматическая активность	16 (10%)

(J.E. Alouf, 1982)

Многие бактериальные токсины относятся к числу самых ядовитых из известных веществ. Это, прежде всего, ботулотоксин, холерные токсины, тетанотоксин, стафилококковые токсины, дифтерийные токсины и т.д. Ботулотоксин и стафилококковые токсины рассматривались как возможные боевые отравляющие вещества. Бактериальные токсины действуют на разные органы и системы млекопитающих и, в частности, человека, однако преимущественно страдают нервная и сердечно-сосудистая системы, реже слизистые оболочки.

Бактерии могут продуцировать и токсические вещества относительно простого строения. Среди них формальдегид, ацетальдегид, бутанол. К числу таких веществ относится также и псиоцианин, выделяемый псевдомонадами (рисунок 1).



псиоцианин

Рисунок 1. Низкомолекулярный токсикант, выделяемый бактериями

2.1.2. Микотоксины

Химическое строение и биологическая активность микотоксинов чрезвычайно разнообразны. Они не представляют собой некую единую в химическом отношении группу. С практической точки зрения наибольший интерес представляют вещества, продуцируемые микроскопическими грибами, способные заражать пищевые продукты человека и животных. К таковым относятся, в частности, некоторые эрготоксины, продуцируемые грибами группы *Claviceps* (спорынья, маточные рожки), афлатоксины (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) и близкие им соединения, выделяемые грибами группы *Aspergillus*, трихотеценовые микотоксины (более 40 наименований), продуцируемые несколькими родами грибов, преимущественно *Fusarium*, ократоксины (B , C), патулин и др. Структура некоторых токсинов представлена на рисунке 2.

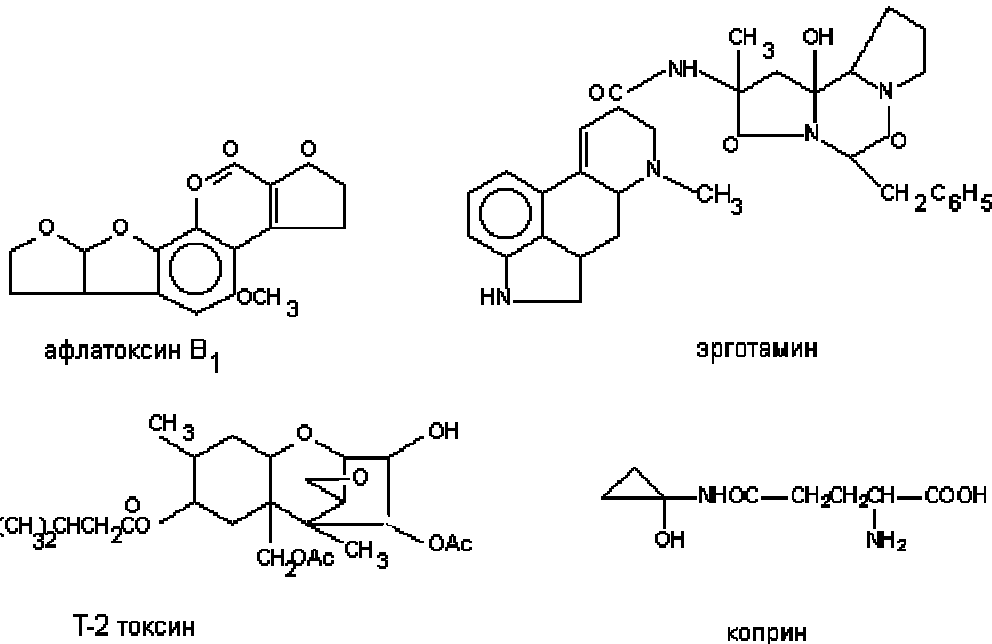


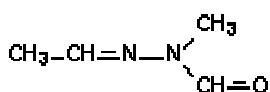
Рисунок 2. Структура некоторых микотоксинов

Аналоги эрготамина действуют на центральную нервную систему, вызывают спазм кровеносных сосудов и сокращение мускулатуры матки. Отравление зерном, зараженным спорыньей, в старые времена не редко носило характер эпидемий. В настоящее время подобные эпидемии среди населения практически не отмечаются, однако возможно поражение рогатого скота. Отравление веществами случаются при попытке прервать с их помощью беременность. Аналоги эрготамина - производные эрготина. Одним из известнейших производных эрготина является галлюциноген диэтиламид лизергиновой кислоты (ДЛК).

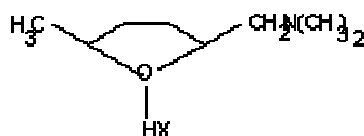
Наиболее активными продуцентами афлатоксинов являются грибки *Aspergillus flavus* (отсюда и название токсинов), нередко поражающие зерновые: пшеницу, кукурузу и т.д. Помимо высокой острой токсичности, афлатоксины в опытах на животных проявляют свойства канцерогенов.

Трихотеценовые токсины также обладают высокой токсичностью. Вещества проявляют бактерицидную, фунгицидную, инсектицидную активность. Отравление человека сопровождается поносом, рвотой, явлениями атаксии. Некоторое время рассматривалась возможность использования этих веществ в качестве химического оружия.

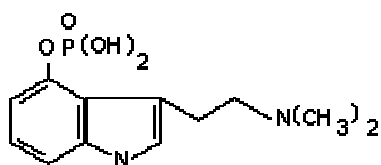
Многие высшие грибы также продуцируют токсические вещества различного строения с широким спектром физиологической активности. Наиболее опасными являются аманитины, аманины и фаллоидины, содержащиеся в бледной поганке и при случайном использовании в пищу гриба вызывающие поражение печени и почек. Другими известными токсикантами являются мускарин, гиомитрин, иботеновая кислота и др. Вещества, синтезирующиеся отдельными видами грибов обладают выраженной галлюциногенной активностью, например псилоцин, псилоцибин и др. (рисунок 3).



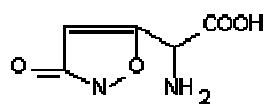
ГИРОМИТРИН



МУСКАРИН



псилоцибин

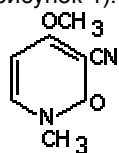


иботеновая кислота

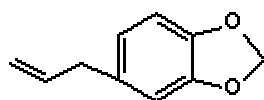
Рисунок 3. Некоторые примеры токсичных веществ, содержащихся в высших грибах.

2.1.3. Токсины высших растений

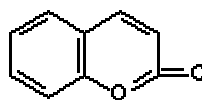
Огромное количество веществ, токсичных для млекопитающих, человека и других живых существ, синтезируется растениями (фитотоксины). Являясь продуктами метаболизма растений, фитотоксины порой выполняют защитные функции, отпугивая потенциальных консументов. Однако по большей части их значение для жизнедеятельности растения остается неизвестным. Фитотоксины представляют собой вещества с различным строением и неодинаковой биологической активностью. Среди них: алкалоиды, органические кислоты, терпеноиды, липиды, гликозиды, сапонины, флавоноиды, кумарины, антрахиноны и др. (рисунков 4).



РИЦИНИН



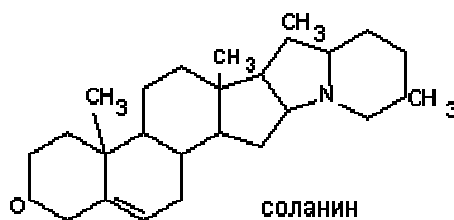
сафрол



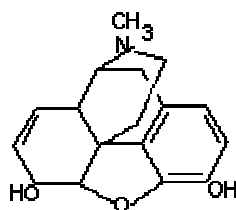
КУМАРИН



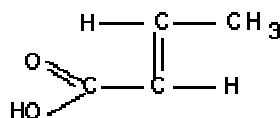
НИКОТИН



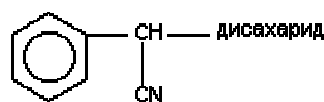
СОЛАНИН



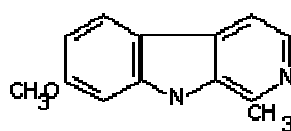
морфин



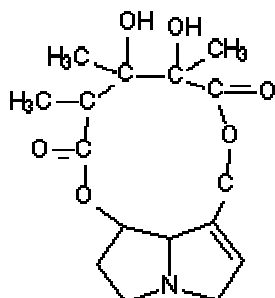
КРОТОНОВАЯ КИСЛОТА



амигдалин



Гармин



МОНОКРОТАЛИН

Рисунок 4. Структура некоторых фитотоксинов

Особенно многочислен класс алкалоидов (табл. 2).

Таблица 2. Основные группы алкалоидов, продуцируемые растениями

Группы алкалоидов	Важнейшие представители	Растения
Пиридиновые И пиперидиновые	кониин никотин лобелин	Болиголов Табак Лобелия
Пирролидиновые	гиосциамин скополамин	Белена Скополия
Пирролизидиновые	платифиллин сенецифиллин	Крестовник
Хинолиновые	эхинопсин	Мордовник
Бензилизохинолиновые	папаверин	Мак
Фенантрен- Изохинолинолвые	морфин кодеин	Мак
Дибензил- Изохинолиновые	даурицин	Луносемянник
Бензофенантридиновые	хелидонин сангвинарин	Чистотел
Индольные	галантамин винкамин	Подснежник Барвинок
Имидазольные	пилокарпин	Пилокарпус
Пуриновые	кофеин теофиллин	Чай Кофе
Дитерпеновые	аконитин	Борец
Стероидные	соланин	Картофель
Ациклические	эфедрин	Эфедр
Колхициновые	колхицин	Безвременник

Алкалоиды - азотсодержащие органические гетероциклические основания. В настоящее время известно несколько тысяч алкалоидов, многие из которых обладают высокой токсичностью для млекопитающих и человека.

Гликозиды - соединения, представляющие собой продукты конденсации циклических форм моно- или олигосахаридов со спиртами (фенолами), тиолами, аминами и т.д. Неуглеводная часть молекулы называется агликоном, а химическая связь агликона с сахаром - гликозидной. Гликозидная связь достаточно устойчива и не разрушается в водных растворах веществ. Наиболее известны сердечные (стероидные) гликозиды, в которых в качестве агликона выступают производные циклопентанпергидрофенантрена. Эти соединения, продуцируемые растениями самых разнообразных видов, обладают высокой токсичностью, обусловленной отчасти избирательным действием на сердечную мышцу. Известны гликозиды и более простого строения (амигдалин - содержит в качестве агликона CN^-).

Сапонины - наиболее часто встречаются в виде стероидов спиростанового ряда и пентациклических терпеноидов. Сапонины обладают раздражающим действием на слизистые оболочки млекопитающих, а при попадании в кровь вызывают гемолиз эритроцитов (рисунок 5).

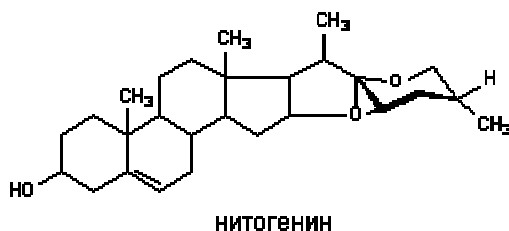


Рисунок 5. Структура нитогенина, вещества, образующего сапонин

Кумарины - кислородсодержащие гетероциклические соединения, обладающие антикоагулянтным и фотосенсибилизирующим действием. Известно несколько сот веществ, относящихся к классу кумаринов.

Многие вещества растительного происхождения широко используются в медицине, например атропин, галантамин, физостигмин, строфантин, дигитоксин и многие, многие другие. Ряд фитотоксинов вызывают вредные пристрастия и являются излюбленным зельем токсикоманов и наркоманов. Среди них: кокаин, никотин, гармин, морфин, канабиноиды и др. Нередко продукты жизнедеятельности растений являются аллергенами. Отдельные фитотоксины обладают канцерогенной активностью. Например, сафрол и близкие соединения, содержащиеся в черном перце, соланин обнаруживаемый в проросшем картофеле, хиноны и фенолы, широко представленные в многочисленных растениях. Некоторые токсиканты, содержатся в растениях в ничтожных количествах и могут оказывать токсический эффект лишь в форме специально приготовленных препаратов, другие вызывают интоксикацию при поедании растений, содержащих их.

2.1.4. Токсины животных (зоотоксины)

Любой живой организм синтезирует огромное количество биологически активных веществ, которые после выделения, очистки и введения другим организмам в определенных дозах могут вызывать тяжелые интоксикации. Однако часть животных самых разных семейств, родов и видов содержат в органах и тканях

чрезвычайно токсичные вещества, что позволяет выделить их в особую группу ядовитых (опасных) животных. Некоторые животные являются вторично-ядовитыми, поскольку не продуцируют, но аккумулируют яды, поступающие из окружающей среды (моллюски, накапливающие в тканях сакситоксин, синтезируемый одноклеточными организмами). Часть биологически активных веществ, вырабатываемых животными, являются так называемыми пассивными зоотоксинами, оказывающими действие при поедании животного-продуцента. Другие - активные токсины. Они вводятся в организм жертвы с помощью специального аппарата (жала, зубов, игл и т.д.).

Химическое строение зоотоксинов чрезвычайно разнообразно. Это и ферменты, и другие протеины, олиго- и полипептиды, липиды, биогенные амины, гликозиды, терпены и др. Очень часто активный зоотоксин представляет собой сложную смесь большого числа биологически активных веществ. Так, в состав яда скорпионов входят: фосфолипаза А, фосфолипаза В, ацетилхолинэстераза, фосфатаза, гиалуронидаза, рибонуклеаза и др. В состав яда змей входят вещества, имеющие сложное белковое строение. Ежегодно от укусов ядовитых животных в мире погибает несколько тысяч человек.

Высокотоксичные соединения относительно простого строения обнаружены в тканях некоторых насекомых, моллюсков, рыб и земноводных. Отдельные представители этих веществ рассматривались как возможные боевые отравляющие вещества (сакситоксин, тетродотоксин, батрахотоксин, буфотенин и др.) (риснок 6).

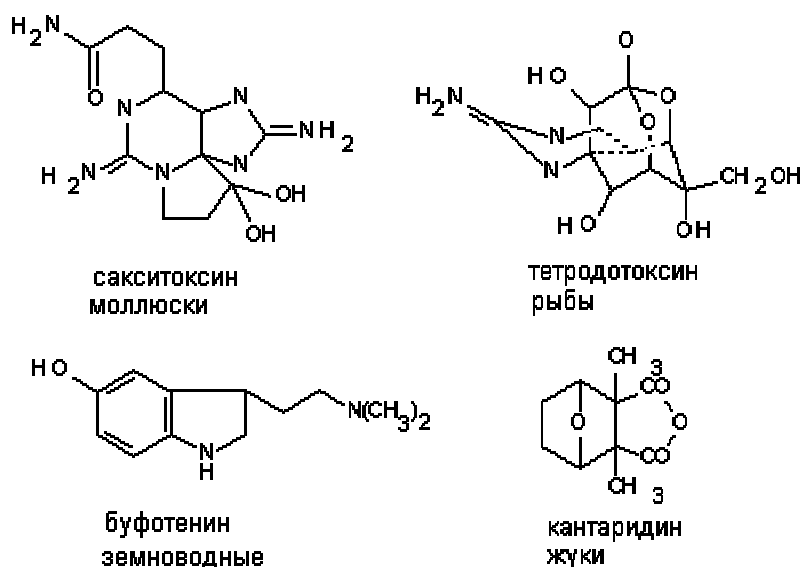


Рисунок 6. Структура некоторых зоотоксинов

Сакситоксин и тетродотоксин, являясь избирательными блокаторами натриевых каналов возбудимых мембран, широко используются в лабораторной практике. Буфотенин - известный галлюциноген. Кантаридин - вещество, продуцируемое жуком-нарывником, способно вызывать гибель клеток, с которыми приходит в контакт, и потому его действие определяется способом аппликации.

2.2. Неорганические соединения естественного происхождения

Среди многочисленных неорганических соединений естественного происхождения, вероятно, наибольшее токсикологическое значение имеют металлы и их соединения, а также газообразные вещества - загрязнители атмосферного воздуха и воздуха производственных помещений.

В естественных условиях металлы встречаются в форме руд и минералов. Они определяются в воздухе, почве и воде. Выплавка металлов из руд и использование в самых разнообразных отраслях человеческой деятельности привели к существенному увеличению их содержания в окружающей среде. Наибольшее токсикологическое значение имеют ртуть, кадмий, хром, мышьяк, свинец, бериллий, цинк, медь, таллий и др. Бериллий широко используется в металлургической промышленности. Кадмий воздействует на человека при проведении сварочных работ и в ходе других производственных процессов. В настоящее время кадмий рассматривается как один из опаснейших экотоксикантов. Ртуть нашла применение в электронной промышленности и производстве фунгицидов (см. ниже). Ранее эпидемии отравлений ртутью имели место на целлюлозно-бумажных производствах. Еще одним важным, с точки зрения токсикологии, металлом является свинец. Широчайшее использование свинца в хозяйственной деятельности приводит к постепенному накоплению металла в окружающей среде.

Большую опасность представляют некоторые органические соединения металлов (ртути, свинца, олова, мышьяка).

В группу газообразных загрязнителей входят вещества, находящиеся в газообразном состоянии при нормальной температуре и атмосферном давлении, а также пары летучих жидкостей. Среди веществ, представляющих наибольшую опасность: монооксид и диоксид углерода (CO , CO_2), сероводород (H_2S), оксиды азота (N_xO_y), озон (O_3), оксиды серы (S_xO_y) и др. Обмен многих загрязнителей в атмосфере происходит естественным путем. Так, в процессе вулканической активности в атмосферу выбрасываются оксиды серы, галогены, сероводород. В ходе лесных пожаров выделяется огромное количество CO , оксидов азота, сажи. Основным источником газообразных веществ в атмосфере являются растения. Источниками газообразных загрязнителей антропогенного происхождения являются:

1. Продукты сгорания топлива;
2. Отходы эксплуатации транспортных средств;

3. Промышленные производства;
4. Добывающая и горнорудная промышленность.

Результатом горения топлива является образование большого количества оксидов углерода, азота, серы. Эксплуатация транспортных средств приводит к выбросу в атмосферу свинца, CO, NO, углеводородов. Производства - основной источник кислот, растворителей, хлора, аммиака.

Газообразные вещества в бытовых условиях образуются при приготовлении пищи, курении, эксплуатации бытовой техники.

Основные источники и эффекты, вызываемые некоторыми неорганическими соединениями, представлены на таблице 3.

Таблица 3. Источники и эффекты некоторых неорганических соединений - загрязнителей воздуха.

Поллютанты	Источники	Эффекты
Оксиды серы	Продукты горения угля и нефти	Основные компоненты кислотных дождей; поражение легких
Оксиды азота	Автомобильный транспорт; теплоэлектростанции	Фотохимические процессы в атмосфере; кислотные дожди; поражение легких
Монооксид углерода	Автомобильный транспорт; продукт горения	Нарушение кислородтранспортных свойств крови
Озон	Автомобильный транспорт;	Фотохимические процессы в атмосфере; поражение легких
Асбест	Добыча; производство изделий	Асбестоз; рак легких
Мышьяк	Промышленность	Острые и хронические интоксикации; канцерогенез

2.3. Органические соединения естественного происхождения

Основными природными источниками органических соединений являются залежи угля, нефти, вулканическая деятельность. Помимо предельных и непредельных алифатических углеводородов, большое токсикологическое значение среди представителей группы имеют полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Эти вещества также выделяются при неполном сгорании органических материалов и обнаруживаются в дыме при горении древесины, угля, нефти, табака, а также в каменноугольной смоле и жареной пище. Химическая структура некоторых ПАУ представлена на рисунке 7.

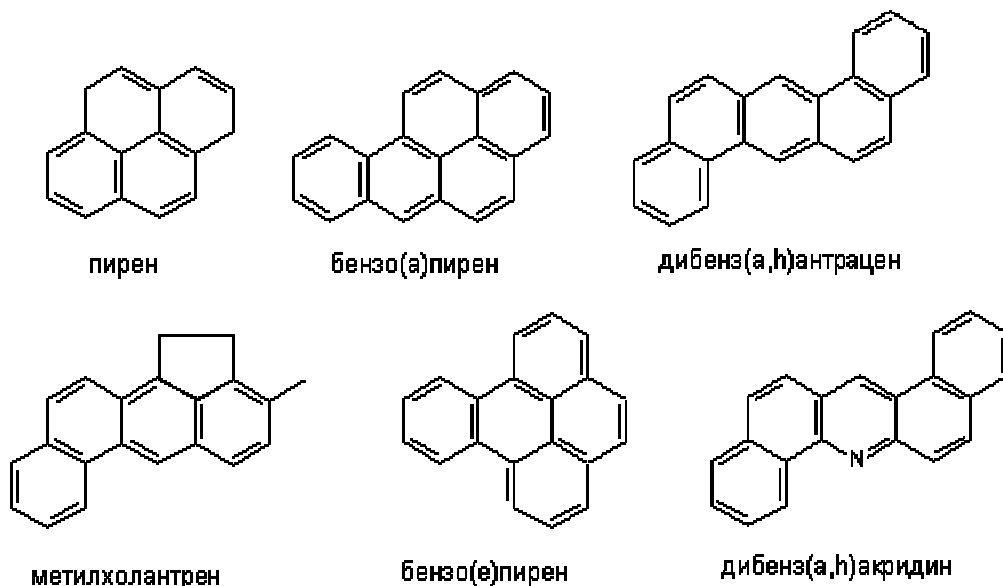


Рисунок 7. Структура отдельных представителей полициклических ароматических углеводородов. Поскольку отдельные ПАУ являются канцерогенами, их рассматривают как опасные экотоксиканты.

2.4. Синтетические токсиканты

Подавляющее большинство известных химических соединений получены синтетическим путем. Нет такой области деятельности, в ходе которой современный человек не контактировал бы с химическими веществами. Некоторые группы веществ, не смотря на их широчайшее использование, в силу высокой биологической активности, требуют особого внимания со стороны токсикологов. Это, прежде всего, пестициды, органические растворители, лекарства, токсичные компоненты различных производств, побочные продукты химического синтеза и т.д.

2.4.1. Пестициды

Пестициды - вещества, предназначенные для борьбы с животными- и растениями-вредителями с целью повышения урожайности и сохранения материальных ценностей, созданных человеком. В отличие от других поллютантов пестицидами умышленно обрабатывают окружающую среду для того, чтобы уничтожить некоторые виды живых организмов. Наиболее желательным свойством пестицидов, в этой связи, является избирательность их действия в отношении организмов-мишеней. Однако селективность действия подавляющего большинства пестицидов не является абсолютной, поэтому многие вещества

представляют большую или меньшую опасность для человека. Основной риск, связанный с использованием пестицидов, обусловлен их накоплением в окружающей среде и биоте, перемещением по пищевым цепям, вплоть до человека. Достаточно часты случаи острого отравления пестицидами. Не изжиты хронические интоксикации у рабочих, занятых в производстве и использовании пестицидов. Поскольку организмы "вредителей" адаптируются к действию химических веществ, во всем мире постоянно синтезируются и внедряются в практику десятки и сотни новых соединений. Различные классы пестицидов представлены на таблице 4.

Таблица 4. Классы пестицидов

Классы	Основные химические группы
Альгициды	оловоорганические соединения (брестар)
Фунгициды	Дикарбоксимиды (каптан) Хлорированные ароматические углеводороды (пентахлорфенол) дитиокарбаматы(манеб) соединения ртути (ацетат фенилртути)
Гербициды	амиды, ацетамиды (пропанил) бипиридины (паракват) карбаматы, тиокарбаматы (барбан) феноксикислоты (2,4,-Д) динитрофенолы (динитрокрезол) динитроанилин (трифлуралин) производные мочевины (монурон) триазины (атразин)
Нематоциды	галогенированные алканы (этилен дибромид)
Моллюскоциды	хлорированные углеводороды (байлусцид)
Инсектициды	хлорированные углеводороды аналоги ДДТ (ДДТ) циклодиены (алдрин) хлорированные терпены (токсафен) фосфорорганические соединения (паратион) карбаматы (карбарил) тиоцианаты (летан) динитрофенолы (ДНОК) фторацетаты (ниссол) растительные яды никотин ротеноиды (ротенон) перитроиды (перитрин) аналоги гормонов роста (метопрен) производные мышьяка (арсенат свинца) фторсодержащие соединения (фторид натрия)
Акарициды	сероорганические соединения (овекс) формамидин (хлордиформ) динитрофенолы (динекс) аналоги ДДТ (хлорбензилат)
Родентициды	антикоагулянты (варфарин) алкалоиды (стрихнин сульфат) фторсодержащие соединения (фторацетат) производные тиомочевины (нафтилтиомочевина) соединения таллия (сульфат таллия)

Структура некоторых из них представлены на рисунке 7.

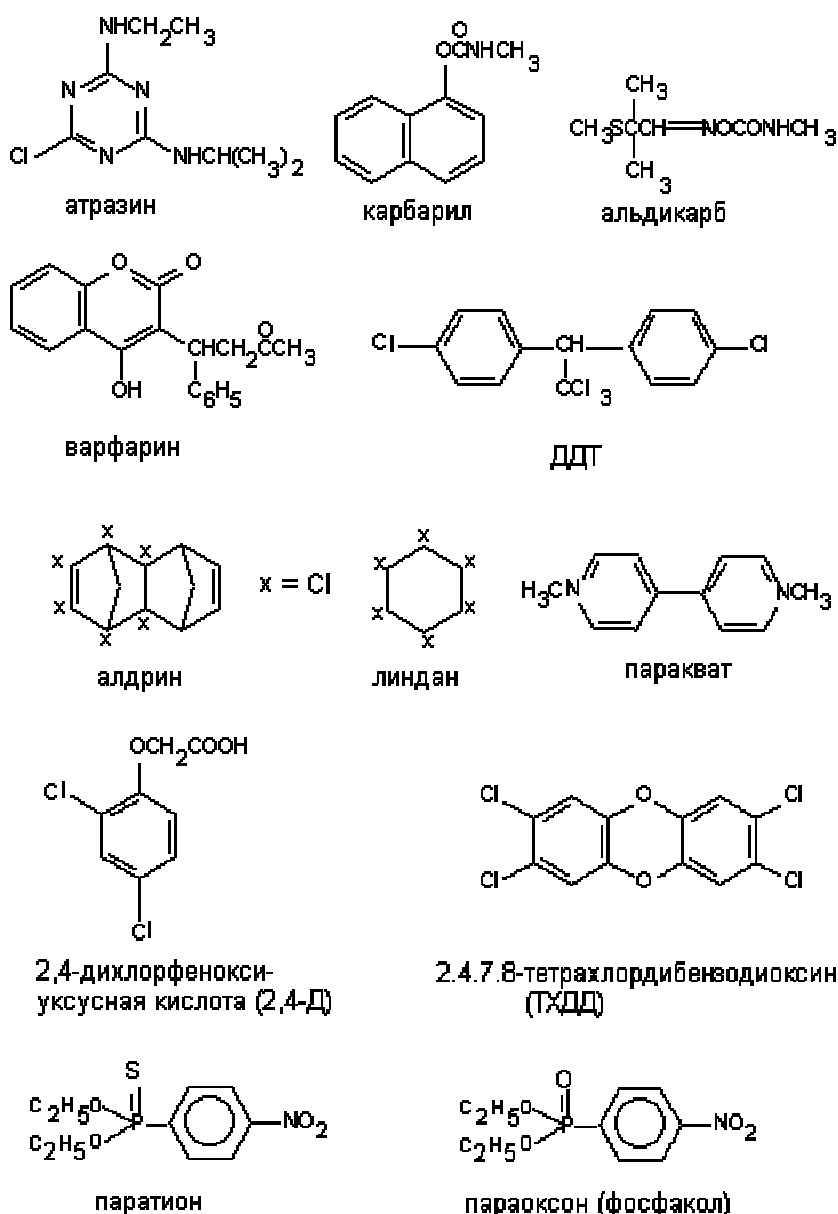


Рисунок 7. Структура некоторых пестицидов

Самым известным **хлорорганическим** инсектицидом является ДДТ. Хотя это вещество синтезировано еще в 1874 году, его инсектицидные свойства были обнаружены лишь в 1939 году швейцарским химиком Паулем Мюллером, удостоенным за это открытие десять лет спустя Нобелевской премии. ДДТ широко использовался для борьбы с вредителями, однако сейчас, в силу отрицательных токсикологических свойств, запрещен к производству и применению в большинстве развитых стран. Среди других известных хлорорганических пестицидов следует назвать метоксихлор (близкий аналог ДДТ), мирекс, алдрин, хлордан, линдан.

Фосфорорганические инсектициды (ФОИ) представляют собой по большей части эфиры фосфорной и тиофосфорной кислот. В настоящее время это наиболее широко используемые пестициды. Они токсичнее хлорорганических инсектицидов, но менее стойки в окружающей среде и потому менее опасны с точки зрения экологии. Широкое исследование этих веществ началось в 1930х годах в лаборатории Герхарда Шрадера в Германии. Токсичность ФОС зависит от строения алкильных радикалов при атоме фосфора. Для млекопитающих и человека производные фосфорной кислоты значительно токсичнее, чем тиофосфорной. Для насекомых имеет место обратная зависимость. Первым широко используемым пестицидом из этой группы был тетраэтилпирофосфат (ТЭПФ). Из-за высокой токсичности для млекопитающих он был позже заменен на другие соединения. Среди наиболее известных ФОИ: паратион, диазинон, хлорофос, карбофос, дисульфотион, малатион. Среди ФОС обнаружены не только эффективные пестициды, но и вещества чрезвычайно токсичные для человека. Под руководством того же Шрадера на основе ФОС в 1940х годах были получены первые фосфорорганические боевые отравляющие вещества (ФОВ), в частности, табун. Все ФОС - нейротоксиканты, нарушающие проведение нервных импульсов в центральных и периферических холинэргических синапсах.

Близким ФОС по механизму токсического действия на организм насекомых и млекопитающих является класс инсектицидов из группы **карбаматов**. Все карбаматы являются эфирами N-метил карбаминовой кислоты (рисунок 8).

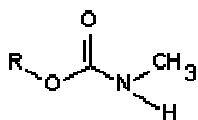


Рисунок 8. Структурная формула карбаминовой кислоты

Токсичность карбаматов изменяется в зависимости от строения радикала "R" в очень широких пределах. К наиболее известным пестицидам этой группы относятся: карбарил (севин), пропоксур (байгон), альдикарб (темик). Среди карбаматов найдены и вещества обладающие чрезвычайной токсичностью для лабораторных животных, например, производные бис(диметилкарбамокси бензил)алкан диметил галида (ЛД₅₀ для кроликов составляет 0,005 мг/кг). Такие вещества в свое время обращали на себя внимание военных.

Гербициды - это вещества, предназначенные для борьбы с растениями, в частности, сорными травами. Динитрофенол, динитро-орто-крезол, пентахлорфенол используются, как контактные гербициды. Хлорфенолы применяют и как фунгициды для защиты древесины от поражения грибами. Печальную известность, после войны США против Вьетнама, получили производные феноксиуксусной кислоты (2,4-Д и 2,4,5-Т), входившие в состав так называемой "оранжевой смеси", использовавшейся американцами в качестве дефолианта. Эти вещества практически не токсичны для человека, однако, содержащийся в качестве примеси 2,3,7,8-тетрахлордibenзодиоксин (ТХДД) вызывал поражение людей. Кроме того это вещество обладает свойствами иммунотоксиканта, тератогена, мутагена и канцерогена. Другими известными гербицидами являются паракват, дикват, атразин и т.д.

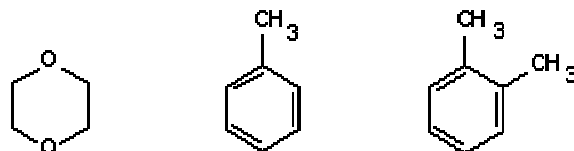
Чрезвычайно опасны для человека средства борьбы с грызунами - **родентициды**. Производные фторуксусной кислоты, варфарин, стрихнин, соли таллия, используемые для этой цели - высоко токсичные соединения.

2.4.2. Органические растворители

Органические растворители используют повсеместно: на производствах, в сельском хозяйстве, в быту. К числу растворителей относятся вещества, с близкими физико-химическими свойствами. Это жидкости, плохо растворяющиеся в воде и хорошо в жирах, не диссоциирующие в водных растворах с образованием ионов. Последнее свойство послужило поводом для объединения их в группу под общим названием "неэлектролиты" (Н.В. Лазарев). Обычные органические растворители принадлежат к одной из следующих химических групп:

1. Аليفатические углеводороды (пентан, гексан, октан и др.);
2. Галогенированные алифатические углеводороды (хлороформ: CHCl_3 ; четыреххлористый углерод: CCl_4 ; метилхлорид: CH_2Cl_2 ; трихлорэтилен: $\text{Cl}_2\text{C}=\text{CHCl}$; винилхлорид: $\text{CH}_2=\text{CHCl}$ и т.д.);
3. Аليفатические спирты (этанол, метанол и т.д.);
4. Гликоли и эфиры гликолей (этиленгликоль, пропиленгликоль, диоксан и т.д.);
5. Ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилол).

Структура некоторых растворителей ароматического ряда представлена на рисунке 9.



диоксан

толуол

o-ксолол

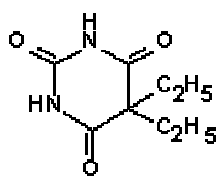
Рисунок 9. Структура некоторых органических растворителей ароматического ряда

Для всех органических растворителей характерна близость токсикологических свойств: они угнетают функции центральной нервной системы (наркотическое действие).

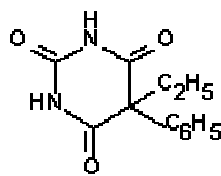
Коммерческие растворители, как правило, представляют собой смесь соединений и включают азот- и серо-органические соединения, а также бензин и некоторые масла. Растворители используют для производства красителей, лаков, клеев и т.д. Поэтому отравления этими продуктами нередко обусловлены действием именно растворителей. Токсикоманическое пристрастие к вдыханию клеев, также связано с привыканием к состоянию, формирующемуся вследствие действия органических растворителей на ЦНС.

2.4.3. Лекарства, пищевые добавки, косметика

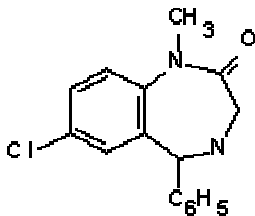
Количество лекарств, выпускаемых в мире, составляет десятки тысяч тон веществ многих сотен наименований. Практически любое лекарственное средство обладает токсичностью и при неправильном его использовании и у людей с повышенной чувствительностью может вызвать неблагоприятные эффекты. В настоящее время ни один медикамент не разрешается к применению до исчерпывающего изучения его переносимости (токсичности), определения оптимальных доз и схем использования по программам, утвержденным специальными государственными структурами ("Фармакологический Комитет" в России, "Управление пищевых и лекарственных средств" в США). Тем не менее число отравленных лекарствами неизменно растет. Причиной тому наиболее часто является неконтролируемое со стороны врача использование препаратов, суицидные попытки. Первое место, как причина самоотравления, занимают психофармакологические средства, такие как барбитураты (барбитал, фенобарбитал), бензодиазепины (диазепам), трициклические антидепрессанты (имипрамин) и т.д. (рисунок 10).



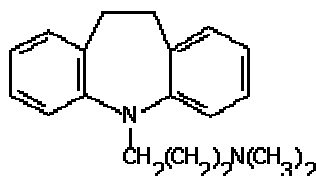
барбитал



фенобарбитал



диазепам



имипрамин

Рисунок 10. Структура некоторых препаратов - частых причин острых интоксикаций

Еще одна токсикологическая проблема, связанная с использованием лекарств, это наличие у многих из них так называемых побочных, т.е. нежелательных, эффектов. Далеко не всегда удастся разработать средство, активно вмешивающееся в течение того или иного патологического процесса и, вместе с тем, не действующее на нормально протекающие в организме процессы. Как правило, лекарство, принося пользу в одном, наносит ущерб в другом. Существуют весьма опасные медикаментозные средства, использование которых сопряжено с существенным риском. Оправданием их применения является угроза жизни пациента и отсутствие других медикаментозных средств, устраняющих эту угрозу. К числу таких средств относятся прежде всего противоопухолевые препараты.

Иногда токсические последствия применения лекарства могут быть связаны с дефектом изучения его безопасности. Классическим примером является тератогенное действие талидомида, не выявленное на доклиническом этапе обследования препарата, и ставшее поводом большого числа человеческих трагедий. Количество лекарств, известных в настоящее время, огромно, многообразны эффекты, вызываемые ими. Раздел токсикологии, в рамках которого изучаются токсические эффекты, развивающиеся у людей, принимающих те или иные препараты, называется "лекарственная токсикология".

Столь же тщательную проверку на токсичность, как и лекарственные препараты, проходят косметические средства и пищевые добавки (пищевые красители, антиоксиданты, предотвращающие прогоркание жиров, консерванты, ароматические вещества, вкусовые добавки и т.д.). Острые отравления этими веществами практически не отмечаются. Однако у особо чувствительных лиц возможны неблагоприятные эффекты, связанные с сенсибилизацией организма, особенно при длительном воздействии.

2.4.4. Боевые отравляющие вещества (БОВ)

Мысль применить отравляющие газы для военных целей приписывают известному химику профессору Нернсту. Бурное развитие химической промышленности во второй половине века явилось материальной основой для реализации этой идеи. 22 апреля 1915 года с применения газообразного хлора войсками Германии началась эпоха использования современных средств массового уничтожения. В ходе Первой мировой войны было применено около 130 тысяч тонн высокотоксичных соединений примерно 40 наименований.

В годы 2-й Мировой войны химическое оружие применяли в крайне ограниченных масштабах. Тем не менее работы по созданию новых образцов ОВ не прекращались. В фашистской Германии, а позже и других странах, были созданы чрезвычайно токсичные фосфорорганические отравляющие вещества (ФОВ). В качестве БОВ в разное время испытывались такие вещества как хлор, фосген, дифосген, хлорпикрин, мышьяковистый водород, синильная кислота, хлорциан, хлорбензилиденмалодинитрил (CS), метиларсиндихлорид, 2-хлорвиниларсиндихлорид (люизит), дихлордиэтилсульфид (сернистый иприт), трихлортриэтиламин (азотистый иприт), изопропиловый эфир метилфторфосфоновой кислоты (зарин), этил S-2-диизопропил аминоэтил метилфосфонотиолат (VX) и многие, многие другие (рисунок 11).

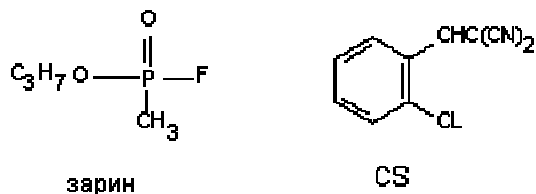


Рисунок 11. Структура некоторых боевых отравляющих веществ

В 1993 году была принята Парижская "Конвенция о запрещении применения, разработки и накопления химического оружия". В настоящее время конвенцию подписали более 150 государств. В соответствии с принятыми документами в ближайшие годы предполагается уничтожить запасы химического оружия на планете.

ГЛАВА 1.3. БИОСИСТЕМЫ - МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ ТОКСИКАНТОВ

1. Уровни организации биологических систем

Жизнь - высшая форма существования материи. Обычно выделяют следующие уровни её организации: молекулярный, молекулярных систем, субклеточный, клеточный, органный, целостного организма, популяционный, биогеоэкологический. Для токсиколога интерес представляет взаимодействие токсиканта с живыми системами на всех уровнях их организации.

Молекулярная организация живого чрезвычайно сложна. В состав организма входят молекулы различного строения. Это и простые вещества (кислород, азот, диоксид углерода, оксид азота, ионы натрия, кали, кальция, железа, магния, меди и т.д.), и соединения сложного состава (аминокислоты, олигосахариды, жирные кислоты, биологически активные гетероциклические соединения), и, наконец, чрезвычайно сложные (молекулы белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов) с молекулярной массой несколько сотен тысяч дальтон. **Теоретически любая молекула организма может стать мишенью для воздействия тех или иных токсикантов.** Однако поскольку значение разных классов и видов молекул для поддержания гомеостаза организма не одинаково, последствия этого воздействия различны.

Молекулярные системы состоят из нескольких молекул, изменяющих в процессе интеграции свои свойства и только в такой интегрированной форме выполняющих определенные функции в организме. Так, ни гем, ни глобин не в состоянии связывать и переносить кислород от легких к тканям. Гемоглобин, как молекулярная система, обладает этим свойством. Многие белковые молекулы проявляют ферментативную активность лишь в комплексе с более простыми молекулами, коферментами. **При токсическом повреждении элемента, страдает функция молекулярной системы в целом.**

В процессе ассоциации отдельных молекул и молекулярных систем образуются функциональные комплексы, цепи, сети. Характерными примерами такого рода организации являются цепи ферментов гликолиза, системы синтеза жирных кислот, биологического окисления и т.д. В свою очередь эти системы участвуют в формировании более сложных субклеточных комплексов: митохондрий, эндоплазматического ретикулума, ядра клетки и др. **Действие токсикантов на молекулярные системы может сопровождаться избирательным повреждением отдельных субклеточных комплексов.** В этой связи иногда выделяют группы митохондриальных, лизосомальных, цитоплазматических ядов, мембранотоксикантов, генотоксикантов и т.д.

Особо сложной формой организации материи является **клетка**. Она представляет собой в известной степени самостоятельную единицу жизни, т.е. обладает всеми свойствами живого организма. **Токсический процесс, развивающийся в многоклеточном организме, непременно связан со структурно-функциональными нарушениями клеток хотя бы одного типа.**

Клетки, объединенные в органы и ткани, приобретают способность к определенной корпоративной активности, основанной на специализации, протекающих в них процессов. В этой специализации причина избирательной чувствительности различных органов к отдельным токсикантам. Эволюция организмов сопровождается дифференциацией и специализацией отдельных тканевых элементов, их функциональной интеграцией. Происходит формирование систем органов (сердечно-сосудистая система, дыхательная система, нервная система, система крови, выделительная система, эндокринная система, иммунная система). Токсическое повреждение органа сказывается на функциональном состоянии всей системы. **Функционирование целостного организма не возможно при повреждении образующих его органов (легких, печени, почек, сердца и т.д.) и систем.**

Отдельные организмы, в свою очередь, составляют более сложные неформальные надорганизменные образования: популяции, консорциумы, биогеоценозы, в которых они взаимодействуют между собой и с окружающей средой, и только за счет этого единения получают возможность выживать, сохранять и преумножать свою численность. Этим образованиям, как и любому уровню организации живой материи, свойственны особый вид структуры, кооперации, координации. Для них характерны определенные закономерности и тенденции развития. **Любая надорганизменная биологическая система характеризуется высокой гетерогенностью чувствительности составляющих её индивидов к токсикантам.**

Таким образом, для живой материи характерна иерархия организации, строящаяся в соответствии с определёнными закономерностями, имеющими большое значение для понимания явления токсичности:

1. Каждая более высокая форма материи включает в себя элементы более низкого уровня. Поэтому повреждающее действие химических веществ на молекулярном уровне при определенных условиях отражается на состоянии биосистемы в целом.

2. С повышением уровня организации расширяется многообразие и сложность биологических систем. При этом существенно возрастают возможности их токсического повреждения ксенобиотиками, увеличивается разнообразие проявлений токсического процесса.

3. Каждая новая ступень организации живой материи приобретает качественно новые свойства. Токсическое действие веществ следует оценивать с учетом этих новых свойств, не ограничиваясь характеристикой эффектов, наблюдаемых на более низких ступенях организации живого.

4. Эволюция живой материи идет путем расширяющейся дифференциации и специализации составляющих биологическую систему элементов, с одновременным усилением их кооперации. Существует известная избирательность в действии токсикантов. Любая избирательность токсического действия носит условный характер. Повреждение элемента, так или иначе, сказывается на функциональном состоянии системы в целом.

5. Более высокие уровни организации материи предполагают усиление адаптивных возможностей, но требуют более совершенной системы координации составляющих её частей. В этой связи прослеживается закономерность: по мере усложнения организмов увеличивается число специфически действующих на них высоко токсичных соединений.

2. Термодинамика биосистем. Термодинамические аспекты токсичности

Материя существует в различных состояниях. С позиций классической термодинамики существование материи в форме живых организмов и даже единичных клеток маловероятно. Как известно, для частиц, являющихся элементами системы, находящейся в неравновесном состоянии, свойственно стремление распространяться и перераспределяться в соответствии с законом вероятности и к достижению, таким образом, равновесного состояния. При таком перераспределении энтропия (мера неупорядоченности) системы (S) возрастает, т. е. $dS/dt > 0$.

Клетки, или тем более, многоклеточные организмы, являются высокоорганизованными структурами, в сравнении с окружающей их средой, то есть представляют собой элемент системы с низкой энтропией. Поддержание структуры и функции живых существ, регенерация, рост, репродукция - все это процессы, проходящие с уменьшением энтропии. Таким образом, в живых системах имеет место иная тенденция: $dS_b/dt < 0$.

Это возможно лишь при условии открытости биологической системы, т.е. интенсивного обмена с окружающей средой веществом и энергией и, в частности, активного потребления элементов окружающей среды с низкой энтропией (углеводов, белков, жиров, других клеток и организмов). Эти элементы расщепляются на продукты с более высокой энтропией, и за счет высвобождающейся энергии организм в форме сопряженного процесса понижает свою собственную энтропию. При этом суммарная энтропия системы организм - окружающая среда увеличивается: $dS/dt = dS_b/dt + dS_m/dt > 0$, где dS_m - изменение энтропии потребленных веществ.

Таким образом развитие высокоорганизованных биологических структур есть процесс, в ходе которого понижается энтропия структуры за счет существенного её увеличения в сопряженных системах. Существование клеток и макроорганизмов связано с постоянным обменом материей и энергией с окружающей средой. Прекращение обмена означает смерть организма, гибель системы. **Любой токсикант, так или иначе, нарушает обменные процессы, делает организм (систему) более уязвимым с термодинамических позиций.**

3. Фундаментальные свойства живых систем.

Для всех уровней организации живых систем характерны свойства, отличающие живую материю от неживой. К числу основных, фундаментальных свойств живого относятся:

1. Потребление из окружающей среды и превращение питательных веществ (подсистем) с низкой энтропией (метаболизм). Это необходимо для поддержания структурной целостности биосистемы, её роста и размножения.

2. Обмен веществом и энергией с окружающей средой. Таким путем обеспечивается приток необходимых для жизнедеятельности структурных элементов живого, их превращение, утилизация, выделение продуктов с высокой энтропией и тепловой энергии.

3. Регуляция. Поддержание структурно-функциональной организации биологической системы требует упорядоченности течения обменных процессов. Для этого у высокоорганизованных организмов формируются специальные механизмы регуляции, модулирующие активность отдельных органов и систем, интенсивность протекающих в них процессов. Механизмы регуляции обеспечивают адаптацию системы к изменяющимся условиям среды.

4. Раздражимость и реактивность. Различные химические и физические факторы окружающей среды являются своеобразными сигналами или источниками информации, на которые живой организм реагирует в той или иной форме. Структуры, предназначенные для восприятия и переработки соответствующей информации, используют поступающее раздражение, что позволяет организму адекватно на него реагировать.

5. Репродукция. Это свойство обеспечивает поддержание или увеличение численности биологических объектов всех видов и типов. В основе репродукции лежит процесс клеточного деления. В ходе клеточного деления осуществляется перенос ДНК (генетического материала) материнских клеток к дочерним клеткам и за счет этого обеспечивается в последующем репродукция и всех остальных компонентов живого. Сохранение информации о свойствах предшествующих поколений, зашифрованных в молекулах ДНК (генах), передающихся из поколения в поколение - суть наследственности.

6. Изменчивость. В основе изменчивости лежит трансформация, преобразование генетического материала (генотипа), что проявляется изменением структурно-функциональных особенностей организма (фенотипа). В основе изменчивости лежат два явления: половое размножение и мутации. Половое размножение - это объединение генетического материала половых клеток родителей и образование оплодотворенной яйцеклетки, содержащей двойной набор хромосом. Соотношение генетического материала обоих родителей в дочерней клетке формируется случайным образом. Фенотипические особенности нового организма в этой связи не будут полностью повторять свойства отцовского или материнского организмов, то есть возникает новая, не существовавшая ранее биологическая конструкция.

Под мутацией понимают некое спонтанное или вызванное внешним воздействием изменение генетического материала, которое передается в ходе репродукции дочерним клеткам. Эти модификации фенотипически могут проявляться в различной степени: от практически незаметных изменений признаков, до очевидных, и иметь различные последствия для адаптивных свойств организма.

Фундаментальные свойства живого - тесно связанные, неотделимые друг от друга феномены. Тем не менее, **первичные эффекты высокотоксичных соединений порой связаны с избирательным нарушением отдельных фундаментальных свойств живого - метаболизма, пластического обмена, энергетического обмена, регуляции, раздражимости, репродукции.** Чем более токсично соединение, тем более выражена эта избирательность.

4. Степени свободы токсического воздействия

С усложнением организации биосистем формируются новые структуры, появляются новые функции, в результате увеличивается разнообразие способов их повреждения химическими веществами. Так, путем образования и совершенствования биологических мембран в процессе эволюции, происходит отграничение

формирующихся организмов от окружающей среды. На определенном этапе мембраны представляют собой новое качество, обеспечивающее структурную целостность зарождающейся жизни. Токсиканты, способные в силу особенностей химического строения избирательно взаимодействовать только с компонентами биологических мембран, не действуют на элементы живого, лишенные мембранных структур.

Высшие организмы, характеризующиеся большой массой и высокой степенью организации, имеют специальные анатомо-физиологические образования, обеспечивающие обмен веществом и энергией со средой (например, сердечно-сосудистая система, выделительная система и т.д.). Естественно, что вещество, избирательно взаимодействующее со структурно-морфологическими элементами этих систем, не будет оказывать токсического действия на организмы, лишенные их.

С увеличением сложности организации живого эволюционно формируются регуляторные системы и системы, обеспечивающие межклеточное взаимодействие в организме (нервная система, эндокринная система). Эти элементы живого организма также становятся мишенями избирательного воздействия ксенобиотиков. Однако, зрительные галлюцинации, под влиянием психодислептиков (ДЛК, псилоцин, пиперидилгликоляты и др.) могут возникнуть только у существа с высоко организованной нервной системой, развитым зрительным анализатором.

И так, суммируя сказанное: **по мере совершенствования организации живой материи возрастает многообразие её форм, появляются всё новые структурные элементы, вспомогательные системы, обеспечивающие жизнедеятельность; одновременно увеличивается количество способов, с помощью которых возможно повреждение биологических систем токсикантами; спектр веществ, способных оказывать неблагоприятное действие на организм высших животных и человека, значительно богаче, чем токсикантов, действующих на растения и примитивные одноклеточные и многоклеточные организмы.**

ГЛАВА 1.4. СВОЙСТВА ТОКСИКАНТА, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ТОКСИЧНОСТЬ

Токсичность разных веществ не одинакова. Поскольку она проявляется во взаимодействии ксенобиотика с биологической системой, её величина зависит от свойств как токсиканта, так и биосистемы и в конечном итоге определяется:

1. Способностью вещества достичь структуры-мишени, взаимодействие с которой инициирует токсический процесс;
2. Характером и прочностью связи, образующейся между токсикантом и структурой-мишенью;
3. Значением структуры-мишени для поддержания гомеостаза в организме.

Строение биологических систем, особенности их морфо-функциональной организации в значительной степени неизменны в масштабах исторически обозримого времени. В этой связи, поскольку вещество обладает вполне определенными свойствами, оно оказывает на организм (биологическую систему) воспроизводимый с известным постоянством эффект. Изменение свойств действующего фактора (воздействие другим веществом) будет сопровождаться качественными и/или количественными изменениями развивающихся эффектов. **Важнейшим принципом токсикологии является зависимость качественных и количественных характеристик развивающегося токсического процесса от строения действующего вещества.**

Строение вещества определяет размеры молекулы, её массу, растворимость, летучесть, агрегатное состояние при нормальных условиях и химическую активность. Все эти свойства влияют на токсичность вещества, вместе с тем, ни одно из них не является единственно значимым.

1. Размеры молекулы

Размеры молекулы токсиканта оказывают влияние на его биологическую активность в силу ряда причин:

а). С увеличением молекулярной массы затрудняется процесс поступления токсиканта в организм и распределения его в органах и тканях.

Низкомолекулярные, инертные в химическом отношении вещества в виде газа или в форме раствора, как правило, легко проникают в кровь через лёгкие, желудочно-кишечный тракт, иногда и кожу, быстро распределяются в тканях, проходя через гистогематические барьеры. Однако уже для низкомолекулярных соединений способность проникать через барьеры во многом определяется растворимостью. Гидрофильные молекулы даже с молекулярной массой 50 - 100 Д обладают ограниченной способностью проникать, например, через слизистые оболочки.

Для высокомолекулярных соединений процесс прохождения через барьерные структуры, как правило, затруднен. С другой стороны липофильные вещества, порой, не смотря на большие размеры молекул, относительно легко проходят через биологические барьеры. Большие молекулы веществ плохо растворимых в воде и липидах (искусственные и естественные полимеры) практически не проникают во внутренние среды организма и, следовательно, не обладают общетоксическим действием.

б). С увеличением молекулярной массы увеличивается число возможных изомерных форм молекулы токсиканта и, одновременно, возрастает специфичность их действия.

Поскольку структуры организма, вступающие во взаимодействие с токсикантом, в большинстве случаев имеют вполне определённую пространственную организацию, активность действующего вещества существенно зависит от его конформации. Чем больше молекула, тем отчетливее выступает эта зависимость. Так, низкомолекулярные предельные углеводороды и некоторые их производные действуют практически неспецифично, причем, как на одноклеточные, так и на сложно организованные многоклеточные организмы. Малые размеры этих молекул обуславливают ограниченное количество их изомерных форм, а следовательно увеличивают количество участков их неспецифического связывания в организме.

С увеличением размеров молекул веществ возрастает число токсикантов, имеющих одинаковую массу и близкое строение, но обладающих совершенно различной токсичностью. Так, из более чем 100 изомеров тетрахлор-пара-дибензодиоксина, высокой токсичностью обладает лишь один: 2,3,7,8-тетрахлор-пара-дибензодиоксин.

Для группы высокомолекулярных веществ (полимеры), однако, также достаточно характерно неспецифическое действие. Оно может быть обусловлено, например, модификацией коллоидно-осмотического давления крови.

в). С увеличением размеров молекулы возрастает вероятность взаимодействия токсикантов с биосубстратом за счет сил Ван-дер-Ваальса (см. ниже).

Чем больше размеры молекулы, тем большее число атомов токсиканта контактирует с участком его связывания, тем прочнее формирующаяся при этом связь. Поскольку большие молекулы обладают известной "гибкостью", это в ещё большей степени способствует "прижиманию" лиганда к рецептору, то есть увеличению его аффинности. В основном за счет сил Ван-дер-Ваальса нейромедиаторы, гормоны (и другие эндогенные биорегуляторы) взаимодействуют с рецепторным аппаратом клеток, органов, тканей. Однако силы эти, как правило, не велики и сразу после воздействия происходит диссоциация комплекса биорегулятор-рецептор. Отдельные токсиканты, напоминающие строением эндогенные биологически активные вещества, также вступают во взаимодействие с рецепторами, имитируя (агонисты) их эффекты. Такой механизм лежит в основе токсического действия многих алкалоидов (никотина, анабазина и др.), гликозидов, синтетических токсикантов и т.д. Если токсикант имеет существенно большие размеры, чем естественный агонист, то за счет сил Ван-дер-Ваальса осуществляется его прочная фиксация на рецепторе. Это приводит к экранированию рецепторов от действия агонистов, их блоку (антагонисты). Так действуют, например, атропин и курарин на, соответственно, М- и Н-холинорецепторы, ДЛК - на рецепторы серотонина, и т.д. Среди токсичных веществ значительно большее число является антагонистами соответствующих молекул-биорегуляторов.

2. Геометрия молекулы токсиканта

Химическая формула, как правило, несет недостаточно информации о свойствах вещества, в частности о геометрии молекулы. Вместе с тем изучение зависимости "строение - активность" в токсикологии возможно только с учетом представлений о пространственной организации молекул токсиканта.

Молекулы веществ могут быть ригидными и гибкими. Ригидные молекулы имеют постоянную пространственную организацию. Это прежде всего вещества, образованные циклическими радикалами, содержащие поливалентные мостиковые связи (алкалоиды, полигалогенированные дибензофураны, бенз(а)пирен и многие другие). Конформация "гибких" молекул, содержащих в структуре алифатические цепи, группы, соединенные простыми связями, всегда неопределенна, за счет постоянного изменения во времени взаиморасположения радикалов. Однако и у этих веществ порой можно выделить предпочтительную конформацию. Так, наиболее вероятна форма молекулы 1,2-дихлорэтана, при которой атомы хлора находятся в наибольшем удалении друг от друга (транс-изомер) (рисунок 1).

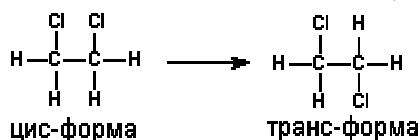


Рисунок 1. Цис- и транс-форма дихлорэтана

Большое количество химических веществ, отличающихся высокой токсичностью, существует в форме изомеров. Основные формы изомерии это: структурная, оптическая, геометрическая, таутомерия (проблема глубоко рассматривается в современных курсах "Общей химии").

У низкомолекулярных веществ, таких как дихлорэтан, различия пространственной организации изомеров незначительно сказываются на их биологической активности. Как уже указывалось, такие молекулы, по большей части, вызывают малоспецифичные эффекты: например, нарушение проницаемости возбудимых биологических мембран, образование ковалентных связей с молекулами белков, нуклеиновых кислот и т.д. Значительные различия наблюдаются при действии крупных молекул токсикантов, преимущественно взаимодействующих с определенным образом пространственно организованными специфическими рецепторами для эндогенных биорегуляторов. Так, если оценить размеры большинства известных нейромедиаторов, то выясняется, что молекулярная масса большинства из них лежит в интервале 160 - 190 Д. Молекулы ацетилхолина и адреналина состоят из 26 атомов, серотонина - 25, норадреналина - 23. Естественно ожидать, что и токсиканты, взаимодействующие с рецепторами этих нейромедиаторов, должны иметь близкие размеры и, следовательно, вполне определенную пространственную организацию. В этом случае роль изомерии в биологической активности веществ возрастает. Аналогичны рассуждения применительно к токсикантам - конкурентным ингибиторам многих ферментов (например, ингибиторам ацетилхолинэстеразы: фосфорорганическим соединениям и карбаматам). Основные закономерности, определяющие влияние изомерии на токсичность веществ состоят в следующем:

1. Чем специфичнее взаимодействие вещества и рецептора, тем отчетливее различия в действии изомеров. Поскольку токсичность в значительной степени определяется специфичностью взаимодействия токсиканта со структурами-мишенями, имеющими большое значение в поддержании гомеостаза в организме, можно утверждать, что чем выше токсичность вещества, тем существеннее различия биологической активности его изомеров.

2. Если асимметричный атом в молекуле токсиканта занимает ключевую позицию, определяющую во многом его эффект, то различия в действии изомеров, как правило, существенны. И напротив, если асимметричный атом находится в положении, не определяющем биологический эффект, то стереоизомеры обладают практически одинаковой токсичностью.

3. Чем жестче конформация рецептора, тем более выражены различия активности, действующих на него изомеров токсиканта. Так, структурная гибкость Н-холинорецепторов ганглионарных и нейромышечных синапсов выражена настолько, что стереоизомеры веществ, взаимодействующих с ними, обладают практически одинаковой активностью.

Различия в токсичности стереоизомеров могут быть связаны не только с особенностями их токсикодинамики, но и токсикокинетики (активный транспорт через мембраны, метаболизм). Так, алкалоид L-скополамин быстро разрушается эстеразой плазмы крови кролика на L-троповую кислоту и тропин (скопин), утрачивая биологическую активность. D-скополамин не разрушается энзимом и поэтому действует значительно дольше.

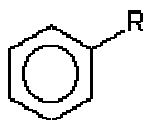
3. Физико-химические свойства вещества

Физико-химические свойства веществ существенным образом сказываются на их токсичности. Определяющими являются: растворимость в воде, растворимость в липидах, кислотно-основная природа токсиканта.

А. Растворимость в воде.

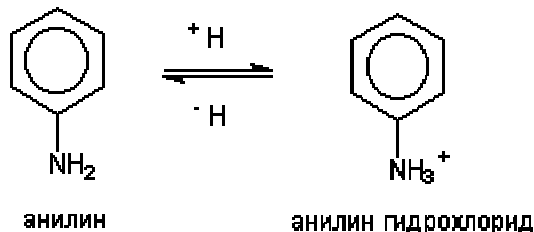
Растворимость токсиканта в воде - необходимое условие его резорбции во внутренние среды организма: *соггга non agunt nisi soluta* (что не растворяется, то не действует). Для того, чтобы достичь структуры-мишени токсикант также должен попасть в водную фазу, так как вода - основа межклеточной жидкости организма. Полярность молекулы воды требует и от токсиканта известной полярности. Поэтому растворимость вещества в воде зависит от наличия и количества в его молекуле полярных групп и их строения (таблица 1).

Таблица 1. Растворимость некоторых производных бензола в воде (г/100г; С30°)



R	-C ₂ H ₅	-J	-Br	-Cl	-CH ₃	-F	-NO ₂	-SO ₃ H
г/100г воды	не раств.	0,034	0,045	0,049	0,057	0,15	0,19	раств.

Некоторые вещества проявляют свойства кислот или оснований и, следовательно, могут находиться в растворе в протонированной или депротонированной форме. Это также сказывается на их растворимости (рисунок 2).



3,61 г/100 мл

107 г/100 мл

Рисунок 2. Растворимость анилина и его протонированного производного

Как видно из приведенного рисунка, наличие заряда в молекуле токсиканта существенно сказывается на его способности растворяться в воде, усиливая диполь-диполь взаимодействие растворителя и растворенного соединения.

Б. Растворимость в липидах.

Растворимость в липидах имеет основное значение для процессов проникновения и распределения больших молекул токсикантов в организме. Кроме того, чем выше растворимость вещества в липидах, тем хуже оно выводится из организма. Мерой жирорастворимости токсикантов является количество вещества, способное к растворению в единице объема жидких масел или органических растворителей. При анализе получаемых результатов следует иметь в виду, что в различных растворителях вещество растворяется по-разному. Так, растворимость амидопирина (г/100г; 37°С) в бензоле составляет 0,81; в топленом сале - 1,7; растительном масле - 2,0; смеси бензола и лецитина (1:1) - 12,6; хлороформе - 120,6.

Нерастворимые в жирах молекулы могут попасть в организм из окружающей среды лишь в том случае, если они проходят через поры биологических мембран, либо переносятся через барьеры с помощью специальных механизмов, например, пиноцитоза и т.д. (см. раздел "Токсикокинетика").

Большие, нерастворимые в липидах вещества, как правило, относятся к числу малотоксичных.

Жирорастворимость и водорастворимость - связанные между собой свойства. Чем полярнее молекула вещества, тем лучше она растворяется в воде и хуже - в липидах. Наибольшей биологической активностью, как правило, обладают токсиканты с промежуточной растворимостью. В этой связи важной для токсикологии характеристикой является коэффициент распределения вещества в средах: масло/вода или гептан/вода. Для некоторых веществ их биологическая активность пропорциональна величине этого коэффициента (таблица 2)

Таблица 2. Зависимость токсичности алифатических спиртов от их жирорастворимости и водорастворимости *.

Параметры	CH ₃ OH	C ₂ H ₅ OH	C ₃ H ₇ OH	C ₄ H ₉ OH	C ₅ H ₁₁ OH	C ₆ H ₁₃ OH	C ₈ H ₁₇ OH
ЛД ₅₀ в/в (мМ/кг) Мыши	177	53,7	18,2	5,09	2,09	1,01	0,53
Гемолиз эритроцитов кролика (М)	7,43	4,11	0,80	0,44	0,18	0,06	0,02
Угнетение активности каталазы на 50% (М)	3,6	3,47	2,36	1,95	1,33	-	-

* - жирорастворимость увеличивается с увеличением молекулярной массы спирта.

Четкую корреляцию можно проследить лишь в гомологичных рядах токсикантов, при этом оцениваемые эффекты, как правило, неспецифичны (денатурация энзима, нарушение свойств биологических мембран, наркоз, повреждение клетки, смерть).

Для специфического взаимодействия токсиканта со структурой-мишенью растворимость в воде или липидах имеет неупорядоченное значение.

В. Кислотно-основная природа токсиканта.

Многочисленные токсиканты являются слабыми кислотами или основаниями, то есть могут, в зависимости от рН среды, находиться в протонированной или депротонированной форме. Кислоты, находясь в протонированной форме - незаряженные молекулы, азотистые основания, напротив, представляют собой катионы. В депротонированной форме кислоты представляют собой анионы, а основания - не заряжены. Сила кислоты или основания определяется способностью к диссоциации, которая характеризуется величиной константы диссоциации (K_a или рK_a - отрицательный десятичный логарифм

значения K_a). Чем выше значение pK_a , тем легче осуществляется процесс протонирования вещества. Основания с высоким значением pK_a - более сильное основание; кислота с высоким pK_a - слабая кислота. Так, диметиламин (pK_a 10,7) - более сильное основание, чем N-метиланилин (pK_a 4,7); фенол (карболовая кислота pK_a 9,9) - более слабая кислота, чем бензойная кислота (pK_a 4,2). Соотношение ионизированной и неионизированной форм токсиканта в среде помимо величины pK_a , определяется pH среды. С увеличением pH увеличивается число незаряженных молекул оснований и заряженных анионов кислот.

Часто ионизация токсиканта сопровождается усилением его сродства к рецептору, однако одновременно затрудняется прохождение молекулы через биологические барьеры.

Сильные кислоты и щелочи (полностью диссоциирующие в водных растворах), при действии на ткани организма, резко изменяя pH, вызывают денатурацию макромолекул клеток. Этот процесс лежит в основе химического ожога покровных тканей.

4. Стабильность в среде

Биологическое действие токсиканта может оказывать лишь при условии его достаточной стабильности в окружающей среде и средах организма. Если вещество нестабильно, то развивающийся эффект связан с воздействием продуктов его превращения. Активные в химическом отношении вещества редко становятся непосредственными причинами общетоксического действия. Эти вещества, либо уже в окружающей среде вступают в химические реакции, превращаясь в более инертные, но относительно стабильные соединения, либо реагируют с покровными тканями организма (кожей, слизистыми), растрачивая свой химический потенциал на их алтерацию (местное действие).

После попадания в организм большая часть ксенобиотиков с различной скоростью подвергается биотрансформации. Так, при поступлении в желудочно-кишечный тракт пептиды и белковые молекулы (например, тетанотоксин) быстро инактивируются пептидазами и протеиназами. В процессе разрушения токсикантов различного строения участвует и кишечная флора. Метаболизм ксенобиотиков завершается в крови и тканях после их резорбции. Поэтому, порой, очень трудно решить, какое именно вещество является непосредственно действующим началом развивающегося токсического процесса.

5. Химические свойства.

Взаимодействие токсиканта с молекулами-мишенями организма подчиняется тем же закономерностям, что и любая другая химическая реакция, протекающая *ex vivo* и, следовательно, во многом зависит от его химических свойств.

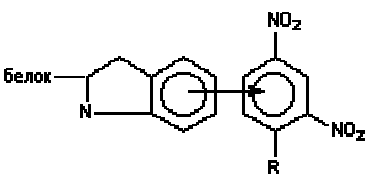
Большинство высоко токсичных соединений - инертные в химическом отношении молекулы. Сила межмолекулярного взаимодействия между токсикантом и биологической молекулой-мишенью действует, как правило, локально; образующаяся связь способна к диссоциации. Высвободившаяся из связи с токсикантом биомишень восстанавливает исходные свойства. В подобных случаях достаточно элиминировать не связавшуюся часть токсиканта из организма для того, чтобы сдвинуть химическое равновесие в сторону разрушения комплекса токсикант-мишень, и, тем самым, устранить действие яда.

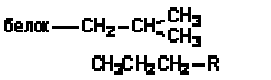
Иногда между токсикантом и молекулой-мишенью образуются прочные связи. В этих случаях разрушить комплекс токсикант-биомишень порой возможно только с помощью других средств, образующих с ядом еще более прочные комплексы. В частности, для восстановления активности ацетилхолинэстеразы, ингибированной фосфорорганическими соединениями (ФОС), применяют вещества из группы оксимов, вступающие во взаимодействие с токсикантами и вызывающие тем самым дефосфорилирование активного центра энзима.

5.1. Типы химических связей, образующихся между токсикантами и молекулами-мишенями организма

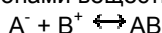
При взаимодействии токсиканта с биологическими структурами-мишенями могут образовываться различные типы химических связей (таблица 3).

Таблица 3. различные типы связей, формирующихся между токсикантами и молекулами-мишенями организма

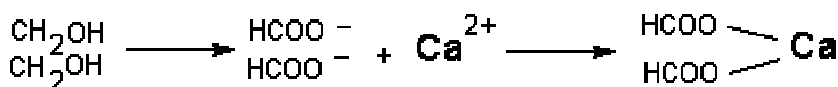
Вид связи	Пример	Энергия связи (кДж/мол)
Ионная	белок— $\text{NH}_3^+ \cdots \cdots \text{OOC}^- \text{R}$	20
Ковалентная	белок— $\text{S}-\text{Hg}-\text{R}$ белок— $\text{O}-\text{P}(\text{R})_2$ 	40 - 600
Донорно-акцепторная	белок— 	4 - 20
Ион-дипольная	белок— $\text{NH}_3^+ \cdots \cdots \text{O}^- \cdots \text{H}^+$	8 - 20
Диполь-дипольная	белок— $\text{O}^- \cdots \cdots \text{C}^+ \text{NH}_2$ 	4 - 12

Водородная		4 - 28
Ван-дер-Ваальса		1 - 4
Гидрофобная		1 - 6

Ионная связь. В водных растворах многие вещества диссоциируют с образованием ионов. Между положительно и отрицательно заряженными ионами токсиканта и эндогенными ионами-мишенями начинают действовать силы электростатического притяжения. Вследствие притяжения возникает химическая связь. Связь такого типа называется электровалентной или ионной. Образованные катионами и анионами вещества не несут электрического заряда.



Токсические последствия подобного взаимодействия в организме развиваются в случае образования не растворимого в воде комплекса иона-токсиканта с биологически значимым ионом-мишенью. Например, при интоксикации фторидами, ион фтора может вступать во взаимодействие с ионом кальция. В итоге образуется нерастворимый фторид кальция. Развивающаяся гипокальциемия имеет определенное значение для развития и проявления интоксикации. Аналогичным образом действует щавелевая кислота, образуемая в организме в процессе метаболизма этиленгликоля при интоксикации последним:



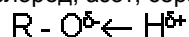
Поскольку степень диссоциации многих веществ в водном растворе существенно зависит от pH среды, количество образовавшихся за счет ионной связи комплексов токсикант-мишень также зависит от этого показателя.

Ковалентная связь. Для образования ковалентной связи, взаимодействующие атомы должны иметь на внешней электронной орбите неспаренные электроны. Эти электроны занимают одну и ту же орбиталь, а образовавшаяся общая пара формирует силу притяжения между атомами. В результате образования такой общей пары электронов каждый из взаимодействующих атомов приобретает "завершенный набор" электронов и образовавшееся соединение становится стабильным. Энергия ковалентной связи велика и составляет 200 - 400 кДж/мол

Высокая стабильность связи этого типа означает практически необратимый характер присоединения токсиканта к структуре-мишени. Примерами веществ, образующих с биомолекулами подобную связь, являются ФОС (взаимодействуют с серином, входящим в структуру активного центра ацетилхолинэстеразы), иприты (взаимодействуют с пуриновыми основаниями нуклеиновых кислот), а также целый ряд других распространенных токсикантов (метилбромид, метилхлорид, этиленоксид и др.). Вследствие прочности образовавшейся связи, разрушение комплекса токсикант-биомишень возможно только с помощью специальных средств (например, реактиваторов ХЭ при интоксикации ФОС). Восполнение содержания поврежденной токсикантом биологической структуры возможно также за счет синтеза её de novo. Так, восстановление активности АХЭ в тканях лабораторных животных отравленных зоманом проходит со скоростью синтеза энзима нервными клетками.

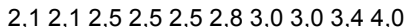
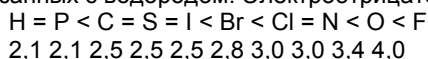
Координационная связь - это ковалентная связь, в которой обобществленную пару электронов предоставляет только один из участвующих в связи атомов. Один из атомов является донором, а другой акцептором электронной пары, поэтому эту связь называют также донорно-акцепторной. Акцепторами часто являются катионы металлов, или атомы переходных металлов (Zn, Cu, Fe), входящих в состав молекулы. Таким образом, в частности, оксид углерода взаимодействует с железом гемоглобина, с образованием карбоксигемоглобина.

Водородная связь. Ковалентная связь между атомом водорода и электроотрицательным атомом (кислород, азот, сера и т.д.) более или менее поляризована



Вследствие этого атом водорода приобретает незначительный положительный заряд. Если вблизи такого атома находится молекула или группа, содержащая анион или электроотрицательный атом, между ними образуется слабая связь, называемая водородной.

Водородная связь может образовываться как между молекулами, так и между атомами внутри молекул. Энергия связи не велика и в водном растворе составляет около 20 кДж/мол. Её прочность во многом зависит от строения взаимодействующих веществ, в частности, от степени электроотрицательности атомов, связанных с водородом. Электроотрицательность атомов возрастает в ряду:



Водородные связи имеют очень большое значение для поддержания пространственной структуры белков, нуклеиновых кислот и других высокомолекулярных соединений. Вещества, способные разрушать водородную связь, могут нарушать пространственную структуру макромолекул (явление интеркаляции: встраивание молекул акридина, этидиумбромиды между плоскостями, образуемыми витками спирали молекулы ДНК).

В состав молекул токсикантов также входят группы, способные участвовать в образовании водородных связей. Если эти группы (X-H) являются структурными элементами "активного" радикала токсиканта, то они участвуют в образовании сложной связи вещества с молекулой-мишенью. Поскольку водородные связи являются по сути электростатическими, их сила ослабевает в присутствии веществ, обладающих свойствами диэлектриков ("неэлектролитов").

Связи Ван-дер-Ваальса. Форма электронного облака молекул квазистабильна, то есть не изменяется до тех пор, пока на неё не действуют внешние силы. Под влиянием электромагнитных полей электронные облака молекул деформируются. При этом безразлично вызвано ли появление деформирующих сил воздействием внешних полей или поле сформировано близлежащими ионами, диполями, аполярными молекулами. Степень деформированности электронного облака зависит от энергетических характеристик воздействующих полей и поляризуемости самой молекулы. Способность электронного облака к деформации (поляризуемость) зависит от размеров молекулы. У больших молекул она больше, чем у малых, поскольку сместить электроны, находящиеся на значительном удалении от ядра атома, легче.

Деформирующее воздействие полей превращает неполярные молекулы в диполи, так как центры максимальной плотности положительного и отрицательного зарядов молекулы несколько разъединяются в пространстве. Сформировавшийся диполь называют индуцированным или временным, поскольку он перестает существовать сразу после прекращения действия деформирующих сил. Две близлежащие неполярные молекулы могут взаимно индуцировать образование временных диполей и, таким образом взаимодействовать друг с другом. Силы взаимодействия, формирующиеся между временными диполями, называются силами Лондона - Ван-дер-Ваальса. Энергия образующейся связи мала, однако она существенно возрастает при увеличении числа участков контакта между взаимодействующими молекулами. Со стороны токсиканта это могут быть ароматические, гетероциклические, алкильные радикалы; со стороны рецептора - неполярные участки молекул аминокислот (лейцин, валин, аланин, пролин и др.). Вклад каждой $-CH_2-$ группы алкильной цепи во взаимодействие оценивается в 2 - 4 кДж/мол. При тесном контакте больших неполярных молекул энергия связи может достичь очень больших величин. Поэтому при образовании комплекса токсикант-биомишень силы Ван-дер-Ваальса могут обеспечивать очень прочную фиксацию ксенобиотика. Действующая сила, ответственная за формирование связи, обратно пропорциональна седьмой степени расстояния между взаимодействующими молекулами. Поэтому она не может обеспечить притяжение молекул токсиканта, свободно циркулирующих в биосредах, к рецептору. В этом процессе первостепенную роль играют силы электростатического взаимодействия. Однако после того как контакт между токсикантом и рецептором осуществился силы Ван-дер-Ваальса обеспечивают его ориентацию и плотную фиксацию.

Гидрофобное взаимодействие. Гидрофобные связи формируются в водной среде, когда молекулы взаимодействующих веществ контактируют друг с другом неполярными (гидрофобными) участками. В отличие от взаимодействия Ван-дер-Ваальса и донорно-акцепторного взаимодействия, которые также формируются при взаимодействии неполярных групп, образование гидрофобных связей обусловлено свойствами воды, без участия которой взаимодействие происходить не может. В соответствии с теорией, молекулы воды связаны друг с другом водородными связями, образуя трехмерную структуру (кластер), напоминающую структуру льда. На границе поверхности, разделяющей неполярную молекулу и молекулы воды, образование такой структуры затрудняется. При контакте двух неполярных молекул, растворенных в воде, общая площадь поверхности, разделяющей воду и эти молекулы уменьшается. Вследствие этого, мобилизуется часть молекул воды, организованных в кластер. В противоположность всем другим химическим связям и взаимодействиям гидрофобная связь, таким образом, обусловлена преобразованием растворителя (воды), а не растворенных взаимодействующих веществ. Движущей силой образования связи является рост энтропии целостной системы растворитель - растворенные молекулы. Структурная организация гидрофобных, взаимодействующих молекул возрастает (уменьшение энтропии), но при этом существенно дезорганизуется (энтропия возрастает) структура растворителя (воды).

Гидрофобные связи имеют большое значение при взаимодействии неполярных молекул ксенобиотиков с клеточными и внутриклеточными мембранами, для образования их комплексов с белками, при этом возможно нарушение конформации макромолекул.

В процессе взаимодействия низкомолекулярного вещества с биомишенью практически всегда формируется несколько типов связей (рисунок 3), поскольку молекула токсиканта, как правило, включает полярный (иногда даже ионизированный), и неполярный фрагменты.

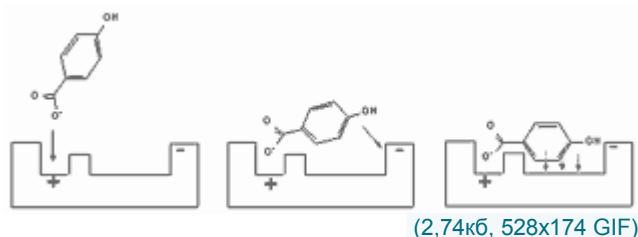


Рисунок 3. Этапы взаимодействия молекулы токсиканта с биомишенью

Ионные связи, за счет которых осуществляется притяжение молекулы к биомишени, мало специфичны (аналогично ион-дипольному и диполь-дипольному взаимодействию). Взаимодействие между неполярными группами также неспецифично. Однако, если в структуре мишени (например, рецепторе для эндогенных биорегуляторов) полярные и неполярные группы пространственно организованы, между этими участками и особыми участками молекулы токсиканта образуются специфичные связи, обусловленные пространственной организацией молекулы токсиканта. Такое взаимодействие можно сравнить с ориентацией намагниченных стрелок в магнитном поле. После ориентации молекулы с помощью ионного (диполь-дипольного) взаимодействия между ней и рецептором формируется тесный контакт, и образуются связи за счет водородных сил и сил Ван-дер-Ваальса. Образующийся комплекс тем более прочен, чем более комплементарна молекула токсиканта рецептору.

РАЗДЕЛ 2. ТОКСИКОДИНАМИКА

ГЛАВА 2.1. МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Взаимодействие токсиканта или продуктов его превращения в организме со структурными элементами биосистем, лежащее в основе развивающегося токсического процесса, называется механизмом токсического действия. Взаимодействие осуществляется за счет физико-химических и химических реакций.

Токсический процесс, инициируемый физико-химическими реакциями, как правило, обусловлен растворением токсиканта в определенных средах (водной или липидной) клеток и тканей организма. При этом существенно изменяются физико-химические свойства среды-растворителя (рН, вязкость, электропроводность, сила межмолекулярных взаимодействий и т.д.). Особенность данного типа взаимодействия - отсутствие строгой зависимости качества развивающегося эффекта от химических свойств молекулы токсиканта. Таким образом, действуют на ткани все кислоты, щелочи, сильные окислители, некоторые органические растворители и лишенные специфической активности высокомолекулярные соединения.

Чаще в основе токсического действия лежат химические реакции токсиканта с определенным структурным элементом живой системы. **Структурный компонент биологической системы, с которым вступает в химическое взаимодействие токсикант, называется его "рецептором" или "мишенью".**

Механизмы токсического действия подавляющего большинства химических веществ в настоящее время неизвестны. В этой связи, очень многие описываемые ниже классы молекул и молекулярных комплексов, образующих организм, рассматриваются, по большей части, лишь как вероятные рецепторы (мишени) действия ядов. Рассмотрение их в этом ракурсе правомочно, поскольку в основе действия некоторых хорошо изученных токсикантов лежит взаимодействие с представителями именно этих классов биомолекул.

1. Определение понятия "рецептор" в токсикологии

Понятие "рецептор" весьма емкое. Наиболее часто в биологии его используют в следующих смыслах:

1. Общее понятие. Рецепторы - это участки относительно специфического связывания на биосубстрате ксенобиотиков (или эндогенных молекул), при условии, что процесс связывания подчиняется закону действующих масс. В качестве рецепторов могут выступать целые молекулы белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов или их фрагменты. В отношении фрагмента биомолекулы, которая непосредственно участвует в образовании комплекса с химическим веществом, часто используют термин - "рецепторная область". Например, рецептором оксида углерода в организме является молекула гемоглобина, а рецепторной областью - ион двухвалентного железа, заключенный в порфириновое кольцо гема.

2. Селективные рецепторы. По мере эволюционного усложнения организмов формируются специальные молекулярные комплексы - элементы биологических систем, обладающие высоким сродством к отдельным химическим веществам, выполняющим функции биорегуляторов (гормоны, нейромедиаторы и т.д.). Участки биологических систем, обладающие наивысшим сродством к отдельным специальным биорегуляторам, получили название "селективные рецепторы". Вещества, взаимодействующие с селективными рецепторами в соответствии с законом действующих масс, называются лигандами селективных рецепторов. Взаимодействие эндогенных лигандов с селективными рецепторами имеет особое значение для поддержания гомеостаза.

Многие селективные рецепторы состоят из нескольких субъединиц, из которых лишь часть имеет участки связывания лигандов. Нередко термин "рецептор" используют для обозначения только таких лиганд-связывающих субъединиц.

3. Постоянные рецепторы - это селективные рецепторы, строение и свойства которых кодируется с помощью специальных генов или постоянных генных комплексов. На уровне фенотипа изменение рецептора путем генной рекомбинации развивается чрезвычайно редко. Возникающие порою в ходе эволюции вследствие полигенетических трансформаций изменения аминокислотного состава белка, формирующего селективный рецептор, как правило, слабо сказываются на функциональных характеристиках последнего, его сродстве к эндогенным лигандам и ксенобиотикам.

К числу постоянных рецепторов относятся:

- рецепторы нейромедиаторов и гормонов. Как и другие селективные рецепторы, эти рецепторы способны избирательно взаимодействовать и с некоторыми ксенобиотиками (лекарствами, токсикантами). Ксенобиотики могут при этом выступать как в качестве агонистов, так и антагонистов эндогенных лигандов. В итоге активируется или подавляется некая биологическая функция, находящаяся под контролем данного рецепторного аппарата;

- энзимы - белковые структуры, селективно взаимодействующие с субстратами, превращение которых они катализируют. Энзимы также могут взаимодействовать с чужеродными веществами, которые в этом случае становятся либо ингибиторами, либо аллостерическими регуляторами их активности;

- транспортные протеины - избирательно связывают эндогенные лиганды определенного строения, осуществляя их депонирование или перенос через различные биологические барьеры. Токсиканты, взаимодействующие с транспортными протеинами, также выступают либо в качестве их ингибиторов, либо аллостерических регуляторов.

4. Рецепторы с изменяющейся структурой. В основном это антитела и антигенсвязывающие рецепторы Т-лимфоцитов. Рецепторы данного типа формируются в клетках предшественниках зрелых клеточных форм вследствие индуцированной внешними воздействиями рекомбинации 2 - 5 генов, контролирующей их синтез. Если рекомбинация осуществилась в процессе дифференциации клеток, то в зрелых элементах будут синтезироваться рецепторы только определенного строения. Таким способом формируются селективные рецепторы к конкретным лигандам, а пролиферация приводит к появлению целого клона клеток, содержащих эти рецепторы.

Как следует из приведенных определений, в биологии термин "рецептор" в основном используется для обозначения структур, принимающих непосредственное участие в восприятии и передаче биологических сигналов, и способных избирательно связывать помимо эндогенных лигандов (нейромедиаторов, гормонов, субстратов) некоторые чужеродные соединения.

В токсикологии (как и фармакологии) термином "рецептор" обозначают любой структурный элемент живой (биологической) системы, с которым вступает в химическое взаимодействие токсикант (лекарство). В таком прочтении это понятие ввел в химеобиологию в начале XX века Пауль Эрлих (1913).

Спектр энергетических характеристик рецептор-лигандного взаимодействия необыкновенно широк: от формирования слабых, легко разрушающихся связей, до образования необратимых комплексов (см. выше). Характер взаимодействия и структура сформировавшегося комплекса зависят не только от строения токсиканта, конформации рецептора, но и от свойств среды: pH, ионной силы и т.д. В соответствии с законом действующих масс, количество образовавшихся комплексов вещество-рецептор определяется энергией взаимодействия (сродством) и содержанием обоих компонентов реакции (вещества и рецептора к нему) в биологической системе.

Рецепторы могут быть "немыми" и активными. "Немой" рецептор - структурный компонент биологической системы, взаимодействие которого с веществом не приводит к формированию ответной реакции (например, связывание мышьяка белками, входящими в состав волос, ногтей). **Активный рецептор - структурный компонент биологической системы, взаимодействие которого с токсикантом инициирует токсический процесс.** Для того, чтобы избежать терминологических трудностей, для обозначения структурных элементов, взаимодействуя с которыми токсикант инициирует токсический процесс, вместо термина "рецептор", часто используют термин "структура-мишень".

Принимаются постулаты:

- токсическое действие вещества выражено тем сильнее, чем большее количество активных рецепторов (структур-мишеней) вступило во взаимодействие с токсикантом;

- токсичность вещества тем выше, чем меньше его количество связывается с "немыми" рецепторами, чем эффективнее оно действует на активный рецептор (структуру-мишень), чем большее значение имеет рецептор и повреждаемая биологическая система для поддержания гомеостаза целостного организма.

Любая клетка, ткань, орган содержат огромное количество потенциальных рецепторов различных типов ("запускающих" различные биологические реакции), с которыми могут вступить во взаимодействие лиганды. С учетом вышесказанного, связывание лиганда (как эндогенного вещества, так и ксенобиотика) на рецепторе данного типа является избирательным лишь в определенном диапазоне концентраций. **Увеличение концентрации лиганда в биосистеме приводит к расширению спектра типов рецепторов, с которыми он вступает во взаимодействие, а следовательно, изменению его биологической активности.** Это также одно из фундаментальных положений токсикологии, доказанное многочисленными наблюдениями.

Мишенями (рецепторами) для токсического воздействия могут быть:

- структурные элементы межклеточного пространства;
- структурные элементы клеток организма;
- структурные элементы систем регуляции клеточной активности.

2. Действие токсиканта на элементы межклеточного пространства

Каждая клетка организма окружена водной средой - интерстициальной или межклеточной жидкостью. Для клеток крови межклеточной жидкостью является плазма крови. Основные свойства межклеточной жидкости: её электролитный состав и определенное осмотическое давление. Электролитный состав определяется главным образом содержанием ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- и др.; осмотическое давление - присутствием белков, других анионов и катионов. Межклеточная жидкость содержит многочисленные субстраты для клеточного обмена, продукты метаболизма клеток, молекулы-регуляторы клеточной активности.

Попав в межклеточную жидкость, токсикант может изменять её физико-химические свойства, вступать в химическое взаимодействие с её структурными элементами. Изменение свойств межклеточной жидкости немедленно приводит к реакции со стороны клеток. Возможны следующие механизмы токсического действия, обусловленные взаимодействием токсиканта с компонентами межклеточной жидкости:

1. Электролитные эффекты. Нарушение электролитного состава наблюдается при отравлении веществами, способными связывать ионы. Так, при интоксикациях фторидами (F^-), некоторыми комплексообразователями ($\text{Na}_2\text{ЭДТА}$, ДТПА и др.), другими токсикантами (этиленгликолем, метаболизирующим с образованием щавелевой кислоты), происходит связывание ионов кальция в крови и межклеточной жидкости, развивается острая гипокальциемия, сопровождающаяся нарушениями нервной деятельности, мышечного тонуса, свертывающей системы крови и т.д. Нарушение ионного баланса, в ряде случаев, может быть устранено введением в организм растворов электролитов.

2. pH-эффекты. Интоксикация рядом веществ, не смотря на высокую буферную емкость межклеточной жидкости, может сопровождаться существенным нарушением кислотно-основных свойств внутренней среды организма. Так, отравление метанолом приводит к накоплению в организме муравьиной кислоты, вызывающей тяжелый ацидоз. Изменение pH интерстициальной жидкости может быть также следствием вторичных токсических эффектов и развиваться вследствие нарушения процессов биоэнергетики, гемодинамики (метаболический ацидоз/алкалоз), внешнего дыхания (газовый ацидоз/алкалоз). В тяжелых случаях нормализовать pH можно, вводя пострадавшему буферные растворы.

3. Связывание и инактивация структурных элементов межклеточной жидкости и плазмы крови. В плазме крови содержатся структурные элементы, обладающие высокой биологической активностью, способные стать мишенью действия токсикантов. К их числу относятся, например, факторы свертывающей системы крови, гидролитические ферменты (эстеразы), разрушающие ксенобиотики и т.д. Следствием

такого действия может стать не только интоксикация, но и аллобиоз. Например, угнетение активности три-окрезилфосфатом (ТОКФ) карбоксилэстераз плазмы крови, разрушающих фосфорорганические соединения (ФОС), приводит к существенному повышению токсичности последних.

4. Нарушение осмотического давления. Существенные нарушения осмотического давления крови и интерстициальной жидкости при интоксикациях, как правило, носят вторичный характер (нарушение функций печени, почек, токсический отек легких). Развивающийся эффект пагубным образом сказывается на функциональном состоянии клеток, органов и тканей всего организма.

3. Действие токсикантов на структурные элементы клеток

Структурными элементами клеток, с которыми взаимодействуют токсиканты, как правило, являются:

- белки;
- нуклеиновые кислоты;
- липидные элементы биомембран;
- селективные рецепторы эндогенных биорегуляторов (гормонов, нейромедиаторов и т.д.).

3.1. Взаимодействие токсикантов с белками.

Основные функции белков: транспортная, структурная, энзиматическая (белки - биологические катализаторы). Токсический эффект может развиваться при нарушении каждой из этих функций.

Нарушение свойств белков химическим веществом возможно различными способами, зависящими как от структуры токсиканта, так и от строения и функций белка. Возможны: денатурация белка, блокада его активных центров, связывание активаторов и молекул, стабилизирующих протеин, и т.д.

К числу веществ, денатурирующих белки, относятся крепкие щелочи, кислоты, окислители, ионы тяжелых металлов. В основе денатурации лежит повреждение внутрибелковых связей, поддерживающих вторичную, третичную структуру протеина. При этом наиболее часто токсиканты взаимодействуют с COOH-, NH-, OH-, SH-группами аминокислот, образующих белки. Многочисленные токсиканты, связывающиеся с SH-группами, называются тиоловыми ядами. К числу тиоловых ядов прежде всего следует отнести тяжелые металлы, такие как ртуть, мышьяк, сурьма, таллий, органические соединения этих металлов (метилртуть, люизит и т.д.). Другие металлы более активно взаимодействуют с карбоксильными группами (свинец, кадмий, никель, медь, марганец, кобальт).

Особое значение в токсикологии придают действию ксенобиотиков на энзимы.

3.1.1. Энзимы

Роль энзимов в обеспечении процессов жизнедеятельности огромна. Неудивительно, что вещества, модулирующие их активность, обладают высокой биологической активностью, порой являются высокотоксичными веществами.

Энзимы - это белки, выполняющие функции биологических катализаторов. Они ускоряют достижение состояния равновесия обратимых экзергических реакций, типа: $AB \rightleftharpoons A + B$, путем снижения энергии активации субстратов. Высокая энергия активации многих экзергических реакций препятствует их протеканию в условиях температурного режима организма. Примером таковых является расщепление перекиси водорода. *in vitro* предварительное нагревание увеличивает кинетическую энергию молекул H_2O_2 , что и инициирует процесс, который, будучи экзотермическим, в дальнейшем сам поддерживает свое течение. В условиях организма связывание перекиси водорода энзимом пероксидазой приводит к снижению энергии активации, что обеспечивает прохождение реакции в условиях температуры тела.

Скорость каталитических превращений веществ в организме определяется специфической активностью энзимов, их содержанием в клетках и тканях, наличием субстратов и регуляторов активности в среде. При нормальных условиях интенсивность процессов поддерживается на определенном уровне. Регуляция осуществляется различными механизмами, среди которых основные - модуляция количества энзимов, их специфической активности, изменение биодоступности субстратов и т.д. Основные пути регуляции ферментативных процессов представлены на рисунке 1.

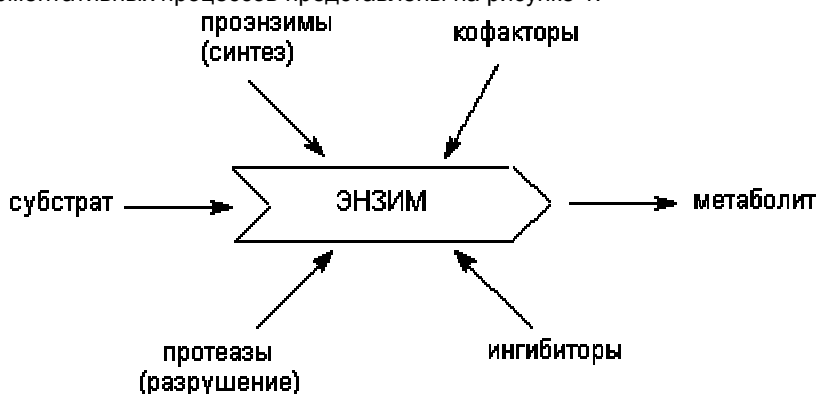


Рисунок 1. Пути регуляции ферментативных процессов

Возможные механизмы модуляции активности энзимов химическими веществами представлены в таблице 1.

Таблица 1. Механизмы изменения каталитической активности энзимов в условиях действия токсикантов

Усиление каталитической активности

- усиление синтеза энзимов
- блокада разрушения энзимов
- активация энзимов

Угнетение каталитической активности

- угнетение синтеза энзимов
 - ускорение разрушения энзимов
 - угнетение специфической активности
- Изменение конформации энзимов*

3.1.1.1. Усиление каталитической активности

Усиление синтеза энзимов может быть вызвано поступлением в организм токсикантов-индукторов.

Физиологическими индукторами синтеза энзимов являются многие субстраты и вещества, повышающие содержание коэнзимов в биосредах. Некоторые гормоны выступают в качестве индукторов синтеза белка. Так, триидотиронин у тиреоэктомизированных крыс существенно увеличивает содержание глюкозо-6-фосфатазы и НАДН-цитохром-с-редуктазы в микросомах печени. Стероидные гормоны - активные индукторы синтеза ферментов, например, триптофанпирролазы и др.

Особое значение для токсикологии имеет явление индукции энзимов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков.

К числу индукторов относятся барбитураты, циклические углеводороды, полигалогенированные полициклические углеводороды и многие другие. Токсичность такого известного токсиканта, как 2,3,7,8-тетрахлорпарадибензодиоксин (диоксин, ТХДД) в настоящее время связывают именно со способностью вызывать индукцию синтеза ферментов. Среди индукторов многие - канцерогены. Например, 3,4-бенз(а)пирен, 5-метилхолантрен.

Активность энзима зависит от наличия в биосредах кофакторов или простетических групп. Функции кофакторов выполняют различные витамины и ионы металлов. Их поступление в организм необходимо, однако передозировка сопровождается интоксикацией. Особенно опасно перенасыщение организма жирорастворимыми витаминами (А, Д). Стойкое повышение содержания ионов кальция в цитоплазме клеток, отмечаемое при интоксикациях некоторыми веществами, сопровождается чрезмерной активацией ряда ферментов (см. ниже).

Существенное влияние на активность ферментов оказывают вещества, блокирующие процессы их разрушения. Все белковые молекулы в организме имеют определенное время жизни. Процессы непрерывающегося синтеза уравновешиваются столь же постоянным разрушением белка. Период полусуществования молекул энзимов колеблется в широких пределах. Например, для альдолазы мышечной ткани крыс он составляет около 20 дней, для каталазы - 1 день, для триптофанпирролазы печени - 2 часа. В процессе разрушения энзимов принимают участие протеазы и эндопептидазы. Разрушение короткоживущих белков осуществляется также энзимами аппарата Гольджи. Ингибиторами разрушения энзимов (и других белков) являются ингибиторы протеаз/пептидаз. К их числу, относятся некоторые карбамилфосфаты и др.

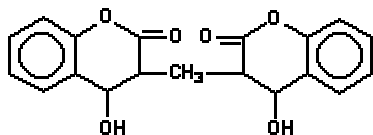
Разрушение SH-содержащих энзимов иногда начинается с окисления этих групп. Ксенобиотики с высоким восстановительным потенциалом, защищая сульфгидрильные группы, могут предотвращать разрушение энзимов. Эти эффекты также могут лежать в основе токсического процесса.

Особую роль в токсикологии играют механизмы активации лизосомальных ферментов, вызывающих, при выходе в цитоплазму, аутолиз клеток. Посредством такого механизма действуют на организм многочисленные вещества, например, иприты, CCl_4 , и т.д.

3.1.1.2. Угнетение каталитической активности

Снижение активности энзимов при действии токсикантов может быть следствием трех эффектов: подавления процессов синтеза апофермента и кофакторов, активации разрушения, угнетения специфической активности.

К числу наиболее распространенных кофакторов, помимо металлов, относятся железопорфирины, флавины, никотинамид-адениндинуклеотид (НАД), пиридоксальфосфат, тиаминпирофосфат и др. Отчасти эти вещества синтезируются в организме животных и человека, отчасти попадают с пищей в форме витаминов. Некоторые вещества являются конкурентами кофакторов энзимов. Так, дикумарол конкурентно препятствует утилизации печенью витамина К, необходимого для синтеза протромбина, поэтому через 24 - 96 ч после поступления вещества в организм в токсических дозах возможно развитие кровотечений угрожающих жизни.



дикумарол

Некоторые токсиканты нарушают образование коферментов, предшественники которых поступают в организм с пищей. Так, гидразин и его производные, взаимодействуя с пиридоксалем, содержащимся в клетках, образуют пиридоксальгидразоны (рисунки 2), которые, в свою очередь, угнетают активность пиридоксалькиназы и блокируют тем самым синтез в организме пиридоксальфосфата. В итоге понижается активность большого числа энзимов, кофактором которых является пиридоксальфосфат (декарбоксилазы, трансминазы и т.д.).

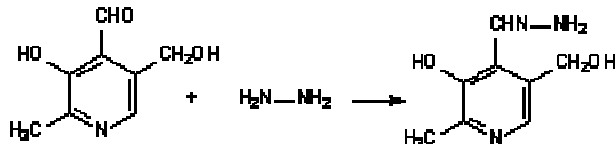


Рисунок 2. Взаимодействие гидразина с пиридоксалем с образованием пиридоксальгидразона

К числу полностью синтезируемых в организме кофакторов относятся железопорфирины. Блокада их синтеза приводит к тяжелым последствиям. Так, хроническое отравление свинцом сопровождается нарушением синтеза гема, вследствие чего развивается дефицит гемопротеинов (гемоглобина, миоглобина, гем-содержащих энзимов).

Активация процесса разрушения энзимов токсикантами, как механизм их токсического действия, встречается редко. Катаболизм некоторых энзимов усиливается на фоне хронической интоксикации стероидными препаратами и их аналогами.

Наиболее часто в основе интоксикации лежит угнетение токсикантом специфической активности энзимов. Выделяют следующие механизмы ингибиторного действия ксенобиотиков:

1. Конкурентное ингибирование. В основе взаимодействия лежит конкуренция токсиканта с субстратом за активный центр энзима. При этом реализуются две возможности:

а) токсикант вступает в превращение вместо субстрата (конкурентные субстраты). Так, некоторые эфиры холина (пропионилхолин, бутирилхолин и др.) гидролизуются ацетилхолинэстеразой вместо ацетилхолина. Конкурентным ингибитором аконитазы, одного из энзимов цикла трикарбоновых кислот, участвующих в превращении лимонной кислоты в аконитовую, является фторлимонная кислота, образующаяся в процессе метаболических превращений опасного токсиканта фторуксусной кислоты (рисунок 3);

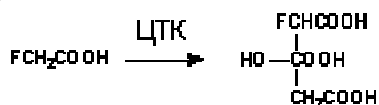


Рисунок 3. Превращение фторуксусной кислоты во фторлимонную в процессе метаболизма в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК)

б) взаимодействие токсиканта с активным центром не приводит к его метаболизму (стабильные ингибиторы). Примерами таких токсикантов являются карбаматы - ингибиторы холинэстеразы.

Конкурентный тип ингибирования развивается также при образовании прочных ковалентных связей между токсикантами и активными центрами некоторых энзимов. Этот вид ингибирования приводит к полному прекращению ферментативной активности. Таким способом фосфорорганические соединения взаимодействуют с ацетилхолинэстеразой.

Часто, конкурентные ингибиторы энзимов структурно напоминают их субстраты.

2. Неконкурентное ингибирование. В данном случае токсикант взаимодействует с добавочным, аллостерическим, центром энзима, изменяя при этом конформацию активного центра и снижая, тем самым, его сродство к субстрату. Таким способом упомянутая выше фторлимонная кислота угнетает активность транслоказы, фермента, обеспечивающего активный транспорт цитрата через мембраны митохондрий, а мышьяк и его соединения - SH-содержащие энзимы.

3. Прочие. Для осуществления ферментативной активности энзимы нуждаются в присутствии в среде ионов металлов: Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и др. Связывание этих металлов токсикантами приводит к угнетению активности. Таков механизм токсического действия комплексообразователей (ЭДТА, ДТПА, дитизона и др.), салициловой кислоты и др. Особое токсикологическое значение имеют вещества, взаимодействующие с железом, кобальтом, медью, входящими в структуру более сложных простетических групп энзимов (гем-содержащие энзимы, цитохромы, каталаза, пероксидаза, гемоглобин, миоглобин). К числу подобных токсикантов относятся цианиды, сульфиды, азиды, монооксид углерода и др.

Некоторые энзимы находятся под постоянным контролем специальных кооперационных систем. Так, система GSH/GSSG (восстановленный/окисленный глутатион) регулирует активность SH-энзимов (пирофосфатаза, фосфоглицеральдегид-дегидрогеназа, гемоглобин-редуктаза и др.). Токсиканты, понижающие содержание восстановленного глутатиона в тканях, такие как гидроксилламин, фенилгидразин, дихлорэтан и др., подавляют активность этих ферментов.

Одна из патохимических классификаций преимущественно ферментных ядов разработана А.А. Покровским (1962) (таблица 2).

Таблица 2. Патохимическая классификация ядов

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЯДОВ НА ФЕРМЕНТЫ	ХАРАКТЕРНЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ
Структурные аналоги данного субстрата, взаимодействующие с ним по типу "конкурентного торможения"	Фосфорорганические соединения и другие антихолинэстеразные соединения, Циклосерины, Галоидпроизводные пиримидина и др.
Предшественники структурных аналогов субстрата, из которых образуются ингибиторы ферментов в процессе "летального синтеза"	Фторацетат, хлорацетат Галоидсодержащие производные пиримидина и пурина, Метилловый спирт, Этиленгликоль и др.
Структурные аналоги коферментов, авитаминизация. Конкурентное торможение	Авитаминизация РР, В ₆ и др.
Соединения, тормозящие биосинтез ферментов. Конкурентное торможение; в отдельных случаях неконкурентное	Структурные аналоги природных аминокислот (фторфенилаланин, азатриптофан и др.), Некоторые антибиотики: пенициллин, левомицетин, ауреомизин и др.

Соединения, блокирующие функциональные группы белка или кофермента. Неконкурентное торможение	Цианиды, Сероводород, Окись углерода, Метгемоглобинообразователи, Соединения, связывающие SH-группы и др.
Соединения, нарушающие связи атомов металлов в молекуле фермента	Хелатирующие соединения: ЭДТА, ДТПА, 8-оксихинолидин и т.п.
Соединения, разобщающие сочетанную деятельность ферментов	Разобщители клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования (динитрофенол), Фториды, Некоторые наркотики и др.
Соединения, денатурирующие белок (грубое нарушение структуры белковой молекулы)	Крепкие кислоты, щелочи, тяжелые металлы, органические растворители и др.
Биологические яды, содержащие ферменты, разрушающие структурные элементы клеток и тканей, образующие в организме токсичные вещества	Яды змей и насекомых, Бактериальные токсины
Аналоги медиаторов	Ингибиторы моноаминоксидазы и др.

3.1.1.3. Биологические последствия действия токсикантов на энзимы

Поскольку все процессы в живых организмах протекают при участии энзимов, и все фундаментальные свойства живых систем неразрывно связаны с нормальным течением этих процессов, теоретически любые проявления жизни могут быть нарушены теми или иными токсикантами, изменяющими активность энзимов.

3.2. Взаимодействие токсикантов с нуклеиновыми кислотами.

Дезоксирибонуклеиновые кислоты - основной компонент хромосомного аппарата клеток. Рибонуклеиновые кислоты представлены информационной, транспортной, рибосомальной РНК. Их функция - участие в синтезе белка. Многие ксенобиотики вступают во взаимодействие с нуклеиновыми кислотами, изменяя их свойства.

1. Химическая модификация нуклеиновых кислот.

К числу веществ, вступающих в химическое взаимодействие с нуклеиновыми кислотами, относятся нитриты, сернистый, азотистый, кислородный иприты, этиленоксид, этиленимин, гидразин и его производные, гидроксилламин, нитрозамины, аренокисды, полициклические углеводороды, метаболиты афлатоксинов, соединения мышьяка и многие другие вещества. Эти токсиканты, образуют ковалентные связи с аминогруппами пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в структуру нуклеиновых кислот (рисунок 4). Измененные таким образом молекулы ДНК могут подвергаться дальнейшей ферментативной и неферментативной трансформации вплоть до разрушения под воздействием эндонуклеаз.

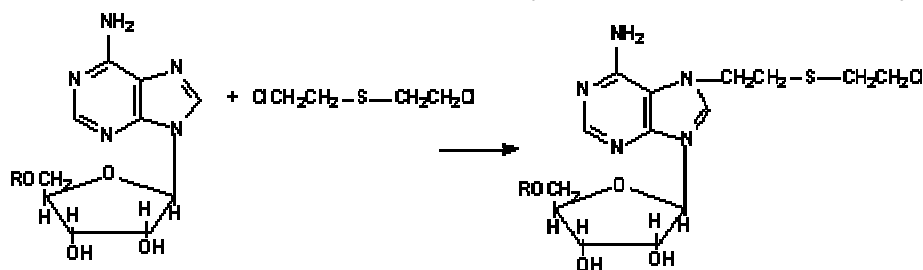


Рисунок 4. Взаимодействие аденозина с ипритом

Вещества с бифункциональными активными группами (иприты) могут образовывать с двунитевой молекулой ДНК перекрестные связи, при этом становится невозможным расхождение нитей "двойной спирали", необходимое для обеспечения синтеза белков, клеточного деления.

Токсиканты способны вступать во взаимодействие не только с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями, но и с углеводно-фосфатной основой молекулы нуклеиновой кислоты. При этом происходит её денатурация. Полагают, что таким образом может взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами в частности формальдегид.

2. Нарушение конформации нуклеиновых кислот.

Многие ксенобиотики образуют нековалентные связи с ДНК. При этом меняется конформация макромолекул. Так, известно высокое сродство к нуклеиновым кислотам производных акридина, которые, встраиваясь в молекулу ДНК между соседними парами оснований (интеркаляция), изменяют её структуру. Таков же, вероятно, механизм действия этидиумбромиды, профлавина и др.

Антрациклин, хлорахин, актиномицин и некоторые другие антибиотики также изменяют конформацию нуклеиновых кислот, не образуя с ними ковалентных связей.

3.3. Взаимодействие токсикантов с липидами

Важнейшая функция липидов - формирование биологических мембран. Вещества, разрушающие, изменяющие структуру липидов, нарушающие взаимодействие между молекулами липидов (гидрофобные связи) повреждают биологические мембраны и поэтому называются мембранотоксикантами. К числу таких относятся многие спирты, предельные и галогенированные углеводороды ("неэлектролиты"), детергенты (поверхностно-активные вещества), а также яды, обладающие фосфолипазной активностью (яды змей и

т.д). Ряд токсикантов оказывает опосредованное мембранотоксическое действие, повышая уровень внутриклеточного Ca^{2+} , активируя эндогенные фосфолипазы, свободнорадикальные процессы в клетках (см. ниже) и т.д.

3.4. Взаимодействие токсикантов с селективными рецепторами

3.4.1. Селективные рецепторы клеточных мембран

Селективные рецепторы клеточных мембран - это протеины, встроенные в липидные бислои. Гидрофобный участок α -спирали белков обеспечивает их прочную связь с мембраной. Гидрофильный участок располагается за пределами липидного бислоя. Именно этот фрагмент белка обеспечивает связь рецептора с лигандом, то есть формирует собственно рецепторную область. Выделяют следующие типы селективных рецепторов мембран:

- формирующие ионные каналы;
- связанные с G-протеинами;
- обладающие тирозинкиназной активностью;
- образующие межрецепторные сети.

1. Рецепторы формирующие ионные каналы. Эти рецепторы участвуют в передаче нервных импульсов в центральной нервной системе и на периферии. Обычно рецепторы данного типа состоят из нескольких субъединиц пронизывающих всю толщу биологической мембраны. Одна - две из этих субъединиц представляют собой собственно рецепторную область, связывающуюся с лигандом. Другие субъединицы после взаимодействия рецепторной области с лигандом изменяют свою конформацию и участвуют тем самым в формировании ионного канала. К числу известных каналобразующих рецепторов относятся никотинчувствительный рецептор ацетилхолина (Н-холинорецептор), ГАМК-ергический, глицинергический рецепторы. Первый из упомянутых является каналом для ионов Na^+ , два других - для ионов Cl^- . Известно большое количество веществ, действующих на эти рецепторы. Например, курарин, никотин, анабазин (действуют на холинорецепторы), бициклофосфаты, норборнан, пикротоксинин (действуют на ГАМК-рецепторы), стрихнин (действует на рецепторы к глицину).

К этой же группе рецепторов можно отнести Na^+ -, K^+ -, Ca^{2+} - каналы возбудимых мембран, для которых пока не найдены эндогенные химические агонисты. Тем не менее, ионные каналы имеют рецепторную область связывания высокотоксичных ядов животного происхождения, таких как тетродотоксин, сакситоксин, батрахотоксин и др.

Первым из достаточно изученных каналобразующих рецепторов был никотинчувствительный рецептор ацетилхолина. Этот рецептор состоит из четырех типов субъединиц, из которых ацетилхолинсвязывающая α -субъединица представлена в рецепторе дважды. Как полагают, все субъединицы в процессе эволюции возникли из одного предшественника, о чем свидетельствует близкая последовательность аминокислот в их молекулах. Последние представляют собой трансмембранную α -спираль, состоящую из 20 - 25 аминокислотных остатков. Идентичным для всех субъединиц является и способ фиксации в липидном бислое.

Клонирование и секвенирование генов, ответственных за синтез субъединиц никотинового рецептора, выделенного из различных органов животных одного вида и органов разных видов, позволили высказать предположение об эволюционной близости их происхождения. Об этом же свидетельствует и то обстоятельство, что не смотря на имеющиеся различия строения рецепторной области Н-холинорецепторов, выделенных из разных органов и тканей животных различных видов, их чувствительность к ацетилхолину, его агонистами и антагонистам различается несущественно.

2. Рецепторы, связанные с G-протеинами. Особый вариант передачи регуляторных сигналов представлен механизмом взаимодействия эндогенных лигандов с рецепторами, ассоциированными с G-протеинами (регуляторными протеинами). В этом случае сигналы, вызванные действием лиганда, приводят к конформационным изменениям рецепторного белка, затем переносятся на белки сопряжения, которые в свою очередь, уже или стимулирует или угнетает эффекторную систему в целом. Белки сопряжения в ходе передачи сигнала связывают молекулу гуанозинтрифосфата (ГТФ) и расщепляют её на гуанозиндифосфат и фосфат (отсюда название - G-протеины). Стимулирующие G-протеины (G_s), активируют в ходе передачи сигнала аденилатциклазу клеток-эффекторов, а ингибиторные (G_i) - угнетают этот энзим. Поскольку G-протеины расщепляют ГТФ, они называются также ГТФ-азами.

К числу рецепторов такого типа относятся в частности мускаринчувствительные холинэргические рецепторы (М-холинорецепторы), α -и β -адренорецепторы и т.д. Гены, контролирующие синтез белковых субъединиц этих рецепторов клонированы и секвенированы. Мускаринергический и адренергический рецепторы образованы белковой молекулой, закрепленной в клеточной мембране с помощью 7 трансмембранных участков пептидной α -спирали. Оба рецептора по последовательности аминокислот весьма близки, что указывает на близость их эволюционного развития. Полагают, что различные типы α - и β -адренорецепторов, М-холинорецепторов, дофаминергических, серотонинергических, гистаминергических рецепторов, а также ряд других рецепторных структур, представляют собой подтипы некоего исходного образования, различающиеся незначительными особенностями третичной структуры, конформации, связывания с липидной мембраной.

Комплекс G-протеинов состоит из трех субъединиц. Наибольшая, с молекулярной массой 40000, называется α -субъединицей. Она содержит в каталитическом центре участок селективного связывания ГТФ и при активации действует как ГТФ-аза. α -субъединица, с одной стороны сопряжена с мембранным рецепторным белком, с другой - с молекулой аденилатциклазы. β -субъединица имеет молекулярную массу около 35000 и вероятно запускает процесс расщепления ГТФ, отсоединяясь от комплекса G-протеинов. О функции наименьшей - γ -субъединицы (ММ около 10000) практически ничего не известно.

Функционирование системы передачи сигнала с помощью G-протеинов наилучшим образом изучено на примере β -адренорецепторов (рисунок 5).

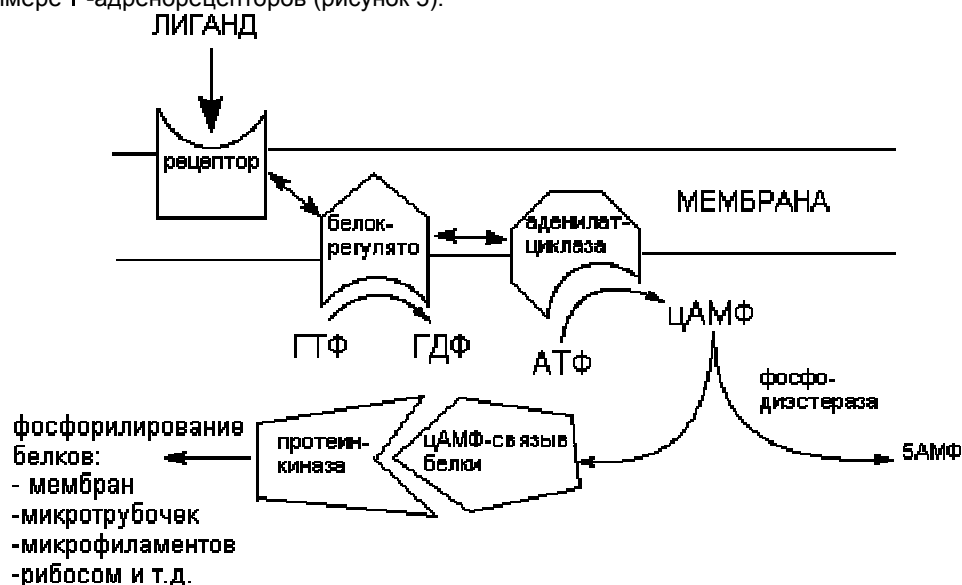


Рисунок 5. Схема проведения сигнала, через систему рецептора связанного с G-протеинами

В невозбужденном состоянии α_s -субъединица рецепторного комплекса связана с молекулой ГДФ. Взаимодействие агониста с рецепторным белком приводит к изменению его конформации, что сопровождается изменением свойств и α_s -субъединицы G-протеина - последний теряет сродство к ГДФ и связывается с молекулой ГТФ. Активированная α_s -субъединица отщепляется от рецепторного протеина и присоединяется к аденилатциклазе, активируя её. Под влиянием фермента в клетке из АТФ синтезируется цАМФ - вторичный месенджер, запускающий процессы, лежащие в основе активации клетки. Присоединение к α_s -субъединице β - и γ -субъединиц активирует её ГТФ-азную активность. Образующийся в процессе передачи сигнала ГДФ присоединяется к α_s -субъединице, вызывает её отщепление от аденилатциклазы и присоединение к рецепторному протеину. Система приходит в исходное состояние.

Токсиканты могут модифицировать описанный процесс на любом из этапов проведения сигнала. Например, холерный и коклюшный токсины вызывают АДФ-рибозилирование G_s -протеина после его связывания с молекулой ГТФ. В итоге развивается стойкая активация аденилатциклазы и перевозбуждение соответствующих клеток слизистых оболочек.

В настоящее время известно огромное количество веществ синтетических и естественного происхождения, избирательно взаимодействующих с рецепторами данного типа. Среди них многочисленные лекарственные средства (действующие на холинэргические, катехоламинергические, серотонинергические синапсы), интоксикация которыми развивается как при перевозбуждении, так и блокаде рецепторов (см. курс фармакологии). Сюда же относится большая группа веществ, обладающих психодислептической активностью (диэтиламид лизергиновой кислоты, псилоцин, псилоцибин, буфотенин, мескалин, хинуклидинилбензилат - BZ и т.д.).

3. Рецепторы с тирозинкиназной активностью. К рецепторам данного типа относятся, в частности, рецепторы к инсулину и гормону роста. Эти рецепторы состоят из одной или двух белковых субъединиц, закрепленных в липидном бислое с помощью пептидной α -спирали.

После взаимодействия с лигандом рецепторная молекула частично погружается в клетку. При этом активируется тирозинкиназная активность специальной субъединицы рецептора, либо энзима, тесно связанного с ним. Пусковым сигналом процессов, приводящих к активации клетки, является фосфорилирование внутриклеточных белков (по молекуле тирозина).

Токсиканты, избирательно действующие на данный тип рецепторов, пока не известны.

4. Рецепторы, образующие межрецепторные сети. В отличие от других мембраносвязанных рецепторов, связывание с лигандом в данном случае не приводит непосредственно к передаче сигнала на эффекторную систему. Процесс восприятия сигнала связан с образованием межрецепторных цепей на поверхности клеток. Наилучшим образом в группе рецепторов данного типа изучены рецепторы к Fc-фрагменту (fragment crystalline) антител (иммуноглобулинов). Эти рецепторы представляют собой агрегаты двух или более белковых субъединиц, молекулярная масса которых составляет около 30000 - 50000. Особое патофизиологическое значение имеет образование межрецепторных сетей IgE-Fc-рецепторов, поскольку это явление, наступающее вследствие связывания антигена с молекулами фиксированных на мембранах тучных клеток антител, приводит к взрывоподобному экзоцитозу гистамин-содержащих гранул. Экзоцитоз биологически активных веществ, и в частности, гистамина из тучных клеток - основа анафилактических реакций (см. ниже).

4. Изучение локализации рецепторов в биообъекте

Выяснение характера распределения рецепторов различных токсикантов в тканях, клетках, субклеточных структурах возможно с помощью различных методических приемов. Непрямым методом является обнаружение в исследуемом материале эндогенных биорегуляторных веществ, аналогами которых является токсикант, или ферментов их обмена. Как правило, для этой цели используют гистологические методы (гистохимия, иммуногистохимия). Такими способами, например, выявляют области

синтеза, депонирования или разрушения нейромедиаторов (ГАМК, серотонина, дофамина, норадреналина, гистамина и т.д.). Однако на основании полученных результатов неправомерно делать заключение о том, что здесь же залегают и основные рецепторные образования к соответствующим токсикантам. Количество выявляемого медиатора в ткани (клетке) ни в коем случае не является характеристикой плотности рецепторов к исследуемому веществу.

Часто для выявления рецепторов в органах и тканях используют метод автордиографии. При этом о характере их распределения часто судят по особенностям связывания токсикантов, меченых радиоактивными изотопами (радиолигандов). С помощью этого метода возможно изучение и внутриклеточной локализации рецепторов.

Метод компьютерной томографии, в частности позитронно-эмиссионная компьютерная томография, позволяет прижизненно изучать локализацию рецепторов токсикантов в тканях. Для этого в организм обследуемого вводят рецепторспецифичные радиолиганды (сам токсикант или его аналоги), меченные радионуклидами, испускающими позитроны (^{11}C , ^{18}F), локализацию которых в различных органах, по прошествии некоторого инкубационного периода, и выявляют с помощью соответствующей аппаратуры. С помощью такого подхода можно изучить распределение рецепторов в любом интересующем органе. Недостатками метода являются его недостаточно высокая разрешающая способность и дороговизна.

5. Понятие полирецепторного профиля связывания токсиканта

Селективное связывание токсиканта с рецепторами одного типа характерно лишь для очень небольшого числа высоко токсичных соединений (например, некоторые ФОС, ботулотоксин, сакситоксин, тетродотоксин, аманитин). Часто вещество имеет примерно одинаковое сродство к нескольким рецепторам, взаимодействие с которыми и приводит к формированию вполне определенного биологического эффекта (профиля токсических реакций). В этой связи, особенности проявлений интоксикации одним и тем же веществом, но различных степеней тяжести, обусловлено не только увеличением количества рецепторов одного типа, связавшихся с токсикантом, но и расширением спектра вступивших во взаимодействие рецепторов. По этой причине, часто, зная проявления интоксикации, мы не можем точно определить, каков механизм их формирования.

Сказанное выше относится к токсикантам с различными механизмами токсического действия, в том числе и влияющим на нейромедиаторный аппарат. В малых дозах эти ксенобиотики обычно избирательно взаимодействуют с рецепторами какого-то одного типа (например, нейролептики, трициклические антидепрессанты - ТАД - вмешиваются в передачу нервных импульсов в дофаминергических синапсах мозга), однако в высоких дозах действие распространяется и на другие синаптические структуры (упомянутые вещества обладают выраженной холинолитической активностью). В ряде случаев токсический эффект в большей степени связан с взаимодействием ксенобиотика с менее чувствительными, но более значимыми для поддержания гомеостаза рецепторами. Так, интоксикация упомянутыми нейролептиками и ТАД в основном проявляется эффектами, обусловленными блокадой холинэргических структур (психодислептические эффекты, вегетативные нарушения, устранимые в значительной степени ингибиторами холинэстеразы).

В связи с изложенным, важным, при изучении механизмов токсического действия веществ, является определение рецепторного профиля их действия в широком диапазоне доз. В ходе этих исследований изучают виды рецепторов, с которыми может вступить во взаимодействие токсикант и количественные характеристики этого взаимодействия. Обычно задача решается с помощью радиолигандных методов исследования. Сравнение биологических эффектов, вызываемых действием на организм близких по строению, но различающихся по рецепторному профилю токсикантов, позволяет, с определенными оговорками, оценить значение каждого из механизмов формирования токсического процесса.

6. Радиолигандные методы изучения процесса взаимодействия токсиканта с рецепторами

Поскольку токсичность веществ во многом определяется их способностью взаимодействовать с рецепторами определенных типов, количественная оценка сродства конкретного вещества к конкретному рецептору порой имеет решающее значение для выявления механизма его токсического действия.

Количественно оценить сродство токсиканта к рецептору можно с помощью радиолигандных методов исследования. При этом, однако, эффекты, развивающиеся вследствие взаимодействия, остаются вне поля зрения исследователя. Более того, в ходе работы не представляется возможным решить вопрос, является ли исследуемое вещество агонистом или антагонистом (активатором или ингибитором) данного рецептора. Тем не менее, сочетание метода с биохимическими и физиологическими методиками позволяет получить развернутую картину механизма действия токсиканта и формирования ответной реакции биосистемы. К числу основных методов относятся: а) с полным насыщением рецептора и б) методы замещения радиолиганда.

а). Принцип метода с полным насыщением рецептора состоит в добавлении в инкубационную среду, содержащую рецептор, меченного изотопом токсиканта (радиолиганда) в возрастающей концентрации. Метод пригоден для исследования свойств веществ, прочно фиксирующихся на рецепторе (например, холинолитиков: скополамин, атропина, дитрана и т.д.). В ходе экспериментов с насыщением изучают зависимость количества образовавшегося радиолиганд-рецепторного комплекса (RL) от концентрации радиолиганда (L) при постоянном содержании в среде соответствующих рецепторов (R). После получения необходимых данных (как правило, представляемых в графической форме), можно рассчитать количественные характеристики процесса (константу диссоциации комплекса K_D), используя общие положения закона действующих масс.

$$K_D = [R] [L] / [RL] \quad (1)$$

Поскольку общая концентрация рецепторов, принимавших участие во взаимодействии, представляет собой сумму свободных и связавшихся рецепторов, т.е.

$$R_0 = [R] + [RL] \quad (2)$$

преобразование уравнения (1) приводит к виду

$$[RL] = [R_0] [L] / (K_D + [L]) \quad (3)$$

Полученное уравнение, по сути, идентично уравнению Михаэлиса - Ментен, используемому при описании кинетики ферментативных процессов.

При концентрации свободного лиганда равной величине константы диссоциации комплекса лиганд-рецептор, имеем

$$[RL] = [R_0] [L] / [L] + [L] = 0,5 [R_0] \quad (4)$$

Таким образом, в упрощенной форме K_D равна концентрации лиганда, при которой половина рецепторов приняла участие в образовании лиганд-рецепторного комплекса.

Незначительные преобразования уравнения (3) приводят к линейной зависимости между исследуемыми показателями, что значительно упрощает анализ:

$$[RL] / [L] = -[RL] / K_D + [R_0] / K_D \quad (5)$$

Часто для обозначения количества лиганда, связавшегося с рецептором (RL), используют символ (B); свободного лиганда (L) - (F); общего количества рецепторов (R_0) - (B_{MAX}). Представленное в этих символах выражение (5) выглядит следующим образом:

$$B/F = -B/K_D + B_{MAX}/K_D \quad (6)$$

Исходя из этого выражения, можно рассчитать величину K_D :

$$K_D = (B_{MAX} - B)F/B$$

Зависимость, построенная в координатах ($B_{MAX} - B$) - по оси "X", B/F - по оси "Y", как правило, носит линейный характер. Угол наклона прямой позволяет определить величину K_D :

$$B/F = 1/K_D (B_{MAX} - B)$$

На рисунке 6 представлены данные радиолигандного исследования связывания мощного холинолитика хинуклидинилбензилата (меченного тритием) с холинорецепторами сердечной мышцы свиньи. Анализ кривых позволяет определить сродство токсиканта к рецепторам соответствующего типа.

Концентрация связанного
3H-ХНБ (пМ/мг белка)

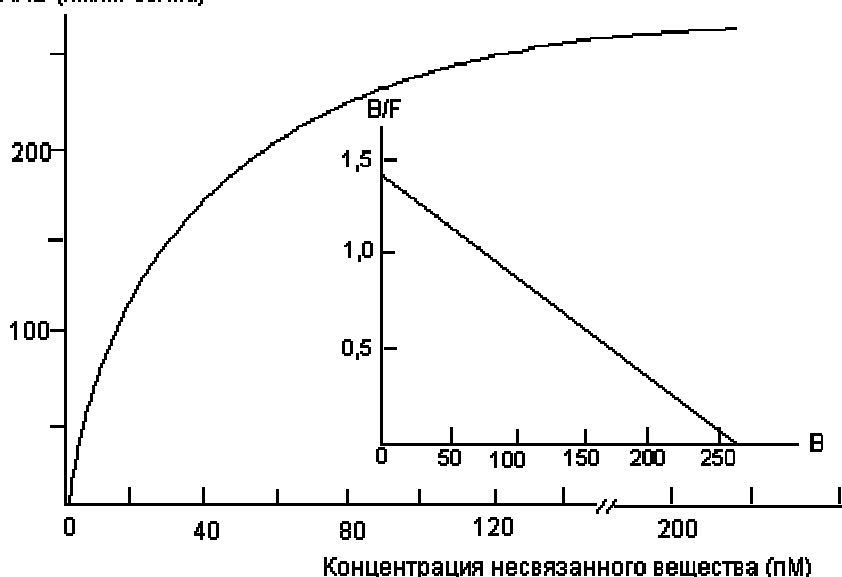


Рисунок 6. Кривая связывания радиолиганда [^3H] -хинуклидинилбензилата (^3H -ХНБ) на солюбилизованных мускаринчувствительных холинорецепторах сердца свиньи (G.S. Herron et al., 1982)

Уже в ходе таких простых исследований возникает проблема определения специфичности связывания лиганда. Неспецифическое связывание определяют путем внесения в среду 100 - 1000-кратного избытка не меченного изотопом вещества. Некоторые лиганды, особенно белковой природы, имеют свойство образовывать большое количество неспецифических связей с биосубстратом, иногда до 50% от общего количества образовавшихся комплексов.

б). Исследования методом радиолигандного замещения открывают путь к изучению процесса взаимодействия рецепторов с лигандами, характеризующимся формированием нестабильного комплекса. Это, прежде всего, характерно для веществ-агонистов соответствующих нейромедиаторов (например, холиномиметиков: никотина, ареколин, карбахола и т.д.). Принцип метода состоит в добавлении в инкубационную среду, содержащую рецептор и радиолиганд-агонист, немеченного изотопом вещества-антагониста в возрастающих концентрациях, до тех пор, пока лиганд полностью не будет вытеснен из связи с рецептором. Концентрация лиганда в опыте должна быть близка величине константы диссоциации комплекса лиганд-рецептор. В ходе эксперимента обычно определяют концентрацию антагониста, необходимую для вытеснения из связи 50% агониста рецептора. Эта характеристика обозначается как IC_{50} . Константа диссоциации комплекса антагонист-рецептор (K_1) и величина IC_{50} определяются величиной константы диссоциации агонист-рецепторного комплекса. Если предположить, что количество связанного радиолиганда составляет лишь незначительную часть вещества в инкубационной среде, а также, что константа диссоциации комплекса значительно превышает величину B_{MAX} , то имеем:

$$K_1 = IC_{50} / (1 + F/K_D)$$

Сравнивая величины констант диссоциации веществ, оценивают их сродство к изучаемому рецептору.

ГЛАВА 2.2. МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

В основе токсического действия веществ лежит повреждение клеток, сопровождающееся их функциональными, либо структурно-функциональными изменениями. Разнообразие формирующихся при этом эффектов со стороны целостного организма обусловлено сложностью организации клеток, многообразием клеточных форм, составляющих организм. Сформировавшиеся в процессе эволюции особенности структуры и функции отдельных клеточных типов, формирующих различные органы и ткани, настолько существенны, что чувствительность различных клеток к токсикантам может отличаться в тысячи раз. Тем не менее, живое объединено общностью фундаментальных свойств (см. выше), а это позволяет выделить и некоторые общие механизмы, лежащие в основе цитотоксического действия ксенобиотиков. К числу важнейших можно отнести следующие:

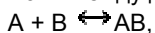
- нарушение энергетического обмена;
- нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция;
- активация свободно-радикальных процессов в клетке;
- нарушение процессов синтеза белка и клеточного деления;
- повреждение клеточных мембран;

Необходимо отметить, что все эти механизмы тесно связаны друг с другом. Порой один из них является пусковым, но в дальнейшем особую значимость для судьбы поврежденной клетки приобретают другие. Очень часто два или несколько из упомянутых механизмов связаны между собой по типу "порочного круга". В этой связи их выделение носит искусственный характер и оправдывается только целями данного издания.

1. Нарушение процессов биоэнергетики

1.1. Системы энергообеспечения клетки

Если между двумя веществами осуществляется взаимодействие, например:



то существует и некая константа равновесия, характеризующая силу этого взаимодействия:

$$K = [AB] / ([A] + [B]).$$

Если $K = 1$, то в равновесном состоянии компоненты реакции A (или B) и AB находятся в смеси в одинаковых концентрациях. Если $K > 1$, то в смеси больше продукта реакции AB , если $K < 1$, то, напротив, больше исходных ингредиентов A и B . Спонтанное взаимодействие A и B с образованием AB происходит только тогда, когда K - велика.

Энергетика процесса взаимодействия веществ может быть охарактеризована следующим уравнением:

$$-RT \ln K_a = \Delta G = \Delta H - T \Delta S, \text{ где}$$

K_a - константа равновесия;

R - газовая константа (1,987 кал/град/моль);

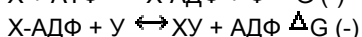
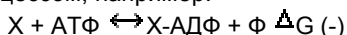
T - абсолютная температура;

G - свободная энергия;

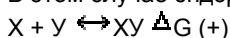
H - энтальпия (энергосодержание веществ);

S - энтропия (степень неупорядоченности системы).

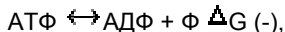
Спонтанно протекают реакции, при которых свободная энергия системы в процессе преобразования уменьшается. Это может быть следствием двух явлений: уменьшение энтальпии или увеличения энтропии системы. В первом случае говорят об экзотермической реакции ($\Delta H > 0$), так как она проходит с выделением энергии; во втором - об эндотермической. Если ΔG - положительно (свободная энергия системы возрастает), реакция не может идти спонтанно. Для того, чтобы такой химический процесс шел необходимо поступление энергии из окружающей среды, либо сопряжение его с другим, экзэргическим, процессом, например:



В этом случае эндэргический процесс:



становится возможным за счет сопряженного экзэргического процесса:



в ходе которого образуется промежуточный активный продукт $X\text{-АДФ}$.

Жизнь клеток и макроорганизмов есть постоянный процесс синтеза сложных молекул (нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов, липидов и т.д.), то есть структур с достаточно высокой энтальпией и низкой энтропией. Образование таких молекул означает увеличения свободной энергии системы. Следовательно синтетические процессы невозможны без одновременного протекания экзэргических реакций, обеспечивающих высвобождение энергии, поступающей из окружающей среды и запасенной в форме химических соединений. Основным видом таких реакций в организме является гидролитическое расщепление богатых энергией веществ, содержащих пирофосфатные связи (макроэрги). К их числу относятся: аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), аденозиндифосфорная кислота (АДФ), гуанозинтрифосфорная кислота (ГТФ), цитозинтрифосфорная кислота (ЦТФ), уридинтрифосфорная кислота (УТФ), ацилфосфаты и др. В конечном итоге энергетические возможности клетки определяются запасами макроэргов и, в первую очередь, АТФ.

АТФ постоянно синтезируется в ходе двух клеточных процессов: гликолиза и биологического окисления субстратов (клеточное дыхание). Оба находятся в тесном взаимодействии. Гликолиз проходит в цитоплазме клеток. Дыхание, основной путь образования макроэргов, осуществляется в митохондриях. В процессе дыхания, благодаря совместному действию большого числа ферментов, соответствующие субстраты, образующиеся при метаболизме белков, жиров, углеводов, поступающих с пищей, окисляются кислородом, также поступающим из окружающей среды, с образованием CO_2 , H_2O и энергии, выделяющейся в форме

тепла и запасаемой в молекулах АТФ. Процессы, обеспечивающие поддержания определенного уровня АТФ в клетках организма, составляют основу и сущность их энергетического обмена.

Наиболее уязвимыми для действия токсикантов элементами биологической системы, обеспечивающей образование макроэргов в организме, являются: механизмы биологического окисления (ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты дыхательной цепи), механизмы сопряжения биологического окисления и фосфорилирования (образования АТФ из АДФ и фосфата), механизмы доставки кислорода к клеткам кровью (рисунок 1).

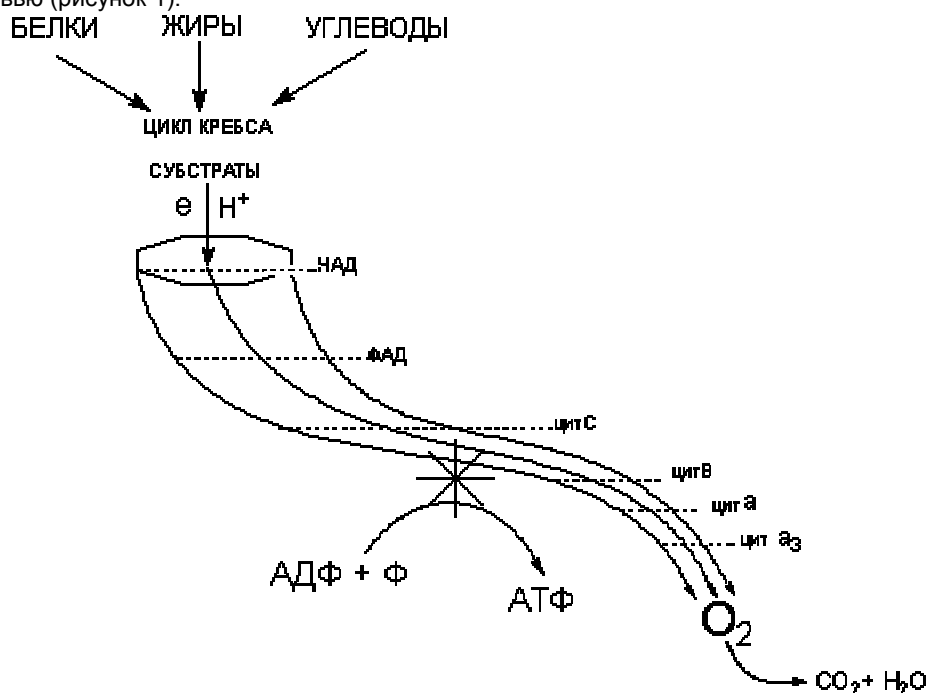


Рисунок 1. Модель процесса клеточного дыхания. Энергия движения электронов и протонов по цепи дыхательных ферментов обеспечивает работу механизма сопряжения процесса фосфорилирования (кумуляция энергии)

Угнетение активности энзимов гликолиза редко приводит к существенному нарушению энергетического обмена, так как метаболизм других веществ (жиров, белков) может компенсировать этот вид нарушений.

1.2. Механизмы токсического повреждения систем энергообеспечения клетки

Нарушение процессов биоэнергетики приводит к повреждению биологических систем, вплоть до их гибели. Токсиканты могут влиять на энергетические процессы различными способами. Некоторые примеры представлены на рисунке 2.

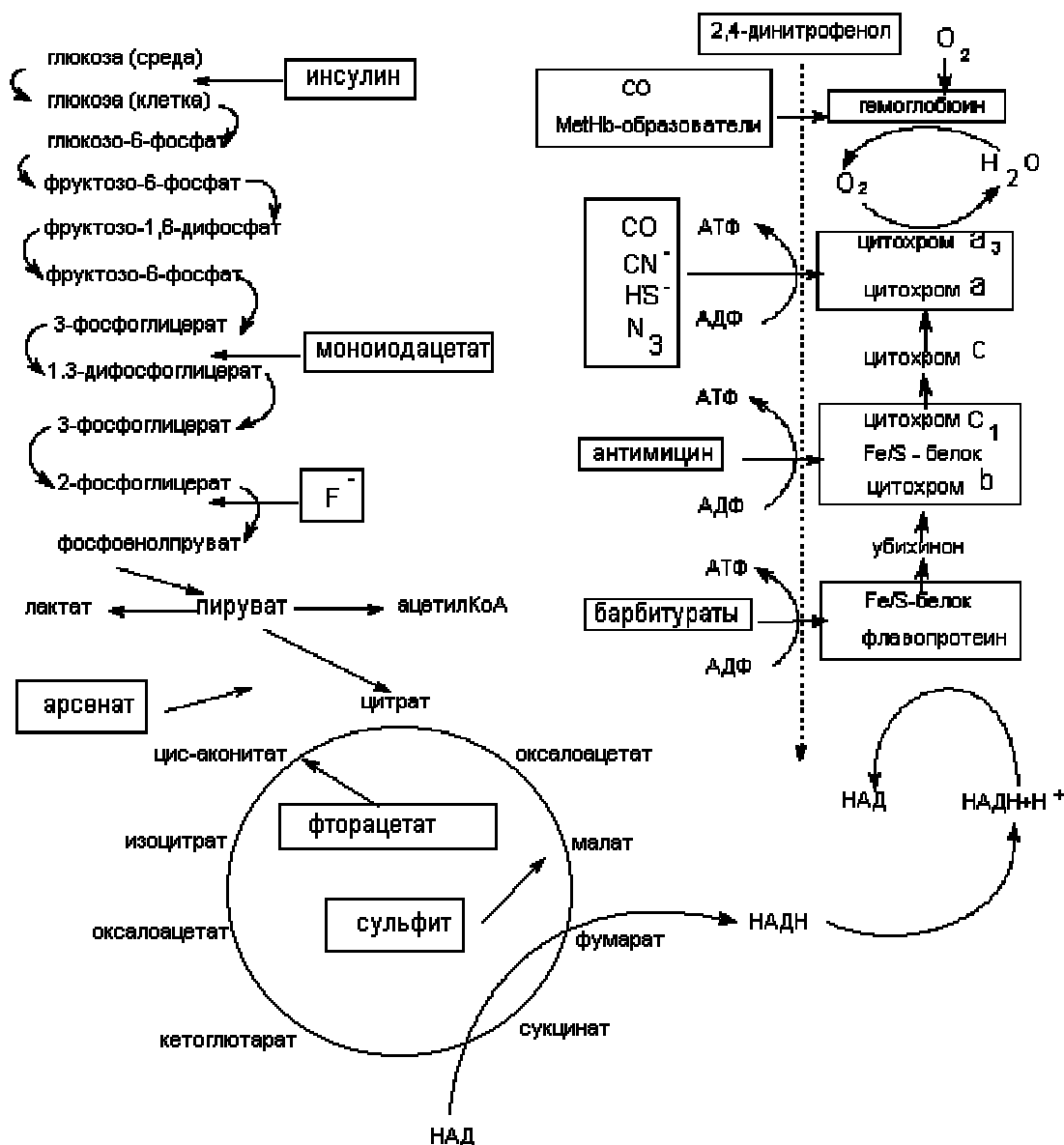


Рисунок 2. Механизмы действия токсиантов на биоэнергетические процессы

Мышьяк, ртуть, их органические и неорганические соединения, другие тяжелые металлы, иодацетат и проч., могут взаимодействовать с сульфгидрильными группами целого ряда ферментов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот и подавлять их активность (сульфгидрильные яды). Достаточно избирательно действуют вещества-аналоги природных субстратов (фторацетат, оксид углерода и т.д.). Они взаимодействуют с активными центрами соответствующих ферментов, угнетая отдельные этапы процесса энергообеспечения клеток.

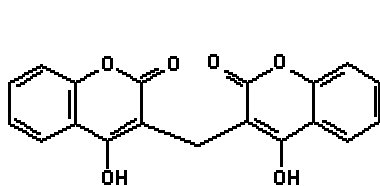
Ингибирование ферментов цикла трикарбоновых кислот (ТК) является пагубным для клетки. Так, некоторые фторированные спирты и фторкарбоновые кислоты (ингибиторы ферментов цикла ТК), являются чрезвычайно токсичными соединениями, вызывающими смертельное отравление в дозах нескольких миллиграмм на килограмм массы.

Большое токсикологическое значение имеют вещества, действующие на цепь дыхательных ферментов. Токсиканты, блокирующие элементы цепи дыхательных ферментов (цианиды, сульфиды), могут в течение нескольких минут привести организм к гибели. Первая ступень цепи дыхательных ферментов чувствительна к седативным средствам (барбитураты).

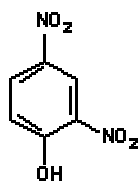
Некоторые вещества способны разобщать процессы биологического окисления и фосфорилирования. Такими свойствами обладают, как правило, липофильные соединения, содержащие фенольную группировку в молекуле и являющиеся слабыми органическими кислотами: 2,4-динитрофенол (ДНФ), динитро-о-крезол, хлорфенолы, дикумарол, а также салицилаты, арсенаты, тироксин и др. (рисунок 3). Самым активным разобщителем является 3,5-дитретбутил-4-гидроксibenзилиден-малонитрил (SKF6847). Это вещество примерно в 1800 раз активнее 2,4-ДНФ и уже в концентрации 0,2 моль на 1 моль цитохрома вызывает максимальное разобщение.

in vitro "разобщители" стимулируют скорость потребления кислорода митохондриями и индуцируют активность АТФазы. *in vivo* в результате их действия значительно активируется процесс клеточного дыхания, однако содержание АТФ в клетках при этом снижается. Образующаяся в ходе окисления субстратов энергия рассеивается в форме тепла, температура тела отравленного резко повышается,

учащается дыхание, появляются тошнота, обильное выделение пота, развивается острая сердечная недостаточность, кома. Интоксикация развивается бурно и заканчивается быстрой гибелью пострадавшего.



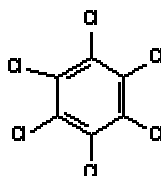
дикумарол



динитрофенол



трифторкарбонилцианид
фенилгидразон



пентахлорфенол

Рисунок 3. Структура некоторых разобщителей процесса окислительного фосфорилирования

Механизм действия разобщителей до конца не выяснен. Полагают, что они облегчают переход протонов непосредственно через мембрану из митохондрий в цитоплазму. Двигателем же процесса образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата как раз и является градиент протонов по обе стороны мембраны митохондрий, не проницаемой для H^+ , поддерживаемый реакциями биологического окисления.

Наконец еще одним механизмом нарушения энергообеспечения клетки является угнетение митохондриальной транслоказы, обеспечивающей транспорт синтезированной АТФ из митохондрий в цитоплазму. Таким образом, действует, в частности атрактилозид, вещество выделяемое из растения *Distel Atractylis gummifera*, произрастающего в Средиземноморье (рисунок 4).

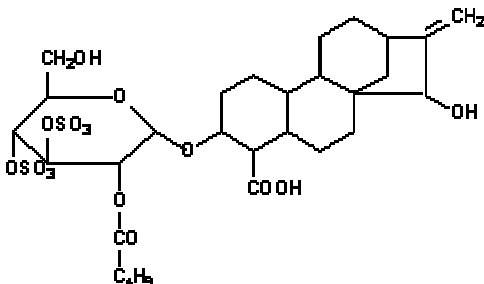


Рисунок 4. Структура атрактилозида

Непрямой механизм цитотоксического действия является понижение токсикантами парциального давления кислорода в тканях.

Нехватку кислорода человек и другие млекопитающие могут переносить только несколько минут. Особенно чувствительными к аноксии являются клетки органов с интенсивным энергообменом (таблица 1).

Таблица 1. Потребление кислорода различными органами крысы

>Орган	>Скорость потребления O_2 (мл/г ткани мин)
Скелетная мускулатура	>0,875
Кожа	>0,416
Кости	>0,153
Кровь	>0,025
Печень	>2,010
Почки	>1,840
Мозг	>4,120
Легкие	>1,250
Сердце	>1,930

(Field et al., 1939)

Высоко чувствителен к нарушению процессов клеточного дыхания головной мозг. Если периферические ткани способны переживать (хотя и с нарушениями функций) частичную нехватку кислорода в течение нескольких часов, то необратимые изменения в ЦНС наступают спустя 4 - 5 минут после полного прекращения снабжения нейронов кислородом. Поэтому токсиканты, нарушающие кислородтранспортные функции крови также весьма токсичны (оксид углерода, нитро-, аминосоединения и пр.). Оксид углерода связывается с двухвалентным железом гема с образованием карбоксигемоглобина, метгемоглобинообразователи переводят железо гема из двухвалентной в трехвалентную форму. В обоих случаях гемоглобин утрачивает способность связывать кислород в легких и транспортировать его в ткани.

2. Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция

Роль кальция, как регулятора физиологических процессов, протекающих в клетке, хорошо известна. Нарушение внутриклеточного гомеостаза этого иона, сопровождающееся существенным повышением его концентрации в цитоплазме клетки, лежит, как полагают, в основе механизма клеточной гибели при целом ряде патологических состояний таких как ишемия, аутоиммунные процессы и т.д. Цитотоксическое действие самых разных токсикантов (цианидов, четыреххлористого углерода, свинца, метилртути, хлордекона, оловоорганических соединений, алкилирующих агентов, диоксина и т.д.) также полагают, хотя бы отчасти, связано с повышением уровня кальция внутри клеток.

В норме низкая концентрация кальция в цитоплазме поддерживается механизмами его активного транспорта через биомембраны и системой его компартментализации (накопление в клеточных органеллах) (рисунок 5).

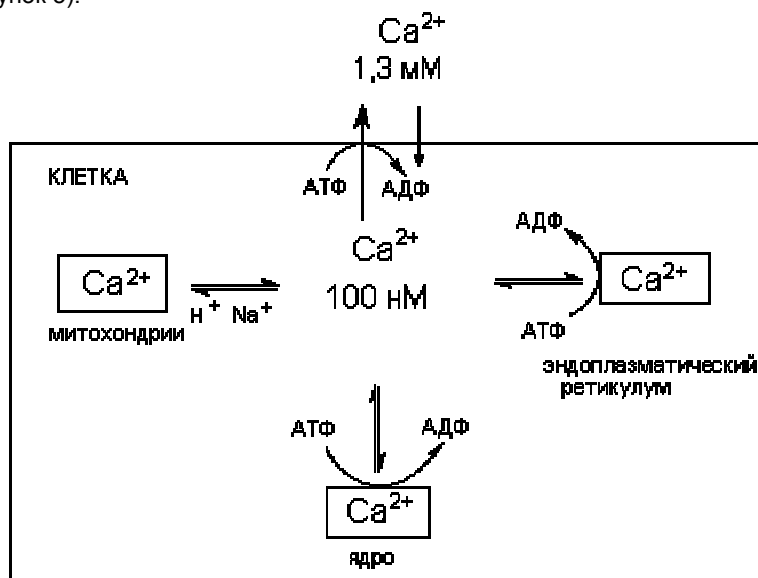


Рисунок 5. Схема регуляции содержания ионов кальция в цитоплазме.

Обычно поступление Ca^{2+} в клетку по градиенту концентрации уравнивается его активным выведением, осуществляемым при участии Ca^{2+} -транспортной АТФазы в печени и эритроцитах и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменом в возбудимых тканях. Кроме того, уровень кальция регулируется его секвенированием в клеточных органеллах (ядре, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме), а также связыванием внутриклеточными белками.

Нарушение механизмов поддержания гомеостаза внутриклеточного кальция, как это видно из представленной схемы обмена иона, может стать следствием:

- повреждения биологических мембран и усиления их проницаемости для ионов;
- нарушения биоэнергетики клетки, приводящие к истощению запасов макроэргов;
- изменения функционального состояния белковых комплексов (в том числе путем действия на соответствующие рецепторы), образующих каналы для Ca^{2+} .

Все эти механизмы могут приводить к усилению инфлюкса кальция из внеклеточной жидкости и его высвобождению из депо в цитоплазму клетки. Примеры веществ, повреждающих механизмы поддержания гомеостаза кальция внутри клеток, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Некоторые вещества, нарушающие распределение кальция внутри клетки

1. Высвобождение кальция из митохондрий: - динитрофенол - динитрокрезол - хиноны - перекиси - аллоксан - железо - кадмий	3. Усиление поступления кальция через плазматическую мембрану: - четыреххлористый углерод - диметилнитрозамин - парацетамол - 2,3,7,8-тетрахлордифенло-п-диоксин
2. Высвобождение кальция из эндоплазматического ретикулума: - четыреххлористый углерод - бромбензол - хиноны - перекиси - альдегиды	4. Угнетение эффлюкса кальция из клетки: - цистамин - хиноны - перекиси - дикват - ванадий

Цитотоксический эффект в результате стойкого повышения содержания кальция в цитоплазме в настоящее время связывают с развивающимся при этом повреждением целостности цитоскелета и неконтролируемой активацией катаболических ферментов (фосфолипаз, протеаз, эндонуклеаз).

2.1. Повреждение цитоскелета

Цитоплазма клетки помимо цитозоля и клеточных органелл, как правило, содержит еще и нитевидные белковые структуры, которые в массе формируют клеточный скелет. Это образование выполняет не только

стабилизирующую и структурирующую, но и другие функции, среди которых обеспечение клеточного деления, внутриклеточный транспорт, секреция, обмен рецепторных белков, регуляция клеточной подвижности и формы. Белки цитоскелета эпителиальных клеток формируют филаменты кератина, в мышечных клетках - десмин или волокна актина и миозина, в соединительнотканых клетках - виментин, в эритроцитах - спектрин, в нервных и глиальных клетках - нейро- и глиофиламенты. Важную роль в физиологии клеток играют микротрубочки, образованные молекулами тубулина, организованные в характерные нитевидные структуры. Они принимают участие в формировании митотического веретена делящихся клеток.

Велика роль структур, формирующих цитоскелет в нервных клетках. Здесь микрофиламенты и микротрубочки принимают участие в монтаже системы anterograde и retrograde аксонального транспорта биологически активных веществ. Как известно белки синтезируются в перикарионе нейрона, а затем транспортируются с помощью этой системы на периферию клетки (в область синаптических контактов). Транспорт по аксону необходим и для обеспечения функций аксональных мембран: оборот глобулярных протеинов в мембране аксонов, выполняющих функции ионных каналов (см. выше). Состояние Швановских клеток также контролируется трофическими веществами, переносимыми с аксональным током. С аксональным током перемещается весь набор энзимов, нейромедиаторов и их предшественников, необходимых для обеспечения синаптической передачи нервных импульсов.

При действии разнообразных веществ на изолированные клетки (культура ткани) выявляется отчетливое изменение формы их поверхности: появляются выпячивания цитоплазмы, называемые пузырьками (blebs). Такое "пузырение" (или вскипание - blebbing) клеточной мембраны - один из ранних и надежных признаков разрушения сети цитоскелета. Вещества, нарушающие гомеостаз внутриклеточного кальция, инициируют "вскипание" мембраны. Механизм феномена объясняют следующим образом. Кальций вовлечен в процесс поддержания структуры цитоскелета как непосредственно, так и через ряд Ca^{2+} -связывающих протеинов и Ca^{2+} -зависимых энзимов. Особенно значим уровень Ca^{2+} в цитоплазме для образования ассоциации белков цитоскелета с белками плазматической мембраны и взаимодействия различных элементов цитоскелета. Стойкое увеличение концентрации кальция в цитозоле по-видимому вызывает отщепление актина микрофиламентов от α -актинина, белка, служащего промежуточным звеном, связывающим микрофиламенты цитоскелета с белками плазматической мембраны. Кроме того Ca^{2+} активирует протеазы (см. ниже), которые могут расщеплять актин-связывающие белки, разрушая тем самым места прикрепления филаментов цитоскелета к клеточной мембране. Отщепление цитоскелета от мембраны приводит к ослаблению фиксации последней и её "вскипанию", что и наблюдается при действии на клетки различных токсикантов (рисунок 6). Вещества, связывающие внутриклеточный кальций, и ингибиторы Ca^{2+} -зависимых протеаз препятствуют "вскипанию" плазматической мембраны клеток, обработанных токсикантами. Другой механизм изменения конфигурации плазматической мембраны под влиянием избыточной концентрации кальция, может состоять в истощении внутриклеточных запасов макроэргов.

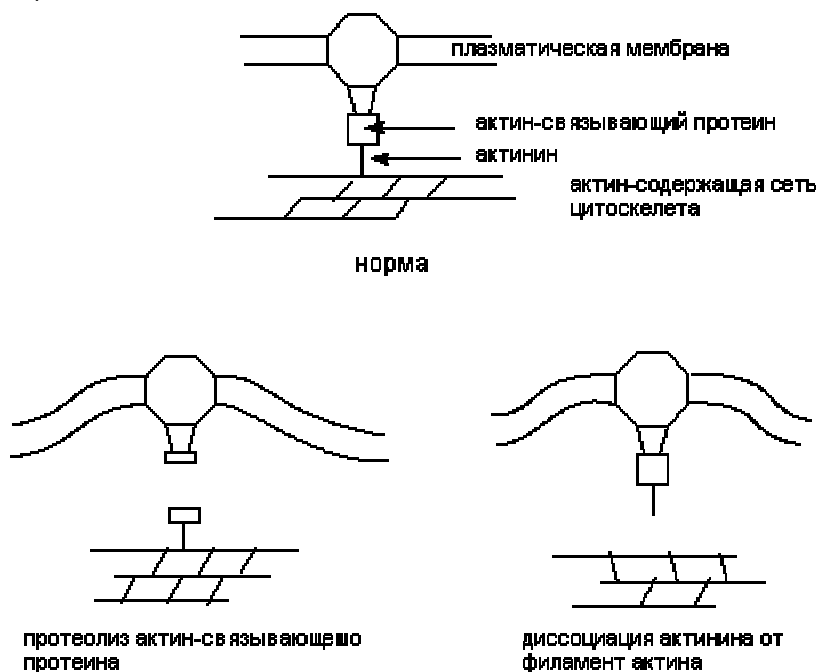


Рисунок 6. Ca^{2+} -зависимые механизмы повреждения цитоскелета клеток, обработанных хинонами

Белки цитоскелета повреждаются не только в результате повышения содержания Ca^{2+} в цитоплазме, но и в результате воздействия токсикантов с иными механизмами токсического действия. Так, непосредственно взаимодействуют с белками цитохалазины, фаллоидин (один из токсинов бледной поганки), а также колхицин (рисунок 7), алкалоиды барвинка (винбластин, винкристин).

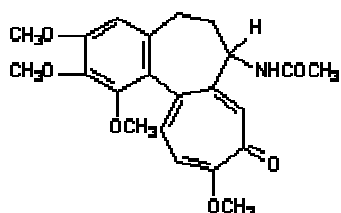


Рисунок 7. Структура колхицина

Действие веществ на тубулин митотического веретена делящихся клеток приводит к нарушению пролиферации последних (особенно клеток системы крови). Колхицин и алкалоиды барвинка в эксперименте, разрушая цитоскелет аксонов нервных клеток, существенно нарушают аксональный ток. Вероятно, аналогичные эффекты могут развиваться и при повреждении цитоскелета веществами, нарушающими внутриклеточный гомеостаз кальция.

2.2. Активация фосфолипаз

Фосфолипазы катализируют гидролиз фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран. Эти ферменты широко представлены в различных клетках. Особое внимание исследователи уделяют фосфолипазам A_2 - группе липаз, основная функция которых состоит в удалении из мембраны поврежденных фосфолипидов, путем высвобождения жирных кислот, подвергшихся перекисидации. Фосфолипазы A_2 являются Ca^{2+} - и кальмодулин-зависимыми ферментами, и, следовательно, чувствительными к повышению кальция в цитоплазме. Стимуляция фосфолипазы кальцием приводит к усилению разрушения фосфолипидов мембран и повреждению клеток. Повышение содержания кальция в цитоплазме, активацию фосфолипазы, ускорение оборота фосфолипидов с последующей гибелью гепатоцитов регистрировали при токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом. Аналогичные изменения наблюдали в миокардиоцитах и гепатоцитах, инкубируемых в условиях аноксии. Хлорпромазин, угнетающий активность фосфолипаз, защищает клетки от повреждающего действия цитотоксикантов, нарушающих внутриклеточный гомеостаз кальция. Эти и другие данные подтверждают значение рассматриваемого механизма в развитии токсического повреждения клеток.

2.3. Активация протеаз

К числу протеаз, с оптимумом активности в области нейтральных значений pH, относятся: АТФ-зависимые, убиквитин-зависимые, Ca^{2+} -зависимые (кальпаины) протеазы. Кальпаины присутствуют практически во всех клетках млекопитающих. Они локализованы вне лизосом, в мембранных структурах в форме неактивного комплекса с ингибиторными протеинами (кальпастатины). Основные функции кальпаинов - репарация цитоскелета и клеточных мембран, разрушение рецепторных протеинов и их обновление, активация некоторых ферментов, участие в процессах митоза.

Идентифицированы две изоформы ферментов - с высоким и низким сродством к кальцию, обе активируемые этим ионом. В эксперименте показано, что стойкая, неуправляемая активация кальпаинов кальцием приводит к повреждению микрофиламентов цитоскелета тромбоцитов, клеточных мембран эритроцитов, гибели клеток печени, миокардиоцитов и т.д.

2.4. Активация эндонуклеаз

При завершении клеткой жизненного цикла активируется процесс "программированной" физиологической клеточной гибели - апоптоз. На ранних этапах в апоптотической клетке проявляются морфологические изменения: "вскипание" клеточной и ядерной мембран, конденсация хроматина. Самым надежным маркером развивающегося процесса является активация эндонуклеаз, ферментов, расщепляющих хроматин на фрагменты - олигонуклеосомы. Активация эндонуклеаз отмечается при гибели тимоцитов и лимфоцитов в облученном организме.

Установлено, что кальций участвует в активации эндонуклеаз. Вызванная глюкокортикоидами фрагментация ДНК тимоцитов и гибель этих клеток связаны со стойким повышением содержания Ca^{2+} в цитоплазме. Одним из постоянных проявлений отравления экспериментальных животных диоксином является атрофия тимуса. Установлено, что при этом в тимоцитах значительно активируется процесс фрагментации ДНК, причем периоду разрушения хроматина предшествует период повышения концентрации кальция в цитоплазме. Возможно, что механизм цитотоксичности ТХДД хотя бы отчасти связан с кальциевой активацией эндонуклеаз.

Активация эндонуклеаз может быть причиной гибели клеток печени, миокарда, почек при отравлениях многими химическими веществами.

3. Активация свободно-радикальных процессов в клетке

3.1. Сущность явления

Многие ксенобиотики, попав во внутренние среды организма, подвергаются метаболическим превращениям (см. раздел "Биотрансформация ксенобиотиков в организме"). Одним из возможных результатов метаболизма является образование реактивных промежуточных продуктов. Взаимодействие этих реактивных метаболитов, либо вторичных продуктов их превращения, с молекулами-мишенями приводит к нарушению клеточных функций. Изменения в клетках могут быть следствием как избирательного повреждения какой либо одной биохимической структуры, так и сочетанного повреждения нескольких структурно-функциональных элементов. Достаточно часто в ходе исследований удается идентифицировать реактивный метаболит, изучить особенности его взаимодействия с молекулами-мишенями, оценить факторы облегчающие и модулирующие эти взаимодействия. Становится все более очевидным, что многие реактивные промежуточные продукты метаболизма ксенобиотиков появляются в форме свободных радикалов, т.е. на внешней орбитали молекулы метаболита находится неспаренный электрон. Центром образования такого радикала в молекуле могут быть атомы углерода, азота, кислорода, серы (рисунок 8):

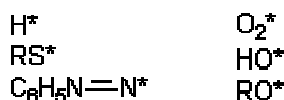


Рисунок 8. Примеры простых свободных радикалов

Хорошо доказана возможность образования радикалов при метаболизме ацетаминофена, адриамицина (и других цитостатиков антрациклиновой группы), нитрофурантиона, параквата, фенилгидразина, четыреххлористого углерода, бенз(а)пирена и т.д. (рис. 9).

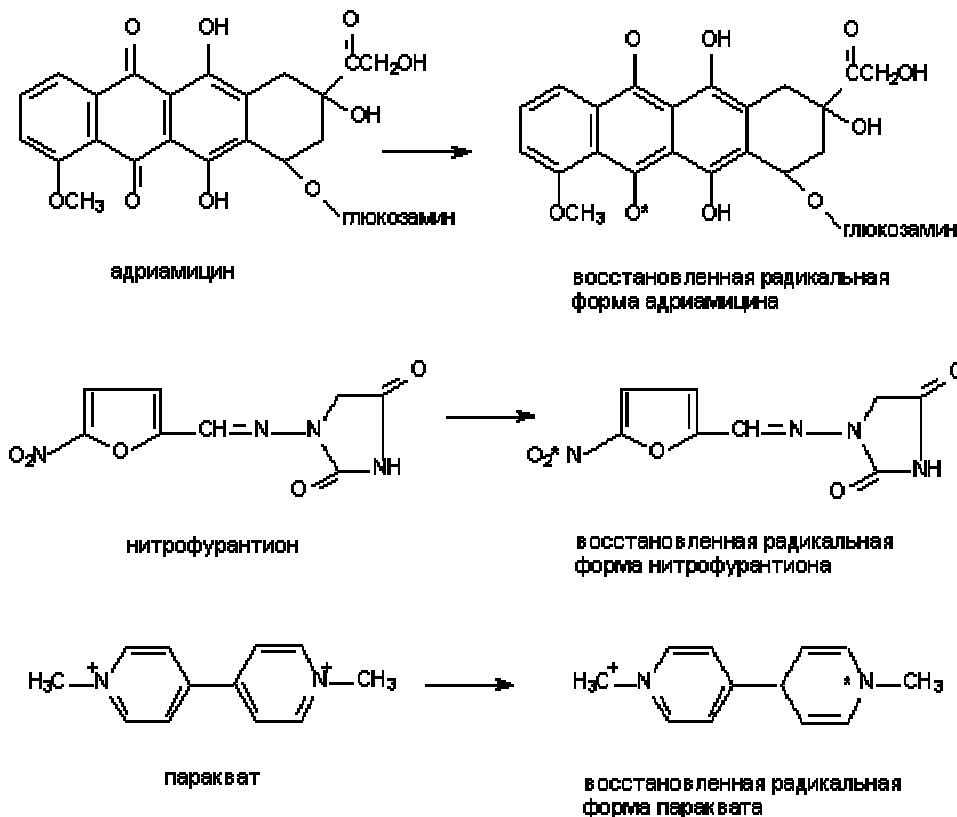


Рисунок 9. Структура веществ, подвергающихся биотрансформации с образованием активных радикалов

Появление неспаренного электрона на внешней орбитали делает метаболит чрезвычайно реакционноспособным. Активные радикалы вступают внутри клетки в многочисленные реакции, в том числе, связываются с ненасыщенными жирными кислотами, отщепляют водород от других молекул, взаимодействуют друг с другом с образованием димеров и т.д.

Свободные радикалы, такие как анионы семихинонов, азо-анионы, анионы нитроароматических соединений, биспиридиновые катионы, могут активировать молекулярный кислород путем одновалентного восстановления последнего до супероксид-аниона ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Супероксид при взаимодействии с водой с большой скоростью дисмутирует с образованием перекиси водорода (H_2O_2) и чрезвычайно активного оксиданта - гидроксильного радикала ($\text{OH}^{\bullet}$). Некоторые металлы с переменной валентностью (медь, железо) способны катализировать в организме реакции такого типа. Эти, так называемые, вторичные радикалы представляют высокую опасность для клетки. Обладая достаточной стабильностью, они взаимодействуют с самыми разными биомолекулами, и не только повреждают их, но и провоцируют цепные реакции дальнейшего образования активных радикалов из липидов, аминокислот, нуклеиновых кислот и т.д. Интегральный эффект такого каскада радикал-иницирующих реакций приводит к значительному нарушению физиологии клетки, её повреждению. На макроскопическом уровне это проявляется некрозом ткани, развитием фиброза в пораженных органах, а в отдаленный период - появлением новообразований (рисунок 10).



Рисунок 10. Активация свободно-радикальных процессов в клетках и их последствия

3.2. Механизмы клеточной антирадикальной защиты

Свободные активные радикалы в норме в клетке образуются постоянно. Так, в процессе метаболизма веществ в гладком эндоплазматическом ретикулуме флавопротеины, а в митохондриях окислительные ферменты цепи дыхательных ферментов, постоянно продуцируют некоторое количество супероксид-иона ($O_2^{\cdot-}$) и перекиси водорода (H_2O_2). Однако содержание в клетке этих и других радикалов жестко контролируется широким спектром биохимических инструментов антирадикальной защиты, включая супероксиддисмутазу, каталазу, GSH-пероксидазу, GSSG-редуктазу, α -токоферол, β -каротин, аскорбиновую кислоту, восстановленный глутатион, мочевую кислоту. Отдельные элементы системы защиты действуют комплексно и потенцируют эффект друг друга. Они локализируются либо в гидрофобных, либо гидрофильных компартментах клеток (например, токоферол - липофил, глутатион - гидрофил).

Механизмы антирадикальной защиты включают как ферментативные, так и неферментативные процессы. Самым простым примером некаталитического разрушения радикалов является их гидролиз, лежащий в основе нейтрализации многих водорастворимых продуктов, например, ацилгалидов, эпоксидов, карбокатионов, изоцианатов, эписульфониум-иона и т.д.

Наиболее важной неферментативной реакцией "обезвреживания" радикалов является их взаимодействие с биологическими антиоксидантами, такими как витамин Е, глутатион, витамин С. В результате такого взаимодействия образуются неактивные вещества, прерывая каскад "наработки" свободных радикалов.

Гомеостаз в клетке поддерживается за счет равенства скоростей образования и связывания радикалов. В случае повреждения механизмов защиты клеток, либо активации процессов образования радикалов, превосходящих по интенсивности возможности защиты, или даже разрушающих эти механизмы, развивается поражение клетки. Так, интоксикация преимущественным пульмонотоксикантом паракватом приводит к некоторому снижению содержания глутатиона в печени. Предварительное связывание глутатиона диэтилмалеатом приводит к тому, что паракват приобретает свойства преимущественного гепатотоксиканта. Таким образом, резерв глутатиона в клетке имеет особое значение для обеспечения её антиоксидантной защиты.

Хотя глутатион может взаимодействовать с многочисленными субстратами и неферментативно, наличие в тканях фермента глутатион-S-трансферазы (GST) значительно ускоряет течение процесса, повышает его эффективность. Множественность форм GST, их широкая субстратная специфичность, высокий уровень активности в различных тканях делают систему глутатионтрансфераз наиболее универсальной и значимой для связывания активных метаболитов.

Глутатион и селен-зависимые глутатионпероксидазы восстанавливают перекись водорода и другие гидроперекиси до менее токсичных спиртов и воды. Глутатион-дисульфид, образующийся в ходе этой реакции, подвергается обратному восстановлению до глутатиона с помощью НАДФН-зависимой глутатионредуктазы. Активность глутатионредуктазы ингибируют изоцианат-содержащие продукты метаболизма нитрозомочевины.

Два других фермента, имеющих большое значение для детоксикации свободных радикалов, это супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Первый из ферментов катализирует преобразование двух супероксидных радикалов в молекулу кислорода и перекись водорода. Обнаруживаемая во всех тканях СОД содержит в структуре активного центра ионы Cu , Zn , Mn . Образующаяся перекись водорода разрушается с помощью каталазы или глутатионпероксидазного цикла.

3.3. Механизмы активации ксенобиотиков и образования свободных радикалов

Ксенобиотики могут трансформироваться в радикалы как ферментативным, так и неферментативным путем. Например известны токсиканты, специфично повреждающие тела дофаминергических и серотонинергических нейронов ЦНС (6-гидроксидофамин и 5,7-дигидрокситриптин), β -клетки поджелудочной железы (аллоксан) и др., легко подвергающиеся аутоокислению с образованием активных радикалов (рисунок 11). Параллельно с самоокислением молекулы подобных ксенобиотиков осуществляется продукция реактивных форм кислорода.

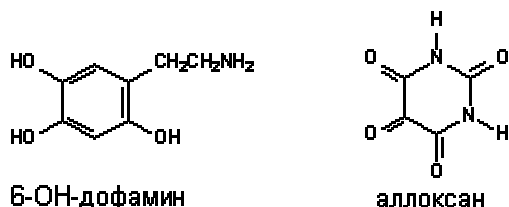


Рисунок 11. Вещества, инициирующие свободно-радикальные процессы путем спонтанного окислительно-восстановительного превращения молекулы в клетках

Ионы металлов с переменной валентностью (медь, железо) облегчают процесс аутоокисления, а восстановители, например аскорбиновая кислота, обеспечивают регенерацию исходной формы ксенобиотика. Таким образом, формируется неферментативный окислительно-восстановительный цикл токсиканта. SH-соединения, никотиновая кислота в опытах *in vitro* останавливают процесс.

Ультрафиолетовые лучи активируют превращение (фотоактивация) накапливающихся в коже сульфаниламидных препаратов, 4-аминобензойной кислоты (рисунок 12) и др. в свободно-радикальную

форму, которая, как полагают, ответственна за развитие фототоксических и фотоаллергических процессов у лиц, принимающих эти лекарства.

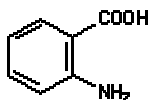


Рисунок 12. Структура о-аминобензойной (антраниловой) кислоты

При лечении псориаза псораленом и его аналогами одновременно назначаемое длинноволновое ультрафиолетовое облучение (320 - 400 нм) кожи пациентов активирует превращение препаратов в свободно-радикальную форму. Активные радикалы повреждают измененные эпидермальные клетки, образуя фотоаддукты с пиримидиновыми основаниями их ДНК. Наступает ремиссия болезни, но побочным неблагоприятным эффектом является развитие в последующем меланом и сквамозноклеточной карциномы, так как в процессе лечения изменяется генетический код и некоторой части здоровых эпидермоцитов.

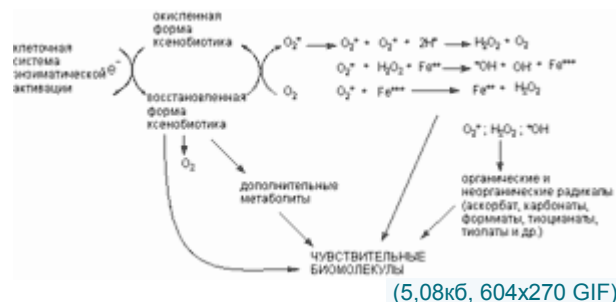


Рисунок 13. Окислительно-восстановительный цикл трансформации ксенобиотиков, сопровождающийся активацией свободно-радикальных процессов в клетке. O_2^* - супероксидный анион; $*OH$ - гидроксильный радикал

Однако основной путь образования свободных радикалов в клетке - ферментативный метаболизм ксенобиотиков (рисунок 13). Способность веществ метаболизировать с образованием радикалов обычно связывают с величиной их одноэлектронного восстановительного потенциала. Соединения с высоким сродством к электронам предрасположены к их акцепции и легко восстанавливаются биологическими системами, в то время как вещества с низким сродством к электрону восстанавливаются биосистемами плохо. Вещества, не вступающие в окислительно-восстановительный цикл не являются источниками образования свободных радикалов в клетках. Например, хлороформ ($CHCl_3$) является слабым источником прооксидантных процессов из-за низкой способности к одноклеточному восстановлению. Напротив, четыреххлористый углерод (CCl_4) легко метаболизирует в трихлорметилный радикал ($*CCl_3$), способный отнимать водородные атомы от ненасыщенных жирных кислот, и является инициатором перекисного окисления липидов. Кроме того $*CCl_3$ связывается с липидами митохондриальных мембран, активирует кислород, который в свою очередь взаимодействует с макромолекулами (белками, нуклеиновыми кислотами). Восстановление четыреххлористого углерода до трихлорметилового радикала катализируется комплексом оксидаз смешанной функции, состоящим из флавопротеинов, НАДФН-зависимой Р-450 релуктазы, НАДФН-цитохром b_5 редуктазы и оксидазы цитохрома Р-450.

В процессе метаболизма адриамицина, митомидина С, нитрофурантиона, параквата и некоторых других ксенобиотиков образование промежуточных свободных радикалов идет при участии одной лишь НАДФН-зависимой цитохром Р-450-редуктазы. При этом образовавшиеся радикалы удается выявить только в жестких анаэробных условиях. В присутствии кислорода восстановленные радикалы быстро окисляются до исходной формы, при этом электроны переходят с радикала на молекулу кислорода, что приводит к образованию супероксидного аниона и других его реактивных форм и также активации свободно-радикальных процессов.

Очевидно, что если такой химический окислительно-восстановительный цикл превращения ксенобиотика будет продолжаться в течение достаточно длительного времени, механизмы клеточной защиты могут истощиться и произойдет повреждение клетки. Такая возможность вполне вероятна, поскольку известно, что супероксид-анион инактивирует супероксиддисмутазу, превращает аскорбиновую кислоту и токоферол, а гидроксильный радикал - угнетает глутатионпероксидазу.

Помимо гладкого эндоплазматического ретикула оксидазы смешанной функции обнаружены в мембране ядра клетки. Поскольку эта мембрана окружает хроматин, активация здесь ксенобиотиков и образование свободных радикалов представляет угрозу ДНК, либо вследствие прямого взаимодействия метаболитов с нуклеиновыми кислотами, либо опосредованно, путем образования реактивных метаболитов кислорода или продуктов перекисного окисления липидов - компонентов ядерной мембраны.

Помимо упомянутых выше, в образовании активных радикалов могут принимать участие и другие ферменты. Так, ксантиноксидаза участвует в метаболизме адриамицина, нитрофурантиола, параквата до продуктов их одноэлектронного восстановления. Тирозиназа, в большом количестве содержащаяся в клетках меланом участвует в образовании многих реактивных метаболитов. Цитоплазматическая

диафораза и простогландинсинтетаза облегчают формирование окислительно-восстановительного цикла трансформации параквата, ацетаминофена, бенз(а)пирена и т.д.

Таким образом, можно выделить несколько ключевых моментов, имеющих особое значение для реализации повреждающего действия ксенобиотиков на клетку, путем активации свободно-радикальных процессов:

1. Образовавшись, радикал - промежуточный продукт может иметь несколько способов дальнейшего превращения, соотношение между которыми зависит от степени оксигенации клеток (тканей);
2. Усиленное образование свободных радикалов может начаться в нескольких независимых локусах клетки (эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, ядре, цитоплазме);
3. Активация ксенобиотиков до активных радикалов может стать следствием последовательного действия на токсикант нескольких ферментов;
4. Возможно неэнзиматическое образование свободных радикалов. Превращение одного из ксенобиотиков может активировать превращение другого. Так, блеомицин повреждает ДНК в присутствии митомицина С и т.д.

3.4. Биологические последствия активации свободно-радикального процесса в клетке

В результате образования свободных агрессивных радикалов повреждаются самые разные структуры-мишени: липидные мембраны, свободные аминокислоты, полисахариды, нуклеиновые кислоты, рецепторные молекулярные комплексы, транспортные протеины. Итогом такого действия является изменение функционального состояния и гибель клетки, мутация её генетического кода, что, как уже указывалось, на уровне макроорганизма приводит к явлению массивной клеточной гибели (некроз), разрастанию соединительной ткани в органе (фиброз), мутагенезу, развитию новообразований в отдаленные периоды после действия токсиканта.

Характер повреждающего действия активных радикалов во многом определяется их стабильностью и расстоянием, на которое они могут мигрировать от места своего образования. В соответствии с этими признаками реактивные метаболиты могут быть разделены на несколько групп.

Наивысшей реакционной способностью обладают промежуточные продукты, образующиеся в ходе так называемого "суицидного метаболизма". Эти продукты разрушают образующие их ферменты. К числу "суицидных" ингибиторов Р-450 относятся, в частности, винилгалогены, некоторые олифены, дигидропиридины, циклопропильные соединения.

Следующими по реакционной способности являются вещества, покидающие область локализации фермент-субстратного комплекса, но активно взаимодействующие с другими протеинами. Примерами веществ, действующих подобным образом, являются: ацилгалидный метаболит хлорамфеникола, электрофильный радикал серы, отщепляющийся в ходе метаболизма паратиона и т.д.

Менее реакционноспособными являются продукты, мигрирующие в другие локусы клеток и даже за их пределы. Эта группа метаболитов включает большинство промежуточных продуктов. Подобные радикалы способны проникать через биологические мембраны. Это свойство присуще метаболитам бенз(а)пирена, бромбензола, диметилнитрозамина, винилхлорида, трихлорэтилена и т.д.

Еще меньшей реакционной способностью обладают метаболиты, способные выходить за пределы органов, в которых они образуются, и повреждать другие органы и ткани. Примерами этой группы метаболитов являются: метаболит гексана - 2,5-гександион, вызывающий периферическую нейропатию, пирролизидиновых алкалоидов - пирролы, мигрирующие из печени в легкие, где действуют на эндотелий сосудов, эпоксиды 4-винилциклогексана, вызывающие поражение яичников.

Механизмы токсического действия свободных радикалов представлены на рисунке 14.

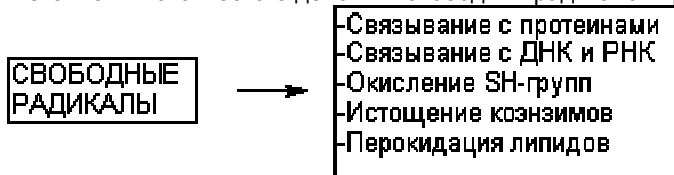


Рисунок 14. Некоторые токсические эффекты свободных радикалов

4. Повреждение мембранных структур

4.1. Основные свойства и функции биологических мембран

1. Плазматическая мембрана. Содержимое клетки ограничено от окружающей среды плазматической мембраной. Благодаря этому поддерживаются условия, позволяющие структурным элементам клетки выполнять присущие им функции. С другой стороны через плазматическую мембрану осуществляется непрерывный транспорт различных молекул, чем и обеспечивается обмен веществом между средой и клеткой. Например плазматическая мембрана печеночной клетки имеет площадь около 8000 мкм². Такая большая площадь контакта с окружающей средой полностью обеспечивает обмен веществ клетки. Толщина плазматической мембраны составляет около 10 нм. Наконец в мембране локализуются белковые структуры, формирующие ионные каналы, рецепторы для физиологически активных веществ, обеспечивающие восприятие сигналов, регулирующих биологическую активность клетки (см. ниже).

Мембрана образована двумя слоями молекул липидов, гидрофобные части которых направлены друг к другу, а гидрофильные в сторону окружающей и внутренней среды клетки. Основные группы липидов - фосфолипиды (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, сфингомиелин), гликолипиды, нейтральные липиды (холестерол и т.д.). Молекулы липидов легко диффундируют в липидных слоях. Время нахождения отдельной молекулы на неизменной позиции составляет 10⁻⁸ - 10⁻⁹ сек. Обмен молекулами между слоями осуществляется редко. Распределение молекул различного строения между слоями асимметрично.

В мембрану встроены белковые молекулы, которые часто пронизывают всю ее толщу, либо погружаются на различную глубину, локализуясь на внешней или внутренней стороне. Углеводный компонент клеточной мембраны представлен главным образом гликопротеинами. Они располагаются на внешней поверхности мембраны. Мембраны различных клеток существенно различаются по своему строению и функциям. В клеточной мембране печени обнаруживается около 20 энзимов. Активность энзимов во многом зависит от липидного состава мембран. Особыми свойствами обладают возбудимые мембраны нервной, мышечной и железистой тканей. Изменение их свойств в ответ на стимул являются важнейшим звеном цепи биологических процессов, лежащих в основе формирования реакции организма на внешние и внутренние раздражители.

Плазматические мембраны, несмотря на преимущественно липидный состав, способны пропускать низкомолекулярные водорастворимые вещества, так как содержат поры со средним диаметром 0,7 - 1,0 нм. Полагают, что поры, заполненные водой, сформированы белковыми молекулами. Объем воды, содержащейся в мембранах, составляет от 30 до 50% от общего их объема. Максимальная молекулярная масса водорастворимого вещества, способного проникать через плазматические мембраны, - около 200 дальтон.

Клеточные мембраны чрезвычайно динамичный элемент. Их строение изменяется в соответствии с условиями окружающей среды и потребностями клетки. Увеличение площади поверхности растущей клетки осуществляется за счет слияния клеточной мембраны с синтезируемыми в цитоплазме (аппарат Гольджи) микровезикулами. Этот же процесс обнаруживается и у не растущих секреторных и нервных клеток, которые путем отшнуровывания микровезикул выделяют в окружающую среду биологически активные вещества (гормоны, нейромедиаторы).

Известен и противоположный процесс - поступления необходимых веществ из окружающей среды в клетку, путем захвата фрагментом клеточной мембраны субстрата, погружением его в цитоплазму и отшнуровывания от остальной мембраны. Слияние мембраны с везикулами и их отшнуровывание обеспечивают динамичность её состава.

Важными свойствами клеточной мембраны является её электрический заряд и электрическая проводимость. Наружная сторона мембраны клеток в состоянии покоя заряжена положительно. Полярность мембраны определяется отчасти асимметричностью липидных слоев, отчасти наличием в её составе белковых молекул и гликопротеинов. Особое значение имеет градиент концентрации ионов по обе стороны мембраны, поддерживаемый благодаря энергозатратным процессам. Таким образом свойства мембраны и обмен веществ в клетке тесно связаны. Вещества, вмешивающиеся в обмен липидов, существенно влияют на свойства биологических мембран.

2. Цитоплазматические мембраны. Внутри клеток имеются многочисленные мембранные структуры, образующие эндоплазматический ретикулум, мембрану ядра клетки, митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы. Эти структуры образованы двумя слоями биологической мембраны. Между этими слоями имеется пространство толщиной около 10 нм. Общая толщина внутриклеточных мембран - около 25 нм.

Мембрана клеточного ядра представляет собой специализированный отдел эндоплазматического ретикулума. Пространство, находящееся между двумя листками мембраны, по-видимому сообщается с межклеточным пространством. Этим путем токсикианты могут проникать непосредственно в ядро, минуя цитоплазму, что прослеживается, в частности, при поступлении в клетку акридиновых красителей. Ионы Na^+ также поступают в ядро из экстрацеллюлярной жидкости по эндоплазматическому ретикулуму. Наличие пор в ядерной мембране диаметром 50 - 100 нм обеспечивает обмен веществом между ядром и цитоплазмой. Даже макромолекулы (РНК, энзимы и др.) проходят через мембрану путем простой диффузии.

Цитоплазматические мембраны служат организующим субстратом для объединения в единый комплекс ряда энзиматических систем. Например, мембраны митохондрий представляют собой сложную мозаику взаимодействующих энзиматических групп. Складчатость мембран способствуют увеличению площади их поверхности и тем самым интенсификации обменных процессов. Общая площадь мембран митохондрий печеночной клетки оценивается в среднем в 29000 мкм^2 . В качестве матрикса для энзимов выступают и другие мембранные структуры: гладкий и шероховатый эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи. Эти структуры участвуют в обмене веществ. Так, на рибосомах, локализующихся на мембранах шероховатого ретикулума, осуществляется синтез белка; энзимы гладкого эндоплазматического ретикулума - важнейший элемент метаболизма ксенобиотиков; аппарат Гольджи - основная секреторная структура клетки.

Токсическое действие многих веществ сопряжено с их влиянием на состояние мембранных структур. Оно может быть прямым и опосредованным. Наиболее вероятными механизмами **опосредованного** повреждения биологических мембран при интоксикациях являются:

- активация перекисного окисления липидов;
- активация фосфолипидной активности.

4.2. Действие токсикиантов на мембраны

4.2.1. Прямое действие на мембраны

Возможно действие ксенобиотиков **непосредственно** на липидный бислой или белковые компоненты биомембран. Развивающиеся вследствие этого эффекты могут быть как неспецифическими (отсутствие строгой зависимости между структурой токсикианта и развивающимся эффектом), так и строго специфическими. Специфичность является следствием действия токсикиантов на энзимы и рецепторные белковые комплексы (см. выше). Часто действие носит смешанный "полуспецифический" характер.

В результате неспецифического действия многочисленных токсикиантов (бензола, толуола, динитробензола, хлороформа, мылов, сапонинов, смачивающих веществ, тяжелых металлов и других денатурирующих агентов) может нарушаться структурная целостность мембран, что приводит к деформации, лизису клетки и её гибели. При действии таких веществ на мембраны эритроцитов развивается гемолиз.

Действуя в малых дозах на возбудимые мембраны нервных клеток ЦНС, органические растворители, спирты вызывают седативно-гипнотический. В действии этих соединений, помимо неспецифических, прослеживаются и отчетливые специфические механизмы. Так, вещества со свойствами "неэлектролитов" накапливаясь в мембранах, одновременно изменяют их проницаемость для ионов Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Cl^- (рис. 15).

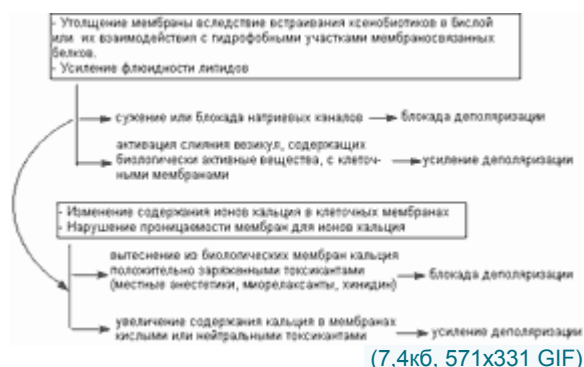


Рисунок 15. Возможные механизмы непосредственного действия токсикантов на биологические мембраны

Многие токсиканты избирательно действуют на мембраносвязанные ферменты, транспортные системы, рецепторные комплексы к биологически активным веществам. К числу таких в частности относятся гликозиды, агонисты и антагонисты нейромедиаторов и гормонов, блокаторы ионных каналов и многие другие.

4.2.2. Активация перекисного окисления липидов

Благодаря ненасыщенности углеводородной цепи жирных кислот и непрочности связи аллильных атомов водорода с метиленовыми группами, фосфолипиды клеточных мембран наиболее предрасположены к реакции окисления, инициируемой свободными радикалами, образующимися в клетке. Этому способствует и то обстоятельство, что молекулярный кислород в 7 - 8 раз лучше растворяется в липидной фазе, чем в воде и гидрофильных сайтах клетки. Существенная активация процесса образования свободных радикалов при химических воздействиях приводит к усилению перекисного окисления липидов и повреждению биологических мембран. Процесс перекисного окисления усиливается вторичным образованием из липидов высоко реакционно-способных и легко диффундирующих карбонильных радикалов, которые могут обуславливать неблагоприятные процессы, развивающиеся в клетках далеко за пределами сайта своего образования не только клетки, но и органа.

Не смотря на многочисленные исследования до настоящего времени нет четких представлений о значении активации перекисного окисления липидов для развития токсического процесса, инициируемого даже такими мощными прооксидантами, как паракват, адриамицин, нитрофурантион и т.д.

Для развития патологического процесса важно, чтобы окислительно-восстановительный цикл превращения ксенобиотика "работал" достаточно долго, с тем, чтобы произошло истощение механизмов антирадикальной защиты клетки (см. выше). Поскольку непродолжительная инициация окислительно-восстановительного цикла трансформации ксенобиотика может стимулировать систему антиоксидантной защиты, при интоксикациях некоторыми прооксидантами возможно развитие парадоксальной реакции, а именно - угнетение процесса окисления липидов в тканях.

Для развития процесса важна степень насыщенности тканей кислородом. В полностью аэробной среде образующийся из ксенобиотика восстановленный метаболит подвергается быстрому обратному окислению. При этом значительно возрастает количество радикалов в виде вторичных активных форм кислорода. Поэтому хорошо снабжаемые кровью и насыщенные кислородом ткани (легкие, сердце, головной мозг) являются более чувствительными к повреждающему действию прооксидантов.

4.2.3. Активация фосфолипаз

Важным механизмом повреждения биологических мембран является гидролиз фосфолипидов, наступающий вследствие активации фосфолипаз (особенно фосфолипазы A_2). Активация фермента происходит в результате прямого или опосредованного (гипоксия, нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция и т.д.) действия многих токсикантов на клетки организма (рисунок 16).

Результатом действия фосфолипазы A_2 на липиды биологических мембран является высвобождение арахидоновой кислоты. Последняя является, в свою очередь, субстратом фермента циклооксигеназы. Превращение арахидоновой кислоты под влиянием фермента приводит к образованию эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов, простациклинов) - веществ, активирующих воспалительные процессы в тканях. Под влиянием другого фермента, 5-липоксигеназы, арахидоновая кислота превращается в лейкотриены и эйкозатетраеновые кислоты. Эти вещества являются хемотаксантами нейтрофилов, веществами, регулирующими сосудистую проницаемость.

Еще одним продуктом ферментативного расщепления липидов мембран является фактор агрегации тромбоцитов (ФАТ) - клон биологически активных веществ (более 150 аналогов) близкого строения. ФАТ чрезвычайно токсичные вещества (LD_{50} для кролика - 0,005 мг/кг; для собаки - 0,07 мг/кг), вызывающие при внутривенном введении шокотипное состояние (острый, некупируемый коллапс, бронхоспазм и др.).



(8,23кб, 595x576 GIF)

Рисунок 16. Образование биологически активных веществ при участии фосфолипаз, активируемых в ходе токсического процесса

4.3. Биологические последствия действия токсикантов на мембраны

Вещества, действующие на клеточные мембраны, как правило, изменяют следующие их параметры:

1. Проницаемость. Изменяется поступление субстратов в клетки и отток продуктов метаболизма. Действие проявляется изменением интенсивности обмена веществ в клетке, нарушением электрических свойств мембран.

2. Электрический заряд. Нарушается возбудимость возбудимых клеток.

3. Структурная организация. Нарушается структура клетки, возможна клеточная гибель.

Кроме того, патохимические процессы, проходящие в мембране, приводят к образованию целого ряда биологически активных веществ (см. выше), участвующих в патогенезе токсического процесса.

Поскольку система внутриклеточных мембран также является мишенью для действия многочисленных токсикантов, среди них можно выделить группу митохондриальных ядов, повреждающих различные звенья процессов биоэнергетики, веществ действующих на шероховатый (нарушение процессов синтеза белка) и гладкий эндоплазматический ретикулум (индукция или угнетение метаболизма ксенобиотиков), лизосомальные мембраны (аутолиз клеток) и др.

5. Повреждение процессов синтеза белка и клеточного деления

Деление, рост, дифференциация клеток, их мутация и малигнизация - процессы, неразрывно связанные с обменом нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и синтезом белка. Эти процессы чрезвычайно сложны и включают множество этапов. Действие веществ, нарушающих нуклеиновый обмен и белковый синтез, в этой связи, весьма разнообразно (таблица 3). Подавляющее большинство механизмов токсического повреждения изучено в опытах *in vitro* на изолированных быстро размножающихся клетках, а порой даже на прокариотах. Вот почему среди приводимых в качестве примеров веществ, преобладают цитостатики, антибиотики и красители.

Таблица 3. Возможные точки приложения повреждающего действия токсикантов на процессы синтеза белка и нуклеиновых кислот.

1. Синтез ДНК. Репликация

- изменение структуры (конформации) ДНК
- нарушение процесса полимеризации ДНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение ДНК
- нарушение процесса репарации ДНК
- нарушение механизмов регуляции синтеза ДНК

2. Синтез РНК. Транскрипция

- нарушение полимеризации РНК
- нарушение процессии РНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение РНК
- нарушение механизмов регуляции синтеза РНК

3. Синтез белка. Трансляция

- нарушение организации и процессии рибосом и полисом
- нарушение полимеризации аминокислот
- нарушение образования аминоацетил-tРНК
- нарушение формирования конформации белка и его третичной и четвертичной структур
- нарушение механизмов регуляции трансляции

5.1. Синтез ДНК. Репликация

Как указывалось ранее, нарушение репликации может явиться следствием химического взаимодействия ДНК с токсикантами. Однако возможны и иные механизмы повреждения (таблица 4).

Таблица 4. Механизмы действия ингибиторов синтеза нуклеиновых кислот и белков

>Механизм действия	>Примеры
Ковалентное связывание с ДНК	иприт, циклофосфан
Индукция одонитевых разрывов	этиленоксид, этиленимин
Интеркаляция	профлавин, этидиумбромид
Нековалентное связывание с ДНК	актиномицин
Взаимодействие с РНК-полимеразой	α -аманитин
Взаимодействие с ревертазой	стрептоварицин
Взаимодействие с ДНК-полимеразой	эдеин, налидиксовая кислота
Влияние на синтез нуклеотидов	фаллоидин, цитозин-арабинозид
Нарушение обмена фолиевой кислоты, пириимидина, пурина	аминоптерин, аминопурин, азогуанин, азочитозин
Угнетение образования аминокетил-tРНК	6-флюоротриптофан, триптазан, порвалин

1. Угнетение активности ДНК-полимераз и других ферментов синтеза.

Эдеин и налидиксовая кислота угнетают активность ДНК-полимераз, а N-диметилтрифампицин подавляет РНК-зависимый синтез ДНК (ингибитор ревертазы). Соединения, нарушающие конформацию ДНК, могут подавлять реакцию её полимеризации, не изменяя активность соответствующих энзимов.

2. Влияние на синтез дезоксирибонуклеотидов.

Элементарной единицей ДНК являются дезоксирибонуклеотидтрифосфаты. Их синтез осуществляется в организме и может быть прерван на различных этапах (синтез пуринов, пириимидинов, нуклеотидов). Вещества, нарушающие синтез нуклеотидов, называются антиметаболитами. В качестве антиметаболитов могут выступать различные аналоги естественных предшественников нуклеотидов, которые вытесняют их из связи с энзимами. Частично эти аналоги перерабатываются и встраиваются в структуру нуклеиновой кислоты (2-аминопурин, 5-флюороурацил), при этом нарушается строение и функция последней. Некоторые вещества (нуклеозидные антибиотики - кордицепин) блокируют встраивание дезоксирибонуклеотидов в молекулу ДНК.

3. Влияние на регуляцию синтеза ДНК.

В качестве регуляторов репликации, у эукариотов выступают цитоплазматические факторы - специальные белки, ответственные за процесс инициации. Их проникновение в ядро показано экспериментально. Определенную роль играют также гуморальные факторы роста, гормоны. Так, кортикоиды и глюкокортикоиды усиливают синтез ДНК.

4. Действие на разрушение ДНК и её репарацию.

Эндонуклеазы и лигазы - энзимы, участвующие в репарации мутированных или неправильно синтезированных молекул ДНК. Так, поврежденный нуклеотид может быть вырезан из молекулы ДНК (эндонуклеазы), а на его место встроено неповрежденный фрагмент (лигазы). Резкое повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , наблюдающееся при острой интоксикации некоторыми токсикантами (см. выше), сопровождается активацией эндонуклеаз и разрушением ДНК.

Ингибиторы лигаз угнетают процессы репарации ДНК и повышают частоту мутаций (например, бензамид и его производные).

5. Другие механизмы действия.

Помимо повреждения ДНК и ферментов, участвующих в её синтезе и репарации, существуют и другие способы токсического нарушения процесса репликации. Так, в фазе приготовления к митозу возможно повреждение центриолей и синтеза митотического аппарата, образующего клеточное веретено. Веретено формируется SH-содержащими протеинами, которые благодаря -S-S- связям образуют нитевидные структуры. Естественно, токсиканты, взаимодействующие с SH-группами способны повреждать митотические веретена. Примерами таких токсикантов являются мышьяк, ртуть и их соединения, колхицин, подофилотоксин и др.

5.2. Синтез РНК. Транскрипция

В клетках определяются несколько форм РНК. Особое функциональное значение имеют: м-РНК, как матрица для синтеза полипептидов, t-РНК - молекула-переносчик аминокислот на рибосомы для их последующей полимеризации, r-РНК - составная часть рибосом. Возможны следующие механизмы повреждения РНК:

1. Нарушение конформации и свойств ДНК (см. выше).

На поврежденной ДНК синтезируются измененные молекулы РНК, не свойственные организму.

2. Угнетение активности РНК-полимераз.

Ингибитором РНК-полимеразы является, в частности, аманитин - яд бледной поганки.

3. Влияние на РНК-процессинг.

Это явление изучено недостаточно. Полагают, что кордицепин (см. выше) ингибирует начало процесса синтеза РНК.

4. Угнетение синтеза нуклеотидов.

Как уже указывалось, целый ряд веществ, так называемых антиметаболитов, способен угнетать синтез пуриновых и пириимидиновых оснований и нуклеотидов. Такие вещества, прежде всего, нарушают обмен РНК, находящихся в состоянии активного обращения. Возможно извращение синтеза РНК вследствие встраивания в молекулу "ложных" нуклеотидов (5-бромурацил, 8-азагуанин).

5. Нарушение регуляции синтеза РНК.

Синтез РНК контролируется целым рядом факторов. Большая часть генома находится в репримированном состоянии, т.е. блокирована специальными белками (гистонами) и не участвует в процессе транскрипции. Активация этих отрезков молекулы ДНК осуществляется низкомолекулярными хромосомными РНК, цитоплазматическими протеинами и другими факторами (например гормонами). Так,

стероиды (эстрогены, андрогены, кортикостероиды) стимулируют синтез РНК и, следовательно, белка. Аналогичные эффекты описаны для инсулина и глюкагона. Многочисленные синтетические соединения (барбитураты, толбутамид, бензпирен, метилхолентрен, диоксин и т.д.) вызывают индукцию синтеза микросомальных энзимов, ответственных за метаболизм ксенобиотиков. По всей видимости, они взаимодействуют с репрессорными протеинами, вызывают деприми́рование ДНК и активируют тем самым синтез РНК и соответствующих белков.

5.3. Синтез белков. Трансляция

Объединение аминокислот в полипептидную цепь осуществляется на рибосомах или полисомах. Токсиканты могут вмешиваться в процессы синтеза белка и на этом этапе. Возможны следующие механизмы токсического действия:

1. Нарушение конформации рибосом и организации полисом.

Этот механизм экспериментально показан для целого ряда антибиотиков, действующих на рибосомы и полисомы бактериальных клеток.

2. Угнетение процесса образования полипептидной цепи.

Многие антибиотики вмешиваются в процесс синтеза белка на рибосомах бактерий. При этом выявляются нарушения:

- процессов считывания информации с кода мРНК;
- образования формилметионил-tРНК и повреждение тем самым инициации синтеза полипептидной цепи;
- образования пептидных связей (таков, в частности, один из механизмов токсического действия дифтерийного токсина);
- затруднение транслокации пептидил-tРНК и мРНК.

3. Угнетение синтеза и формирования аминоацил-tРНК.

Необходимым этапом полимеризации аминокислот и образования полипептидной цепи является их активация, путем образования комплекса с tРНК (образование аминоацил-tРНК). На первом этапе происходит взаимодействие аминокислот с АМФ (активация), и лишь затем образуется связь с РНК. Введение в среду, где инкубируется экспериментальный материал (делящиеся клетки, бактерии), ненормальных аминокислот, например D-форм или таких как этионин, тиенилаланин, алкилвалин и др., приводит к угнетению активности синтезирующих энзимов, а следовательно и процесса синтеза белка в целом.

4. Нарушение конформации синтезируемой белковой молекулы.

Синтезированная полипептидная цепь спонтанно формирует свою третичную структуру. Отчасти процесс проходит при участии различных кофакторов. Угнетение синтеза таких кофакторов или поступление в организм их неактивных аналогов (антивитаминов) нарушает процесс.

5. Влияние на регуляцию процесса трансляции.

Имеются данные о том, что процесс трансляции, особенно его инициация и терминация, подлежат контролю. Отвечают за это особые виды регуляторных РНК и протеинов, а также механизмы контролирующие уровень цАМФ в клетках. Образованию полисом способствует повышение содержания эстрадиола; инсулин активирует процесс инициации синтеза белка на малых субъединицах рибосом. Витамин К блокирует на уровне трансляции образование протромбина и других факторов свертывания крови и т.д. Усиление или угнетение рассмотренных процессов может лежать в основе токсического действия некоторых веществ.

5.4. Биологические последствия действия токсикантов на нуклеиновый обмен и синтез белка

Токсикологическое значение веществ, вмешивающихся в процесс синтеза белка и клеточное деление, обусловлено их цитостатическим, иммуносупрессорным, мутагенным, тератогенным и канцерогенным действием (см. соответствующие разделы).

Повреждающее действие химических веществ на ДНК называется генотоксическим. Наиболее чувствительны к генотоксическому действию клетки, способные к делению (эмбриональные, герменативные, костного мозга, эпителия почек, кожи, слизистой желудочно-кишечного тракта и т.д.). Последствия повреждения ДНК зависят от дозы токсиканта. Высокие дозы вызывают цитостатический эффект (гибель пула делящихся клеток), более низкие - канцерогенное, тератогенное, мутагенное действие. В основе канцерогенного, тератогенного, мутагенного действия лежат по сути общие механизмы, однако превращение конкретного вещества в канцероген, тератоген, мутаген зависит от целого ряда условий (таблица 5).

Таблица 5. Условия воздействия генотоксиканта, определяющие форму развития токсического процесса: канцерогенеза, мутагенеза, тератогенеза

>Токсический процесс	>Чувствительная ткань	>Оптимальное время воздействия	>Продолжительность действия и доза
Канцерогенез	Любая пролиферирующая ткань	Неопределенное; любая стадия митоза	Обычно хроническое, беспороговое
Мутагенез	Герменативные клетки	Все стадии гаметогенеза	Острое и хроническое, беспороговое
Тератогенез	Все зародышевые ткани	Наивысшая - на ранних стадиях дифференциации тканей	Только острое, в дозах выше пороговых

Существует представление, согласно которому проникновение в организм даже единственной молекулы генотоксиканта (в отличие от токсикантов с иным механизмом токсического действия) может привести к пагубным последствиям. Дело в том, что химическое повреждение единичной молекулы ДНК в

единичной клетке макроорганизма, при стечении обстоятельств, может стать причиной мутагенеза, тератогенеза, канцерогенеза. Вероятность такого события бесконечно мала, но теоретически возможна. Такой характер действия веществ на биосистемы называется **беспороговым**.

Другим, важным с позиции токсикологии, последствием действия химических веществ на процессы синтеза белка является индукция микросомальных ферментов и, следовательно, изменение скорости и характера метаболизма ксенобиотиков. Значение этого эффекта неоднозначно, поскольку в итоге токсичность одних веществ уменьшается, других - возрастает (см. раздел "Метаболизм ксенобиотиков").

ГЛАВА 2.2. МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

В основе токсического действия веществ лежит повреждение клеток, сопровождающееся их функциональными, либо структурно-функциональными изменениями. Разнообразие формирующихся при этом эффектов со стороны целостного организма обусловлено сложностью организации клеток, многообразием клеточных форм, составляющих организм. Сформировавшиеся в процессе эволюции особенности структуры и функции отдельных клеточных типов, формирующих различные органы и ткани, настолько существенны, что чувствительность различных клеток к токсикантам может отличаться в тысячи раз. Тем не менее, живое объединено общностью фундаментальных свойств (см. выше), а это позволяет выделить и некоторые общие механизмы, лежащие в основе цитотоксического действия ксенобиотиков. К числу важнейших можно отнести следующие:

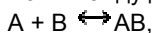
- нарушение энергетического обмена;
- нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция;
- активация свободно-радикальных процессов в клетке;
- нарушение процессов синтеза белка и клеточного деления;
- повреждение клеточных мембран;

Необходимо отметить, что все эти механизмы тесно связаны друг с другом. Порой один из них является пусковым, но в дальнейшем особую значимость для судьбы поврежденной клетки приобретают другие. Очень часто два или несколько из упомянутых механизмов связаны между собой по типу "порочного круга". В этой связи их выделение носит искусственный характер и оправдывается только целями данного издания.

1. Нарушение процессов биоэнергетики

1.1. Системы энергообеспечения клетки

Если между двумя веществами осуществляется взаимодействие, например:



то существует и некая константа равновесия, характеризующая силу этого взаимодействия:

$$K = [AB] / ([A] + [B]).$$

Если $K = 1$, то в равновесном состоянии компоненты реакции A (или B) и AB находятся в смеси в одинаковых концентрациях. Если $K > 1$, то в смеси больше продукта реакции AB , если $K < 1$, то, напротив, больше исходных ингредиентов A и B . Спонтанное взаимодействие A и B с образованием AB происходит только тогда, когда K - велика.

Энергетика процесса взаимодействия веществ может быть охарактеризована следующим уравнением:

$$-RT \ln K_a = \Delta G = \Delta H - T \Delta S, \text{ где}$$

K_a - константа равновесия;

R - газовая константа (1,987 кал/град/моль);

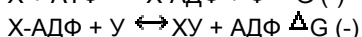
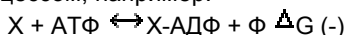
T - абсолютная температура;

G - свободная энергия;

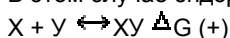
H - энтальпия (энергосодержание веществ);

S - энтропия (степень неупорядоченности системы).

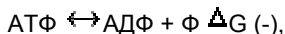
Спонтанно протекают реакции, при которых свободная энергия системы в процессе преобразования уменьшается. Это может быть следствием двух явлений: уменьшение энтальпии или увеличения энтропии системы. В первом случае говорят об экзотермической реакции ($\Delta H > 0$), так как она проходит с выделением энергии; во втором - об эндотермической. Если ΔG - положительно (свободная энергия системы возрастает), реакция не может идти спонтанно. Для того, чтобы такой химический процесс шел необходимо поступление энергии из окружающей среды, либо сопряжение его с другим, экзэргическим, процессом, например:



В этом случае эндэргический процесс:



становится возможным за счет сопряженного экзэргического процесса:



в ходе которого образуется промежуточный активный продукт $X\text{-АДФ}$.

Жизнь клеток и макроорганизмов есть постоянный процесс синтеза сложных молекул (нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов, липидов и т.д.), то есть структур с достаточно высокой энтальпией и низкой энтропией. Образование таких молекул означает увеличения свободной энергии системы. Следовательно синтетические процессы невозможны без одновременного протекания экзэргических реакций, обеспечивающих высвобождение энергии, поступающей из окружающей среды и запасенной в форме химических соединений. Основным видом таких реакций в организме является гидролитическое расщепление богатых энергией веществ, содержащих пирофосфатные связи (макроэрги). К их числу относятся: аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), аденозиндифосфорная кислота (АДФ), гуанозинтрифосфорная кислота (ГТФ), цитозинтрифосфорная кислота (ЦТФ), уридинтрифосфорная кислота (УТФ), ацилфосфаты и др. В конечном итоге энергетические возможности клетки определяются запасами макроэргов и, в первую очередь, АТФ.

АТФ постоянно синтезируется в ходе двух клеточных процессов: гликолиза и биологического окисления субстратов (клеточное дыхание). Оба находятся в тесном взаимодействии. Гликолиз проходит в цитоплазме клеток. Дыхание, основной путь образования макроэргов, осуществляется в митохондриях. В процессе дыхания, благодаря совместному действию большого числа ферментов, соответствующие субстраты, образующиеся при метаболизме белков, жиров, углеводов, поступающих с пищей, окисляются кислородом, также поступающим из окружающей среды, с образованием CO_2 , H_2O и энергии, выделяющейся в форме

тепла и запасаемой в молекулах АТФ. Процессы, обеспечивающие поддержания определенного уровня АТФ в клетках организма, составляют основу и сущность их энергетического обмена.

Наиболее уязвимыми для действия токсикантов элементами биологической системы, обеспечивающей образование макроэргов в организме, являются: механизмы биологического окисления (ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты дыхательной цепи), механизмы сопряжения биологического окисления и фосфорилирования (образования АТФ из АДФ и фосфата), механизмы доставки кислорода к клеткам кровью (рисунок 1).

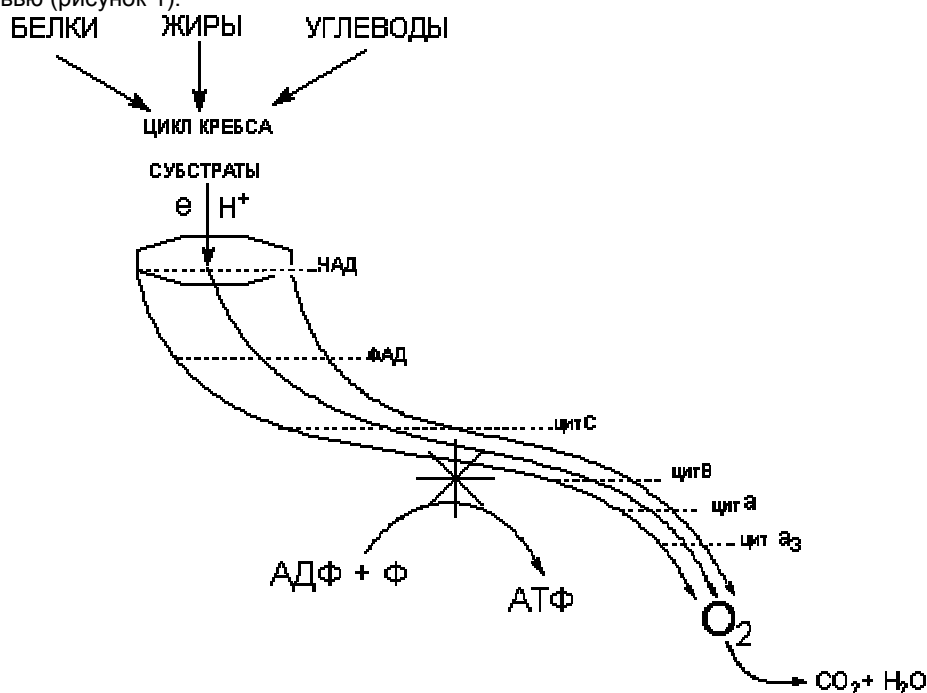


Рисунок 1. Модель процесса клеточного дыхания. Энергия движения электронов и протонов по цепи дыхательных ферментов обеспечивает работу механизма сопряжения процесса фосфорилирования (кумуляция энергии)

Угнетение активности энзимов гликолиза редко приводит к существенному нарушению энергетического обмена, так как метаболизм других веществ (жиров, белков) может компенсировать этот вид нарушений.

1.2. Механизмы токсического повреждения систем энергообеспечения клетки

Нарушение процессов биоэнергетики приводит к повреждению биологических систем, вплоть до их гибели. Токсиканты могут влиять на энергетические процессы различными способами. Некоторые примеры представлены на рисунке 2.

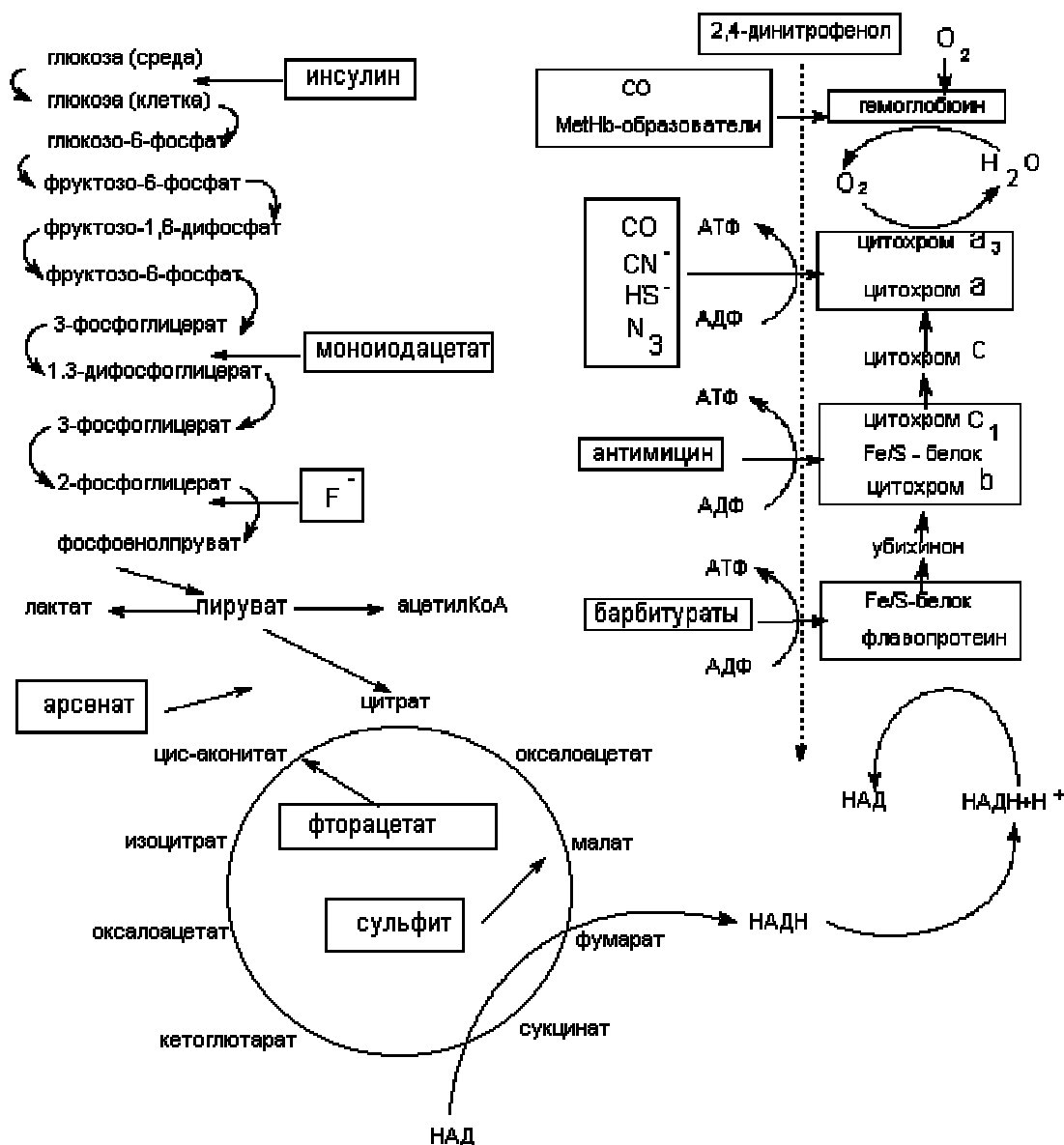


Рисунок 2. Механизмы действия токсиантов на биоэнергетические процессы

Мышьяк, ртуть, их органические и неорганические соединения, другие тяжелые металлы, иодацетат и проч., могут взаимодействовать с сульфгидрильными группами целого ряда ферментов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот и подавлять их активность (сульфгидрильные яды). Достаточно избирательно действуют вещества-аналоги природных субстратов (фторацетат, оксид углерода и т.д.). Они взаимодействуют с активными центрами соответствующих ферментов, угнетая отдельные этапы процесса энергообеспечения клеток.

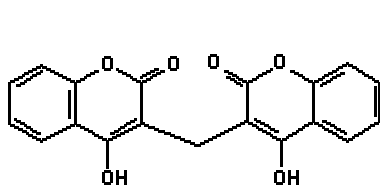
Ингибирование ферментов цикла трикарбоновых кислот (ТК) является пагубным для клетки. Так, некоторые фторированные спирты и фторкарбоновые кислоты (ингибиторы ферментов цикла ТК), являются чрезвычайно токсичными соединениями, вызывающими смертельное отравление в дозах нескольких миллиграмм на килограмм массы.

Большое токсикологическое значение имеют вещества, действующие на цепь дыхательных ферментов. Токсиканты, блокирующие элементы цепи дыхательных ферментов (цианиды, сульфиды), могут в течение нескольких минут привести организм к гибели. Первая ступень цепи дыхательных ферментов чувствительна к седативным средствам (барбитураты).

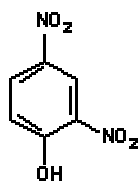
Некоторые вещества способны разобщать процессы биологического окисления и фосфорилирования. Такими свойствами обладают, как правило, липофильные соединения, содержащие фенольную группировку в молекуле и являющиеся слабыми органическими кислотами: 2,4-динитрофенол (ДНФ), динитро-о-крезол, хлорфенолы, дикумарол, а также салицилаты, арсенаты, тироксин и др. (рисунок 3). Самым активным разобщителем является 3,5-дитретбутил-4-гидроксibenзилиден-малонитрил (SKF6847). Это вещество примерно в 1800 раз активнее 2,4-ДНФ и уже в концентрации 0,2 моль на 1 моль цитохрома вызывает максимальное разобщение.

in vitro "разобщители" стимулируют скорость потребления кислорода митохондриями и индуцируют активность АТФазы. *in vivo* в результате их действия значительно активируется процесс клеточного дыхания, однако содержание АТФ в клетках при этом снижается. Образующаяся в ходе окисления субстратов энергия рассеивается в форме тепла, температура тела отравленного резко повышается,

учащается дыхание, появляются тошнота, обильное выделение пота, развивается острая сердечная недостаточность, кома. Интоксикация развивается бурно и заканчивается быстрой гибелью пострадавшего.



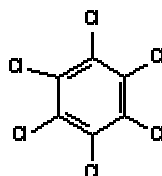
дикумарол



динитрофенол



трифторкарбонилцианид
фенилгидразон



пентахлорфенол

Рисунок 3. Структура некоторых разобщителей процесса окислительного фосфорилирования

Механизм действия разобщителей до конца не выяснен. Полагают, что они облегчают переход протонов непосредственно через мембрану из митохондрий в цитоплазму. Двигателем же процесса образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата как раз и является градиент протонов по обе стороны мембраны митохондрий, не проницаемой для H^+ , поддерживаемый реакциями биологического окисления.

Наконец еще одним механизмом нарушения энергообеспечения клетки является угнетение митохондриальной транслоказы, обеспечивающей транспорт синтезированной АТФ из митохондрий в цитоплазму. Таким образом, действует, в частности атрактилозид, вещество выделяемое из растения *Distel Atractylis gummifera*, произрастающего в Средиземноморье (рисунок 4).

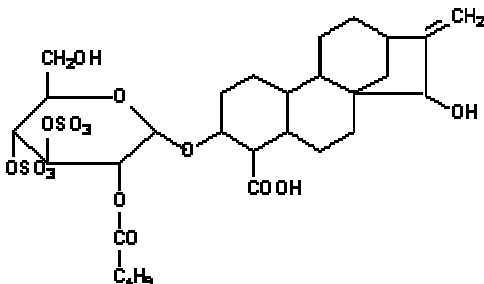


Рисунок 4. Структура атрактилозида

Непрямым механизмом цитотоксического действия является понижение токсикантами парциального давления кислорода в тканях.

Нехватку кислорода человек и другие млекопитающие могут переносить только несколько минут. Особенно чувствительными к аноксии являются клетки органов с интенсивным энергообменом (таблица 1).

Таблица 1. Потребление кислорода различными органами крысы

>Орган	>Скорость потребления O_2 (мл/г ткани мин)
Скелетная мускулатура	>0,875
Кожа	>0,416
Кости	>0,153
Кровь	>0,025
Печень	>2,010
Почки	>1,840
Мозг	>4,120
Легкие	>1,250
Сердце	>1,930

(Field et al., 1939)

Высоко чувствителен к нарушению процессов клеточного дыхания головной мозг. Если периферические ткани способны переживать (хотя и с нарушениями функций) частичную нехватку кислорода в течение нескольких часов, то необратимые изменения в ЦНС наступают спустя 4 - 5 минут после полного прекращения снабжения нейронов кислородом. Поэтому токсиканты, нарушающие кислородтранспортные функции крови также весьма токсичны (оксид углерода, нитро-, аминосоединения и пр.). Оксид углерода связывается с двухвалентным железом гема с образованием карбоксигемоглобина, метгемоглобинообразователи переводят железо гема из двухвалентной в трехвалентную форму. В обоих случаях гемоглобин утрачивает способность связывать кислород в легких и транспортировать его в ткани.

2. Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция

Роль кальция, как регулятора физиологических процессов, протекающих в клетке, хорошо известна. Нарушение внутриклеточного гомеостаза этого иона, сопровождающееся существенным повышением его концентрации в цитоплазме клетки, лежит, как полагают, в основе механизма клеточной гибели при целом ряде патологических состояний таких как ишемия, аутоиммунные процессы и т.д. Цитотоксическое действие самых разных токсикантов (цианидов, четыреххлористого углерода, свинца, метилртути, хлордекона, оловоорганических соединений, алкилирующих агентов, диоксина и т.д.) также полагают, хотя бы отчасти, связано с повышением уровня кальция внутри клеток.

В норме низкая концентрация кальция в цитоплазме поддерживается механизмами его активного транспорта через биомембраны и системой его компартментализации (накопление в клеточных органеллах) (рисунок 5).

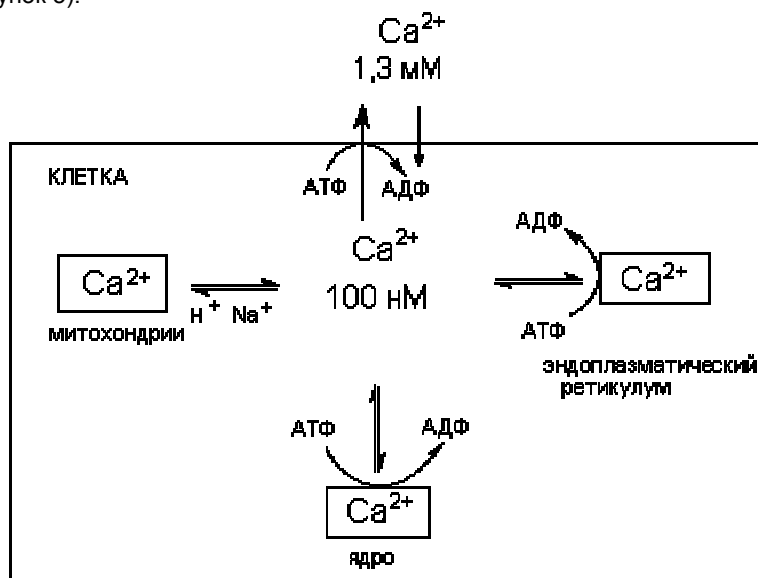


Рисунок 5. Схема регуляции содержания ионов кальция в цитоплазме.

Обычно поступление Ca^{2+} в клетку по градиенту концентрации уравнивается его активным выведением, осуществляемым при участии Ca^{2+} -транспортной АТФазы в печени и эритроцитах и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменом в возбудимых тканях. Кроме того, уровень кальция регулируется его секвенированием в клеточных органеллах (ядре, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме), а также связыванием внутриклеточными белками.

Нарушение механизмов поддержания гомеостаза внутриклеточного кальция, как это видно из представленной схемы обмена иона, может стать следствием:

- повреждения биологических мембран и усиления их проницаемости для ионов;
- нарушения биоэнергетики клетки, приводящие к истощению запасов макроэргов;
- изменения функционального состояния белковых комплексов (в том числе путем действия на соответствующие рецепторы), образующих каналы для Ca^{2+} .

Все эти механизмы могут приводить к усилению инфлюкса кальция из внеклеточной жидкости и его высвобождению из депо в цитоплазму клетки. Примеры веществ, повреждающих механизмы поддержания гомеостаза кальция внутри клеток, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Некоторые вещества, нарушающие распределение кальция внутри клетки

1. Высвобождение кальция из митохондрий: - динитрофенол - динитрокрезол - хиноны - перекиси - аллоксан - железо - кадмий	3. Усиление поступления кальция через плазматическую мембрану: - четыреххлористый углерод - диметилнитрозамин - парацетамол - 2,3,7,8-тетрахлордифенло-п-диоксин
2. Высвобождение кальция из эндоплазматического ретикулума: - четыреххлористый углерод - бромбензол - хиноны - перекиси - альдегиды	4. Угнетение эффлюкса кальция из клетки: - цистамин - хиноны - перекиси - дикват - ванадий

Цитотоксический эффект в результате стойкого повышения содержания кальция в цитоплазме в настоящее время связывают с развивающимся при этом повреждением целостности цитоскелета и неконтролируемой активацией катаболических ферментов (фосфолипаз, протеаз, эндонуклеаз).

2.1. Повреждение цитоскелета

Цитоплазма клетки помимо цитозоля и клеточных органелл, как правило, содержит еще и нитевидные белковые структуры, которые в массе формируют клеточный скелет. Это образование выполняет не только

стабилизирующую и структурирующую, но и другие функции, среди которых обеспечение клеточного деления, внутриклеточный транспорт, секреция, обмен рецепторных белков, регуляция клеточной подвижности и формы. Белки цитоскелета эпителиальных клеток формируют филаменты кератина, в мышечных клетках - десмин или волокна актина и миозина, в соединительнотканых клетках - виментин, в эритроцитах - спектрин, в нервных и глиальных клетках - нейро- и глиофиламенты. Важную роль в физиологии клеток играют микротрубочки, образованные молекулами тубулина, организованные в характерные нитевидные структуры. Они принимают участие в формировании митотического веретена делящихся клеток.

Велика роль структур, формирующих цитоскелет в нервных клетках. Здесь микрофиламенты и микротрубочки принимают участие в монтаже системы anterograde и retrograde аксонального транспорта биологически активных веществ. Как известно белки синтезируются в перикарионе нейрона, а затем транспортируются с помощью этой системы на периферию клетки (в область синаптических контактов). Транспорт по аксону необходим и для обеспечения функций аксональных мембран: оборот глобулярных протеинов в мембране аксонов, выполняющих функции ионных каналов (см. выше). Состояние Швановских клеток также контролируется трофическими веществами, переносимыми с аксональным током. С аксональным током перемещается весь набор энзимов, нейромедиаторов и их предшественников, необходимых для обеспечения синаптической передачи нервных импульсов.

При действии разнообразных веществ на изолированные клетки (культура ткани) выявляется отчетливое изменение формы их поверхности: появляются выпячивания цитоплазмы, называемые пузырьками (blebs). Такое "пузырение" (или вскипание - blebbing) клеточной мембраны - один из ранних и надежных признаков разрушения сети цитоскелета. Вещества, нарушающие гомеостаз внутриклеточного кальция, инициируют "вскипание" мембраны. Механизм феномена объясняют следующим образом. Кальций вовлечен в процесс поддержания структуры цитоскелета как непосредственно, так и через ряд Ca^{2+} -связывающих протеинов и Ca^{2+} -зависимых энзимов. Особенно значим уровень Ca^{2+} в цитоплазме для образования ассоциации белков цитоскелета с белками плазматической мембраны и взаимодействия различных элементов цитоскелета. Стойкое увеличение концентрации кальция в цитозоле по-видимому вызывает отщепление актина микрофиламентов от α -актинина, белка, служащего промежуточным звеном, связывающим микрофиламенты цитоскелета с белками плазматической мембраны. Кроме того Ca^{2+} активирует протеазы (см. ниже), которые могут расщеплять актин-связывающие белки, разрушая тем самым места прикрепления филаментов цитоскелета к клеточной мембране. Отщепление цитоскелета от мембраны приводит к ослаблению фиксации последней и её "вскипанию", что и наблюдается при действии на клетки различных токсикантов (рисунок 6). Вещества, связывающие внутриклеточный кальций, и ингибиторы Ca^{2+} -зависимых протеаз препятствуют "вскипанию" плазматической мембраны клеток, обработанных токсикантами. Другой механизм изменения конфигурации плазматической мембраны под влиянием избыточной концентрации кальция, может состоять в истощении внутриклеточных запасов макроэргов.

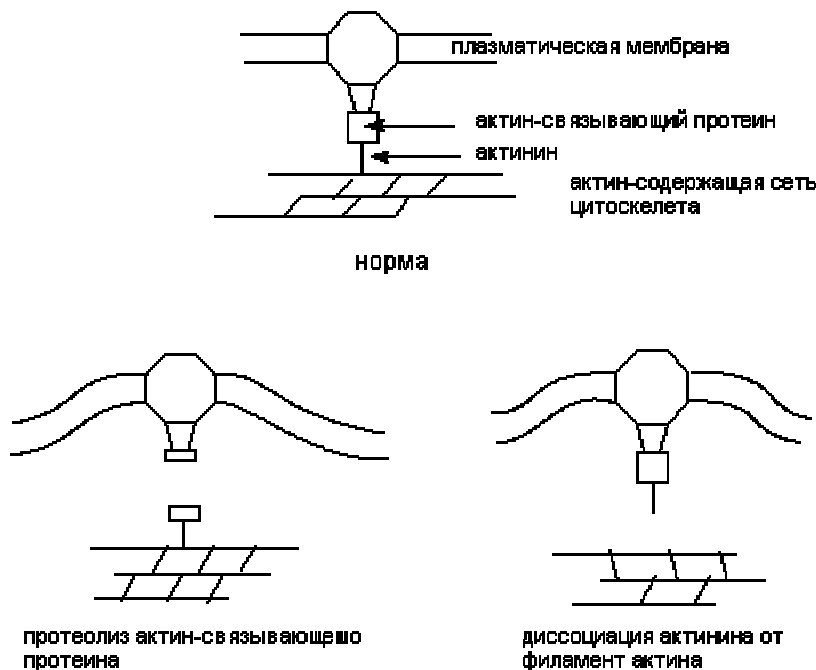


Рисунок 6. Ca^{2+} -зависимые механизмы повреждения цитоскелета клеток, обработанных хинонами

Белки цитоскелета повреждаются не только в результате повышения содержания Ca^{2+} в цитоплазме, но и в результате воздействия токсикантов с иными механизмами токсического действия. Так, непосредственно взаимодействуют с белками цитохалазины, фаллоидин (один из токсинов бледной поганки), а также колхицин (рисунок 7), алкалоиды барвинка (винбластин, винкристин).

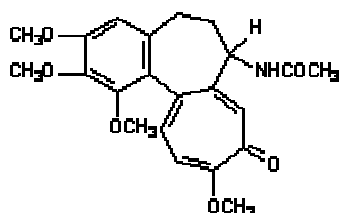


Рисунок 7. Структура колхицина

Действие веществ на тубулин митотического веретена делящихся клеток приводит к нарушению пролиферации последних (особенно клеток системы крови). Колхицин и алкалоиды барвинка в эксперименте, разрушая цитоскелет аксонов нервных клеток, существенно нарушают аксональный ток. Вероятно, аналогичные эффекты могут развиваться и при повреждении цитоскелета веществами, нарушающими внутриклеточный гомеостаз кальция.

2.2. Активация фосфолипаз

Фосфолипазы катализируют гидролиз фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран. Эти ферменты широко представлены в различных клетках. Особое внимание исследователи уделяют фосфолипазам A_2 - группе липаз, основная функция которых состоит в удалении из мембраны поврежденных фосфолипидов, путем высвобождения жирных кислот, подвергшихся перекисидации. Фосфолипазы A_2 являются Ca^{2+} - и кальмодулин-зависимыми ферментами, и, следовательно, чувствительными к повышению кальция в цитоплазме. Стимуляция фосфолипазы кальцием приводит к усилению разрушения фосфолипидов мембран и повреждению клеток. Повышение содержания кальция в цитоплазме, активацию фосфолипазы, ускорение оборота фосфолипидов с последующей гибелью гепатоцитов регистрировали при токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом. Аналогичные изменения наблюдали в миокардиоцитах и гепатоцитах, инкубируемых в условиях аноксии. Хлорпромазин, угнетающий активность фосфолипаз, защищает клетки от повреждающего действия цитотоксикантов, нарушающих внутриклеточный гомеостаз кальция. Эти и другие данные подтверждают значение рассматриваемого механизма в развитии токсического повреждения клеток.

2.3. Активация протеаз

К числу протеаз, с оптимумом активности в области нейтральных значений pH, относятся: АТФ-зависимые, убиквитин-зависимые, Ca^{2+} -зависимые (кальпаины) протеазы. Кальпаины присутствуют практически во всех клетках млекопитающих. Они локализованы вне лизосом, в мембранных структурах в форме неактивного комплекса с ингибиторными протеинами (кальпастатины). Основные функции кальпаинов - репарация цитоскелета и клеточных мембран, разрушение рецепторных протеинов и их обновление, активация некоторых ферментов, участие в процессах митоза.

Идентифицированы две изоформы ферментов - с высоким и низким сродством к кальцию, обе активируемые этим ионом. В эксперименте показано, что стойкая, неуправляемая активация кальпаинов кальцием приводит к повреждению микрофиламентов цитоскелета тромбоцитов, клеточных мембран эритроцитов, гибели клеток печени, миокардиоцитов и т.д.

2.4. Активация эндонуклеаз

При завершении клеткой жизненного цикла активируется процесс "программированной" физиологической клеточной гибели - апоптоз. На ранних этапах в апоптотической клетке проявляются морфологические изменения: "вскипание" клеточной и ядерной мембран, конденсация хроматина. Самым надежным маркером развивающегося процесса является активация эндонуклеаз, ферментов, расщепляющих хроматин на фрагменты - олигонуклеосомы. Активация эндонуклеаз отмечается при гибели тимоцитов и лимфоцитов в облученном организме.

Установлено, что кальций участвует в активации эндонуклеаз. Вызванная глюкокортикоидами фрагментация ДНК тимоцитов и гибель этих клеток связаны со стойким повышением содержания Ca^{2+} в цитоплазме. Одним из постоянных проявлений отравления экспериментальных животных диоксином является атрофия тимуса. Установлено, что при этом в тимоцитах значительно активируется процесс фрагментации ДНК, причем периоду разрушения хроматина предшествует период повышения концентрации кальция в цитоплазме. Возможно, что механизм цитотоксичности ТХДД хотя бы отчасти связан с кальциевой активацией эндонуклеаз.

Активация эндонуклеаз может быть причиной гибели клеток печени, миокарда, почек при отравлениях многими химическими веществами.

3. Активация свободно-радикальных процессов в клетке

3.1. Сущность явления

Многие ксенобиотики, попав во внутренние среды организма, подвергаются метаболическим превращениям (см. раздел "Биотрансформация ксенобиотиков в организме"). Одним из возможных результатов метаболизма является образование реактивных промежуточных продуктов. Взаимодействие этих реактивных метаболитов, либо вторичных продуктов их превращения, с молекулами-мишенями приводит к нарушению клеточных функций. Изменения в клетках могут быть следствием как избирательного повреждения какой либо одной биохимической структуры, так и сочетанного повреждения нескольких структурно-функциональных элементов. Достаточно часто в ходе исследований удается идентифицировать реактивный метаболит, изучить особенности его взаимодействия с молекулами-мишенями, оценить факторы облегчающие и модулирующие эти взаимодействия. Становится все более очевидным, что многие реактивные промежуточные продукты метаболизма ксенобиотиков появляются в форме свободных радикалов, т.е. на внешней орбитали молекулы метаболита находится неспаренный электрон. Центром образования такого радикала в молекуле могут быть атомы углерода, азота, кислорода, серы (рисунок 8):

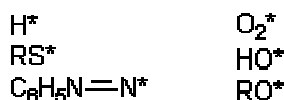


Рисунок 8. Примеры простых свободных радикалов

Хорошо доказана возможность образования радикалов при метаболизме ацетаминофена, адриамицина (и других цитостатиков антрациклиновой группы), нитрофурантиона, параквата, фенилгидразина, четыреххлористого углерода, бенз(а)пирена и т.д. (рис. 9).

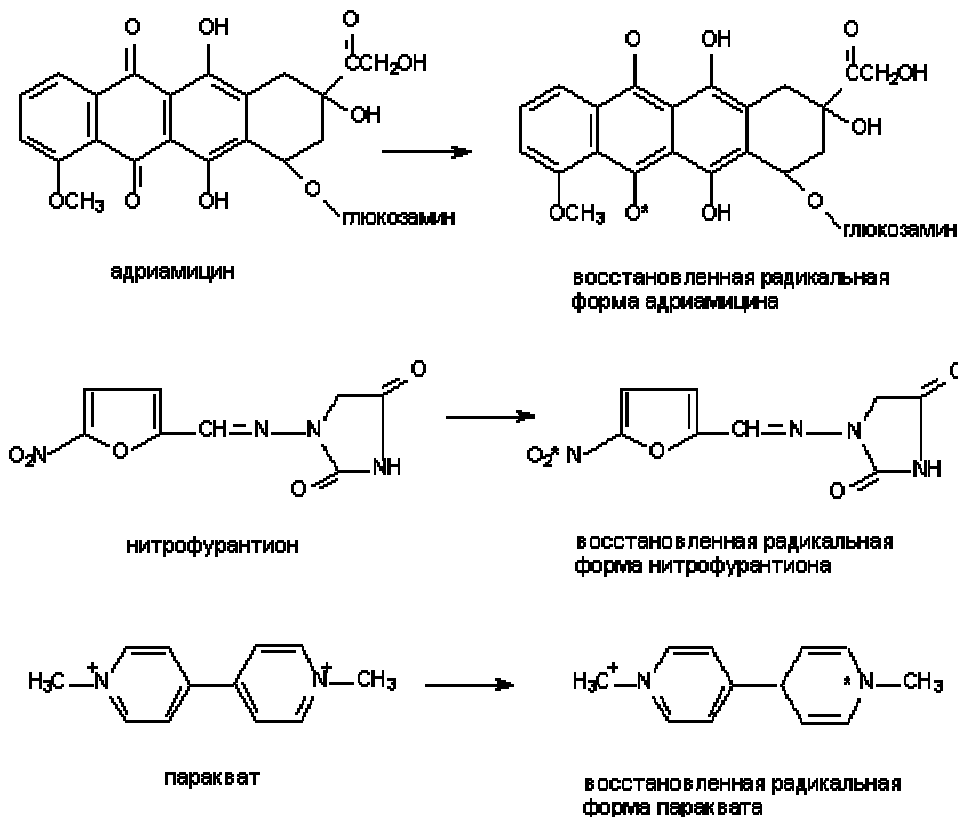


Рисунок 9. Структура веществ, подвергающихся биотрансформации с образованием активных радикалов

Появление неспаренного электрона на внешней орбитали делает метаболит чрезвычайно реакционноспособным. Активные радикалы вступают внутри клетки в многочисленные реакции, в том числе, связываются с ненасыщенными жирными кислотами, отщепляют водород от других молекул, взаимодействуют друг с другом с образованием димеров и т.д.

Свободные радикалы, такие как анионы семихинонов, азо-анионы, анионы нитроароматических соединений, биспиридиновые катионы, могут активировать молекулярный кислород путем одновалентного восстановления последнего до супероксид-аниона ($\text{O}_2^{\cdot -}$). Супероксид при взаимодействии с водой с большой скоростью дисмутирует с образованием перекиси водорода (H_2O_2) и чрезвычайно активного оксиданта - гидроксильного радикала ($^*\text{OH}$). Некоторые металлы с переменной валентностью (медь, железо) способны катализировать в организме реакции такого типа. Эти, так называемые, вторичные радикалы представляют высокую опасность для клетки. Обладая достаточной стабильностью, они взаимодействуют с самыми разными биомолекулами, и не только повреждают их, но и провоцируют цепные реакции дальнейшего образования активных радикалов из липидов, аминокислот, нуклеиновых кислот и т.д. Интегральный эффект такого каскада радикал-иницирующих реакций приводит к значительному нарушению физиологии клетки, её повреждению. На макроскопическом уровне это проявляется некрозом ткани, развитием фиброза в пораженных органах, а в отдаленный период - появлением новообразований (рисунок 10).



Рисунок 10. Активация свободно-радикальных процессов в клетках и их последствия

3.2. Механизмы клеточной антирадикальной защиты

Свободные активные радикалы в норме в клетке образуются постоянно. Так, в процессе метаболизма веществ в гладком эндоплазматическом ретикулуме флавопротеины, а в митохондриях окислительные ферменты цепи дыхательных ферментов, постоянно продуцируют некоторое количество супероксид-иона ($O_2^{\cdot-}$) и перекиси водорода (H_2O_2). Однако содержание в клетке этих и других радикалов жестко контролируется широким спектром биохимических инструментов антирадикальной защиты, включая супероксиддисмутазу, каталазу, GSH-пероксидазу, GSSG-редуктазу, α -токоферол, β -каротин, аскорбиновую кислоту, восстановленный глутатион, мочевую кислоту. Отдельные элементы системы защиты действуют комплексно и потенцируют эффект друг друга. Они локализируются либо в гидрофобных, либо гидрофильных компартментах клеток (например, токоферол - липофил, глутатион - гидрофил).

Механизмы антирадикальной защиты включают как ферментативные, так и неферментативные процессы. Самым простым примером некаталитического разрушения радикалов является их гидролиз, лежащий в основе нейтрализации многих водорастворимых продуктов, например, ацилгалидов, эпоксидов, карбокатионов, изоцианатов, эписульфониум-иона и т.д.

Наиболее важной неферментативной реакцией "обезвреживания" радикалов является их взаимодействие с биологическими антиоксидантами, такими как витамин Е, глутатион, витамин С. В результате такого взаимодействия образуются неактивные вещества, прерывание каскада "наработки" свободных радикалов.

Гомеостаз в клетке поддерживается за счет равенства скоростей образования и связывания радикалов. В случае повреждения механизмов защиты клеток, либо активации процессов образования радикалов, превосходящих по интенсивности возможности защиты, или даже разрушающих эти механизмы, развивается поражение клетки. Так, интоксикация преимущественным пульмонотоксикантом паракватом приводит к некоторому снижению содержания глутатиона в печени. Предварительное связывание глутатиона диэтилмалеатом приводит к тому, что паракват приобретает свойства преимущественного гепатотоксиканта. Таким образом, резерв глутатиона в клетке имеет особое значение для обеспечения её антиоксидантной защиты.

Хотя глутатион может взаимодействовать с многочисленными субстратами и неферментативно, наличие в тканях фермента глутатион-S-трансферазы (GST) значительно ускоряет течение процесса, повышает его эффективность. Множественность форм GST, их широкая субстратная специфичность, высокий уровень активности в различных тканях делают систему глутатионтрансфераз наиболее универсальной и значимой для связывания активных метаболитов.

Глутатион и селен-зависимые глутатионпероксидазы восстанавливают перекись водорода и другие гидроперекиси до менее токсичных спиртов и воды. Глутатион-дисульфид, образующийся в ходе этой реакции, подвергается обратному восстановлению до глутатиона с помощью НАДФН-зависимой глутатионредуктазы. Активность глутатионредуктазы ингибируют изоцианат-содержащие продукты метаболизма нитрозомочевина.

Два других фермента, имеющих большое значение для детоксикации свободных радикалов, это супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза. Первый из ферментов катализирует преобразование двух супероксидных радикалов в молекулу кислорода и перекись водорода. Обнаруживаемая во всех тканях СОД содержит в структуре активного центра ионы Cu , Zn , Mn . Образующаяся перекись водорода разрушается с помощью каталазы или глутатионпероксидазного цикла.

3.3. Механизмы активации ксенобиотиков и образования свободных радикалов

Ксенобиотики могут трансформироваться в радикалы как ферментативным, так и неферментативным путем. Например известны токсиканты, специфично повреждающие тела дофаминергических и серотонинергических нейронов ЦНС (6-гидроксидофамин и 5,7-дигидрокситриптин), β -клетки поджелудочной железы (аллоксан) и др., легко подвергающиеся аутоокислению с образованием активных радикалов (рисунок 11). Параллельно с самоокислением молекулы подобных ксенобиотиков осуществляется продукция реактивных форм кислорода.

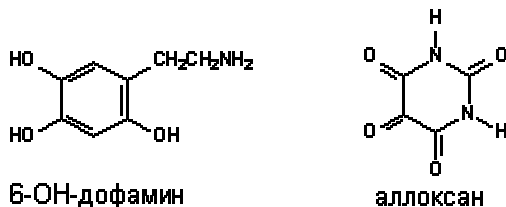


Рисунок 11. Вещества, инициирующие свободно-радикальные процессы путем спонтанного окислительно-восстановительного превращения молекулы в клетках

Ионы металлов с переменной валентностью (медь, железо) облегчают процесс аутоокисления, а восстановители, например аскорбиновая кислота, обеспечивают регенерацию исходной формы ксенобиотика. Таким образом, формируется неферментативный окислительно-восстановительный цикл токсиканта. SH-соединения, никотиновая кислота в опытах *in vitro* останавливают процесс.

Ультрафиолетовые лучи активируют превращение (фотоактивация) накапливающихся в коже сульфаниламидных препаратов, 4-аминобензойной кислоты (рисунок 12) и др. в свободно-радикальную

форму, которая, как полагают, ответственна за развитие фототоксических и фотоаллергических процессов у лиц, принимающих эти лекарства.

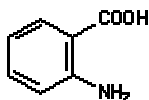


Рисунок 12. Структура о-аминобензойной (антраниловой) кислоты

При лечении псориаза псораленом и его аналогами одновременно назначаемое длинноволновое ультрафиолетовое облучение (320 - 400 нм) кожи пациентов активирует превращение препаратов в свободно-радикальную форму. Активные радикалы повреждают измененные эпидермальные клетки, образуя фотоаддукты с пиримидиновыми основаниями их ДНК. Наступает ремиссия болезни, но побочным неблагоприятным эффектом является развитие в последующем меланом и сквамозноклеточной карциномы, так как в процессе лечения изменяется генетический код и некоторой части здоровых эпидермоцитов.

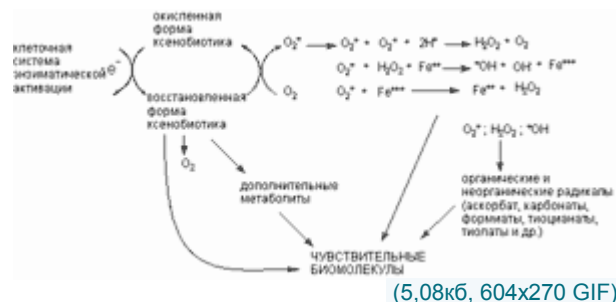


Рисунок 13. Окислительно-восстановительный цикл трансформации ксенобиотиков, сопровождающийся активацией свободно-радикальных процессов в клетке. $O_2^{\cdot -}$ - супероксидный анион; $^{\cdot}OH$ - гидроксильный радикал

Однако основной путь образования свободных радикалов в клетке - ферментативный метаболизм ксенобиотиков (рисунок 13). Способность веществ метаболизировать с образованием радикалов обычно связывают с величиной их одноэлектронного восстановительного потенциала. Соединения с высоким сродством к электронам предрасположены к их акцепции и легко восстанавливаются биологическими системами, в то время как вещества с низким сродством к электрону восстанавливаются биосистемами плохо. Вещества, не вступающие в окислительно-восстановительный цикл не являются источниками образования свободных радикалов в клетках. Например, хлороформ ($CHCl_3$) является слабым источником прооксидантных процессов из-за низкой способности к одноклеточному восстановлению. Напротив, четыреххлористый углерод (CCl_4) легко метаболизирует в трихлорметильный радикал ($^{\cdot}CCl_3$), способный отнимать водородные атомы от ненасыщенных жирных кислот, и является инициатором перекисного окисления липидов. Кроме того $^{\cdot}CCl_3$ связывается с липидами митохондриальных мембран, активирует кислород, который в свою очередь взаимодействует с макромолекулами (белками, нуклеиновыми кислотами). Восстановление четыреххлористого углерода до трихлорметилового радикала катализируется комплексом оксидаз смешанной функции, состоящим из флавопротеинов, НАДФН-зависимой Р-450 релуктазы, НАДФН-цитохром b_5 редуктазы и оксидазы цитохрома Р-450.

В процессе метаболизма адриамицина, митомиксина С, нитрофурантиона, параквата и некоторых других ксенобиотиков образование промежуточных свободных радикалов идет при участии одной лишь НАДФН-зависимой цитохром Р-450-редуктазы. При этом образовавшиеся радикалы удается выявить только в жестких анаэробных условиях. В присутствии кислорода восстановленные радикалы быстро окисляются до исходной формы, при этом электроны переходят с радикала на молекулу кислорода, что приводит к образованию супероксидного аниона и других его реактивных форм и также активации свободно-радикальных процессов.

Очевидно, что если такой химический окислительно-восстановительный цикл превращения ксенобиотика будет продолжаться в течение достаточно длительного времени, механизмы клеточной защиты могут истощиться и произойдет повреждение клетки. Такая возможность вполне вероятна, поскольку известно, что супероксид-анион ингибирует супероксиддисмутазу, превращает аскорбиновую кислоту и токоферол, а гидроксильный радикал - угнетает глутатионпероксидазу.

Помимо гладкого эндоплазматического ретикула оксидазы смешанной функции обнаружены в мембране ядра клетки. Поскольку эта мембрана окружает хроматин, активация здесь ксенобиотиков и образование свободных радикалов представляет угрозу ДНК, либо вследствие прямого взаимодействия метаболитов с нуклеиновыми кислотами, либо опосредованно, путем образования реактивных метаболитов кислорода или продуктов перекисного окисления липидов - компонентов ядерной мембраны.

Помимо упомянутых выше, в образовании активных радикалов могут принимать участие и другие ферменты. Так, ксантиноксидаза участвует в метаболизме адриамицина, нитрофурантиола, параквата до продуктов их одноэлектронного восстановления. Тирозиназа, в большом количестве содержащаяся в клетках меланом участвует в образовании многих реактивных метаболитов. Цитоплазматическая

диафораза и простогландинсинтетаза облегчают формирование окислительно-восстановительного цикла трансформации параквата, ацетаминофена, бенз(а)пирена и т.д.

Таким образом, можно выделить несколько ключевых моментов, имеющих особое значение для реализации повреждающего действия ксенобиотиков на клетку, путем активации свободно-радикальных процессов:

1. Образовавшись, радикал - промежуточный продукт может иметь несколько способов дальнейшего превращения, соотношение между которыми зависит от степени оксигенации клеток (тканей);
2. Усиленное образование свободных радикалов может начаться в нескольких независимых локусах клетки (эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, ядре, цитоплазме);
3. Активация ксенобиотиков до активных радикалов может стать следствием последовательного действия на токсикант нескольких ферментов;
4. Возможно неэнзиматическое образование свободных радикалов. Превращение одного из ксенобиотиков может активировать превращение другого. Так, блеомицин повреждает ДНК в присутствии митомицина С и т.д.

3.4. Биологические последствия активации свободно-радикального процесса в клетке

В результате образования свободных агрессивных радикалов повреждаются самые разные структуры-мишени: липидные мембраны, свободные аминокислоты, полисахариды, нуклеиновые кислоты, рецепторные молекулярные комплексы, транспортные протеины. Итогом такого действия является изменение функционального состояния и гибель клетки, мутация её генетического кода, что, как уже указывалось, на уровне макроорганизма приводит к явлению массивной клеточной гибели (некроз), разрастанию соединительной ткани в органе (фиброз), мутагенезу, развитию новообразований в отдаленные периоды после действия токсиканта.

Характер повреждающего действия активных радикалов во многом определяется их стабильностью и расстоянием, на которое они могут мигрировать от места своего образования. В соответствии с этими признаками реактивные метаболиты могут быть разделены на несколько групп.

Наивысшей реакционной способностью обладают промежуточные продукты, образующиеся в ходе так называемого "суицидного метаболизма". Эти продукты разрушают образующие их ферменты. К числу "суицидных" ингибиторов Р-450 относятся, в частности, винилгалогены, некоторые олифены, дигидропиридины, циклопропильные соединения.

Следующими по реакционной способности являются вещества, покидающие область локализации фермент-субстратного комплекса, но активно взаимодействующие с другими протеинами. Примерами веществ, действующих подобным образом, являются: ацилгалидный метаболит хлорамфеникола, электрофильный радикал серы, отщепляющийся в ходе метаболизма паратиона и т.д.

Менее реакционноспособными являются продукты, мигрирующие в другие локусы клеток и даже за их пределы. Эта группа метаболитов включает большинство промежуточных продуктов. Подобные радикалы способны проникать через биологические мембраны. Это свойство присуще метаболитам бенз(а)пирена, бромбензола, диметилнитрозамина, винилхлорида, трихлорэтилена и т.д.

Еще меньшей реакционной способностью обладают метаболиты, способные выходить за пределы органов, в которых они образуются, и повреждать другие органы и ткани. Примерами этой группы метаболитов являются: метаболит гексана - 2,5-гександион, вызывающий периферическую нейропатию, пирролизидиновых алкалоидов - пирролы, мигрирующие из печени в легкие, где действуют на эндотелий сосудов, эпоксиды 4-винилциклогексана, вызывающие поражение яичников.

Механизмы токсического действия свободных радикалов представлены на рисунке 14.

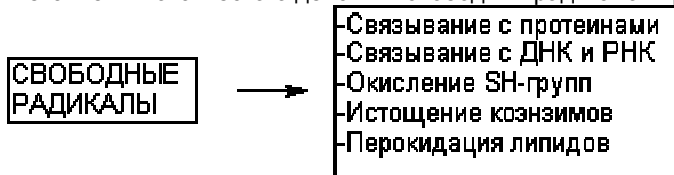


Рисунок 14. Некоторые токсические эффекты свободных радикалов

4. Повреждение мембранных структур

4.1. Основные свойства и функции биологических мембран

1. Плазматическая мембрана. Содержимое клетки отграничено от окружающей среды плазматической мембраной. Благодаря этому поддерживаются условия, позволяющие структурным элементам клетки выполнять присущие им функции. С другой стороны через плазматическую мембрану осуществляется непрерывный транспорт различных молекул, чем и обеспечивается обмен веществом между средой и клеткой. Например плазматическая мембрана печеночной клетки имеет площадь около 8000 мкм². Такая большая площадь контакта с окружающей средой полностью обеспечивает обмен веществ клетки. Толщина плазматической мембраны составляет около 10 нм. Наконец в мембране локализуются белковые структуры, формирующие ионные каналы, рецепторы для физиологически активных веществ, обеспечивающие восприятие сигналов, регулирующих биологическую активность клетки (см. ниже).

Мембрана образована двумя слоями молекул липидов, гидрофобные части которых направлены друг к другу, а гидрофильные в сторону окружающей и внутренней среды клетки. Основные группы липидов - фосфолипиды (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, сфингомиелин), гликолипиды, нейтральные липиды (холестерол и т.д.). Молекулы липидов легко диффундируют в липидных слоях. Время нахождения отдельной молекулы на неизменной позиции составляет 10⁻⁸ - 10⁻⁹ сек. Обмен молекулами между слоями осуществляется редко. Распределение молекул различного строения между слоями асимметрично.

В мембрану встроены белковые молекулы, которые часто пронизывают всю ее толщу, либо погружаются на различную глубину, локализуясь на внешней или внутренней стороне. Углеводный компонент клеточной мембраны представлен главным образом гликопротеинами. Они располагаются на внешней поверхности мембраны. Мембраны различных клеток существенно различаются по своему строению и функциям. В клеточной мембране печени обнаруживается около 20 энзимов. Активность энзимов во многом зависит от липидного состава мембран. Особыми свойствами обладают возбудимые мембраны нервной, мышечной и железистой тканей. Изменение их свойств в ответ на стимул являются важнейшим звеном цепи биологических процессов, лежащих в основе формирования реакции организма на внешние и внутренние раздражители.

Плазматические мембраны, несмотря на преимущественно липидный состав, способны пропускать низкомолекулярные водорастворимые вещества, так как содержат поры со средним диаметром 0,7 - 1,0 нм. Полагают, что поры, заполненные водой, сформированы белковыми молекулами. Объем воды, содержащейся в мембранах, составляет от 30 до 50% от общего их объема. Максимальная молекулярная масса водорастворимого вещества, способного проникать через плазматические мембраны, - около 200 дальтон.

Клеточные мембраны чрезвычайно динамичный элемент. Их строение изменяется в соответствии с условиями окружающей среды и потребностями клетки. Увеличение площади поверхности растущей клетки осуществляется за счет слияния клеточной мембраны с синтезируемыми в цитоплазме (аппарат Гольджи) микровезикулами. Этот же процесс обнаруживается и у не растущих секреторных и нервных клеток, которые путем отшнуровывания микровезикул выделяют в окружающую среду биологически активные вещества (гормоны, нейромедиаторы).

Известен и противоположный процесс - поступления необходимых веществ из окружающей среды в клетку, путем захвата фрагментом клеточной мембраны субстрата, погружением его в цитоплазму и отшнуровывания от остальной мембраны. Слияние мембраны с везикулами и их отшнуровывание обеспечивают динамичность её состава.

Важными свойствами клеточной мембраны является её электрический заряд и электрическая проводимость. Наружная сторона мембраны клеток в состоянии покоя заряжена положительно. Полярность мембраны определяется отчасти асимметричностью липидных слоев, отчасти наличием в её составе белковых молекул и гликопротеинов. Особое значение имеет градиент концентрации ионов по обе стороны мембраны, поддерживаемый благодаря энергозатратным процессам. Таким образом свойства мембраны и обмен веществ в клетке тесно связаны. Вещества, вмешивающиеся в обмен липидов, существенно влияют на свойства биологических мембран.

2. Цитоплазматические мембраны. Внутри клеток имеются многочисленные мембранные структуры, образующие эндоплазматический ретикулум, мембрану ядра клетки, митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы. Эти структуры образованы двумя слоями биологической мембраны. Между этими слоями имеется пространство толщиной около 10 нм. Общая толщина внутриклеточных мембран - около 25 нм.

Мембрана клеточного ядра представляет собой специализированный отдел эндоплазматического ретикулума. Пространство, находящееся между двумя листками мембраны, по-видимому сообщается с межклеточным пространством. Этим путем токсикианты могут проникать непосредственно в ядро, минуя цитоплазму, что прослеживается, в частности, при поступлении в клетку акридиновых красителей. Ионы Na^+ также поступают в ядро из экстрацеллюлярной жидкости по эндоплазматическому ретикулуму. Наличие пор в ядерной мембране диаметром 50 - 100 нм обеспечивает обмен веществом между ядром и цитоплазмой. Даже макромолекулы (РНК, энзимы и др.) проходят через мембрану путем простой диффузии.

Цитоплазматические мембраны служат организующим субстратом для объединения в единый комплекс ряда энзиматических систем. Например, мембраны митохондрий представляют собой сложную мозаику взаимодействующих энзиматических групп. Складчатость мембран способствуют увеличению площади их поверхности и тем самым интенсификации обменных процессов. Общая площадь мембран митохондрий печеночной клетки оценивается в среднем в 29000 $\mu\text{м}^2$. В качестве матрикса для энзимов выступают и другие мембранные структуры: гладкий и шероховатый эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи. Эти структуры участвуют в обмене веществ. Так, на рибосомах, локализующихся на мембранах шероховатого ретикулума, осуществляется синтез белка; энзимы гладкого эндоплазматического ретикулума - важнейший элемент метаболизма ксенобиотиков; аппарат Гольджи - основная секреторная структура клетки.

Токсическое действие многих веществ сопряжено с их влиянием на состояние мембранных структур. Оно может быть прямым и опосредованным. Наиболее вероятными механизмами **опосредованного** повреждения биологических мембран при интоксикациях являются:

- активация перекисного окисления липидов;
- активация фосфолипидной активности.

4.2. Действие токсикиантов на мембраны

4.2.1. Прямое действие на мембраны

Возможно действие ксенобиотиков **непосредственно** на липидный бислой или белковые компоненты биомембран. Развивающиеся вследствие этого эффекты могут быть как неспецифическими (отсутствие строгой зависимости между структурой токсикианта и развивающимся эффектом), так и строго специфическими. Специфичность является следствием действия токсикиантов на энзимы и рецепторные белковые комплексы (см. выше). Часто действие носит смешанный "полуспецифический" характер.

В результате неспецифического действия многочисленных токсикиантов (бензола, толуола, динитробензола, хлороформа, мылов, сапонинов, смачивающих веществ, тяжелых металлов и других денатурирующих агентов) может нарушаться структурная целостность мембран, что приводит к деформации, лизису клетки и её гибели. При действии таких веществ на мембраны эритроцитов развивается гемолиз.

Действуя в малых дозах на возбудимые мембраны нервных клеток ЦНС, органические растворители, спирты вызывают седативно-гипнотический. В действии этих соединений, помимо неспецифических, прослеживаются и отчетливые специфические механизмы. Так, вещества со свойствами "неэлектролитов" накапливаясь в мембранах, одновременно изменяют их проницаемость для ионов Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Cl^- (рис. 15).

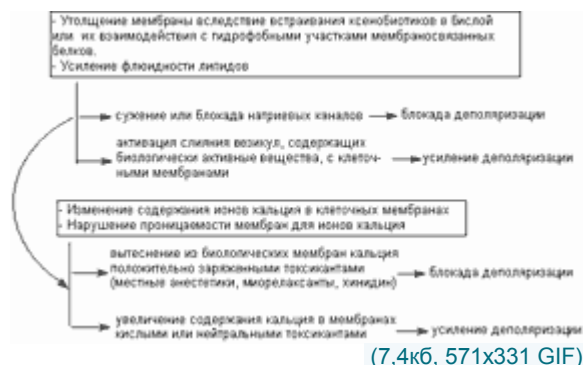


Рисунок 15. Возможные механизмы непосредственного действия токсикантов на биологические мембраны

Многие токсиканты избирательно действуют на мембраносвязанные ферменты, транспортные системы, рецепторные комплексы к биологически активным веществам. К числу таких в частности относятся гликозиды, агонисты и антагонисты нейромедиаторов и гормонов, блокаторы ионных каналов и многие другие.

4.2.2. Активация перекисного окисления липидов

Благодаря ненасыщенности углеводородной цепи жирных кислот и непрочности связи аллильных атомов водорода с метиленовыми группами, фосфолипиды клеточных мембран наиболее предрасположены к реакции окисления, инициируемой свободными радикалами, образующимися в клетке. Этому способствует и то обстоятельство, что молекулярный кислород в 7 - 8 раз лучше растворяется в липидной фазе, чем в воде и гидрофильных сайтах клетки. Существенная активация процесса образования свободных радикалов при химических воздействиях приводит к усилению перекисного окисления липидов и повреждению биологических мембран. Процесс перекисного окисления усиливается вторичным образованием из липидов высоко реакционно-способных и легко диффундирующих карбонильных радикалов, которые могут обуславливать неблагоприятные процессы, развивающиеся в клетках далеко за пределами сайта своего образования не только клетки, но и органа.

Не смотря на многочисленные исследования до настоящего времени нет четких представлений о значении активации перекисного окисления липидов для развития токсического процесса, инициируемого даже такими мощными прооксидантами, как паракват, адриамицин, нитрофурантион и т.д.

Для развития патологического процесса важно, чтобы окислительно-восстановительный цикл превращения ксенобиотика "работал" достаточно долго, с тем, чтобы произошло истощение механизмов антирадикальной защиты клетки (см. выше). Поскольку непродолжительная инициация окислительно-восстановительного цикла трансформации ксенобиотика может стимулировать систему антиоксидантной защиты, при интоксикациях некоторыми прооксидантами возможно развитие парадоксальной реакции, а именно - угнетение процесса окисления липидов в тканях.

Для развития процесса важна степень насыщенности тканей кислородом. В полностью аэробной среде образующийся из ксенобиотика восстановленный метаболит подвергается быстрому обратному окислению. При этом значительно возрастает количество радикалов в виде вторичных активных форм кислорода. Поэтому хорошо снабжаемые кровью и насыщенные кислородом ткани (легкие, сердце, головной мозг) являются более чувствительными к повреждающему действию прооксидантов.

4.2.3. Активация фосфолипаз

Важным механизмом повреждения биологических мембран является гидролиз фосфолипидов, наступающий вследствие активации фосфолипаз (особенно фосфолипазы A_2). Активация фермента происходит в результате прямого или опосредованного (гипоксия, нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция и т.д.) действия многих токсикантов на клетки организма (рисунок 16).

Результатом действия фосфолипазы A_2 на липиды биологических мембран является высвобождение арахидоновой кислоты. Последняя является, в свою очередь, субстратом фермента циклооксигеназы. Превращение арахидоновой кислоты под влиянием фермента приводит к образованию эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов, простациклинов) - веществ, активирующих воспалительные процессы в тканях. Под влиянием другого фермента, 5-липоксигеназы, арахидоновая кислота превращается в лейкотриены и эйкозатетраеновые кислоты. Эти вещества являются хемотаксантами нейтрофилов, веществами, регулирующими сосудистую проницаемость.

Еще одним продуктом ферментативного расщепления липидов мембран является фактор агрегации тромбоцитов (ФАТ) - клон биологически активных веществ (более 150 аналогов) близкого строения. ФАТ чрезвычайно токсичные вещества (LD_{50} для кролика - 0,005 мг/кг; для собаки - 0,07 мг/кг), вызывающие при внутривенном введении шокотипное состояние (острый, некупируемый коллапс, бронхоспазм и др.).

Рисунок 16. Образование биологически активных веществ при участии фосфолипаз, активируемых в ходе токсического процесса

Вещества, действующие на клеточные мембраны, как правило, изменяют следующие их параметры:

1. Проницаемость. Изменяется поступление субстратов в клетки и отток продуктов метаболизма. Действие проявляется изменением интенсивности обмена веществ в клетке, нарушением электрических свойств мембран.

3. Структурная организация. Нарушается структура клетки, возможна клеточная гибель.

Поскольку система внутриклеточных мембран также является мишенью для действия многочисленных токсикантов, среди них можно выделить группу митохондриальных ядов, повреждающих различные звенья процессов биоэнергетики, веществ действующих на шероховатый (нарушение процессов синтеза белка) и гладкий эндоплазматический ретикулум (индукция или угнетение метаболизма ксенобиотиков), лизосомальные мембраны (аутолиз клеток) и др.

Деление, рост, дифференциация клеток, их мутация и малигнизация - процессы, неразрывно связанные с обменом нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и синтезом белка. Эти процессы чрезвычайно сложны и включают множество этапов. Действие веществ, нарушающих нуклеиновый обмен и белковый синтез, в этой связи, весьма разнообразно (таблица 3). Подавляющее большинство механизмов токсического повреждения изучено в опытах *in vitro* на изолированных быстро размножающихся клетках, а порой даже на прокариотах. Вот почему среди приводимых в качестве примеров веществ, преобладают цитостатики, антибиотики и красители.

Таблица 3. Возможные точки приложения повреждающего действия токсикантов на процессы синтеза белка и нуклеиновых кислот.

- изменение структуры (конформации) ДНК
- нарушение процесса полимеризации ДНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение ДНК
- нарушение процесса репарации ДНК
- нарушение механизмов регуляции синтеза ДНК

- нарушение полимеризации РНК
- нарушение процессии РНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение РНК
- нарушение механизмов регуляции синтеза РНК

- нарушение организации и процессии рибосом и полисом
- нарушение полимеризации аминокислот
- нарушение образования аминокетил-tPHK
- нарушение формирования конформации белка и его третичной и четвертичной структур
- нарушение механизмов регуляции трансляции

Как указывалось ранее, нарушение репликации может явиться следствием химического взаимодействия ДНК с токсикантами. Однако возможны и иные механизмы повреждения (таблица 4).

Механизм действия	Примеры
Ковалентное связывание с ДНК	иприт, циклофосфан

Индукция однонитевых разрывов	этиленоксид, этиленимин
Интеркаляция	профлавин, этидиумбромид
Нековалентное связывание с ДНК	актиномицин
Взаимодействие с РНК-полимеразой	α -аманитин
Взаимодействие с ревертазой	стрептоварицин
Взаимодействие с ДНК-полимеразой	эдеин, налидиксовая кислота
Влияние на синтез нуклеотидов	фаллоидин, цитозин-арабинозид
Нарушение обмена фолиевой кислоты, пиримидина, пурина	аминоптерин, аминопурин, азогуанин, азочитозин
Угнетение образования аминокетил-tРНК	6-флюоротриптофан, триптазан, порвалин

1. Угнетение активности ДНК-полимераз и других ферментов синтеза.

Эдеин и налидиксовая кислота угнетают активность ДНК-полимераз, а N-диметилтрифампицин подавляет РНК-зависимый синтез ДНК (ингибитор ревертазы). Соединения, нарушающие конформацию ДНК, могут подавлять реакцию её полимеризации, не изменяя активность соответствующих энзимов.

2. Влияние на синтез дезоксирибонуклеотидов.

Элементарной единицей ДНК являются дезоксирибонуклеотидтрифосфаты. Их синтез осуществляется в организме и может быть прерван на различных этапах (синтез пуринов, пиримидинов, нуклеотидов). Вещества, нарушающие синтез нуклеотидов, называются антиметаболитами. В качестве антиметаболитов могут выступать различные аналоги естественных предшественников нуклеотидов, которые вытесняют их из связи с энзимами. Частично эти аналоги перерабатываются и встраиваются в структуру нуклеиновой кислоты (2-аминопурин, 5-флюороурацил), при этом нарушается строение и функция последней. Некоторые вещества (нуклеозидные антибиотики - кордицепин) блокируют встраивание дезоксирибонуклеотидов в молекулу ДНК.

3. Влияние на регуляцию синтеза ДНК.

В качестве регуляторов репликации, у эукариотов выступают цитоплазматические факторы - специальные белки, ответственные за процесс инициации. Их проникновение в ядро показано экспериментально. Определенную роль играют также гуморальные факторы роста, гормоны. Так, кортикоиды и глюкагон усиливают синтез ДНК.

4. Действие на разрушение ДНК и её репарацию.

Эндонуклеазы и лигазы - энзимы, участвующие в репарации мутированных или неправильно синтезированных молекул ДНК. Так, поврежденный нуклеотид может быть вырезан из молекулы ДНК (эндонуклеазы), а на его место встроен неповрежденный фрагмент (лигазы). Резкое повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , наблюдающееся при острой интоксикации некоторыми токсикантами (см. выше), сопровождается активацией эндонуклеаз и разрушением ДНК.

Ингибиторы лигаз угнетают процессы репарации ДНК и повышают частоту мутаций (например, бензамид и его производные).

5. Другие механизмы действия.

Помимо повреждения ДНК и ферментов, участвующих в её синтезе и репарации, существуют и другие способы токсического нарушения процесса репликации. Так, в фазе приготовления к митозу возможно повреждение центриолей и синтеза митотического аппарата, образующего клеточное веретено. Веретено формируется SH-содержащими протеинами, которые благодаря -S-S- связям образуют нитевидные структуры. Естественно, токсиканты, взаимодействующие с SH-группами способны повреждать митотические веретена. Примерами таких токсикантов являются мышьяк, ртуть и их соединения, колхицин, подофилотоксин и др.

5.2. Синтез РНК. Транскрипция

В клетках определяются несколько форм РНК. Особое функциональное значение имеют: м-РНК, как матрица для синтеза полипептидов, t-РНК - молекула-переносчик аминокислот на рибосомы для их последующей полимеризации, r-РНК - составная часть рибосом. Возможны следующие механизмы повреждения РНК:

1. Нарушение конформации и свойств ДНК (см. выше).

На поврежденной ДНК синтезируются измененные молекулы РНК, не свойственные организму.

2. Угнетение активности РНК-полимераз.

Ингибитором РНК-полимеразы является, в частности, аманитин - яд бледной поганки.

3. Влияние на РНК-процессинг.

Это явление изучено недостаточно. Полагают, что кордицепин (см. выше) ингибирует начало процесса синтеза РНК.

4. Угнетение синтеза нуклеотидов.

Как уже указывалось, целый ряд веществ, так называемых антиметаболитов, способен угнетать синтез пуриновых и пиримидиновых оснований и нуклеотидов. Такие вещества, прежде всего, нарушают обмен РНК, находящихся в состоянии активного обращения. Возможно извращение синтеза РНК вследствие встраивания в молекулу "ложных" нуклеотидов (5-бромурацил, 8-азагуанин).

5. Нарушение регуляции синтеза РНК.

Синтез РНК контролируется целым рядом факторов. Большая часть генома находится в репримированном состоянии, т.е. блокирована специальными белками (гистонами) и не участвует в процессе транскрипции. Активация этих отрезков молекулы ДНК осуществляется низкомолекулярными хромосомными РНК, цитоплазматическими протеинами и другими факторами (например гормонами). Так, стероиды (эстрогены, андрогены, кортикостероиды) стимулируют синтез РНК и, следовательно, белка. Аналогичные эффекты описаны для инсулина и глюкагона. Многочисленные синтетические соединения

(барбитураты, толбутамид, бензпирен, метилхолентрен, диоксин и т.д.) вызывают индукцию синтеза микросомальных ферментов, ответственных за метаболизм ксенобиотиков. По всей видимости, они взаимодействуют с репрессорными протеинами, вызывают депримирирование ДНК и активируют тем самым синтез РНК и соответствующих белков.

5.3. Синтез белков. Трансляция

Объединение аминокислот в полипептидную цепь осуществляется на рибосомах или полисомах. Токсиканты могут вмешиваться в процессы синтеза белка и на этом этапе. Возможны следующие механизмы токсического действия:

1. Нарушение конформации рибосом и организации полисом.

Этот механизм экспериментально показан для целого ряда антибиотиков, действующих на рибосомы и полисомы бактериальных клеток.

2. Угнетение процесса образования полипептидной цепи.

Многие антибиотики вмешиваются в процесс синтеза белка на рибосомах бактерий. При этом выявляются нарушения:

- процессов считывания информации с кода мРНК;

- образования формилметионил-tРНК и повреждение тем самым инициации синтеза полипептидной цепи;

- образования пептидных связей (таков, в частности, один из механизмов токсического действия дифтерийного токсина);

- затруднение транслокации пептидил-tРНК и мРНК.

3. Угнетение синтеза и формирования аминоацил-tРНК.

Необходимым этапом полимеризации аминокислот и образования полипептидной цепи является их активация, путем образования комплекса с tРНК (образование аминоацил-tРНК). На первом этапе происходит взаимодействие аминокислот с АМФ (активация), и лишь затем образуется связь с РНК. Введение в среду, где инкубируется экспериментальный материал (делящиеся клетки, бактерии), ненормальных аминокислот, например D-форм или таких как этионин, тиенилаланин, алкилвалин и др., приводит к угнетению активности синтезирующих ферментов, а следовательно и процесса синтеза белка в целом.

4. Нарушение конформации синтезируемой белковой молекулы.

Синтезированная полипептидная цепь спонтанно формирует свою третичную структуру. Отчасти процесс проходит при участии различных кофакторов. Угнетение синтеза таких кофакторов или поступление в организм их неактивных аналогов (антивитаминов) нарушает процесс.

5. Влияние на регуляцию процесса трансляции.

Имеются данные о том, что процесс трансляции, особенно его инициация и терминация, подлежат контролю. Отвечают за это особые виды регуляторных РНК и протеинов, а также механизмы контролирующие уровень цАМФ в клетках. Образованию полисом способствует повышение содержания эстрадиола; инсулин активирует процесс инициации синтеза белка на малых субъединицах рибосом. Витамин К блокирует на уровне трансляции образование протромбина и других факторов свертывания крови и т.д. Усиление или угнетение рассмотренных процессов может лежать в основе токсического действия некоторых веществ.

5.4. Биологические последствия действия токсикантов на нуклеиновый обмен и синтез белка

Токсикологическое значение веществ, вмешивающихся в процесс синтеза белка и клеточное деление, обусловлено их цитостатическим, иммуносупрессорным, мутагенным, тератогенным и канцерогенным действием (см. соответствующие разделы).

Повреждающее действие химических веществ на ДНК называется генотоксическим. Наиболее чувствительны к генотоксическому действию клетки, способные к делению (эмбриональные, герменативные, костного мозга, эпителии почек, кожи, слизистой желудочно-кишечного тракта и т.д.). Последствия повреждения ДНК зависят от дозы токсиканта. Высокие дозы вызывают цитостатический эффект (гибель пула делящихся клеток), более низкие - канцерогенное, тератогенное, мутагенное действие. В основе канцерогенного, тератогенного, мутагенного действия лежат по сути общие механизмы, однако превращение конкретного вещества в канцероген, тератоген, мутаген зависит от целого ряда условий (таблица 5).

Таблица 5. Условия воздействия генотоксиканта, определяющие форму развития токсического процесса: канцерогенеза, мутагенеза, тератогенеза

>Токсический процесс	>Чувствительная ткань	>Оптимальное время воздействия	>Продолжительность действия и доза
Канцерогенез	Любая пролиферирующая ткань	Неопределенное; любая стадия митоза	Обычно хроническое, беспороговое
Мутагенез	Герменативные клетки	Все стадии гаметогенеза	Острое и хроническое, беспороговое
Тератогенез	Все зародышевые ткани	Наивысшая - на ранних стадиях дифференциации тканей	Только острое, в дозах выше пороговых

Существует представление, согласно которому проникновение в организм даже единственной молекулы генотоксиканта (в отличие от токсикантов с иным механизмом токсического действия) может привести к пагубным последствиям. Дело в том, что химическое повреждение единичной молекулы ДНК в единичной клетке макроорганизма, при стечении обстоятельств, может стать причиной мутагенеза,

тератогенеза, канцерогенеза. Вероятность такого события бесконечно мала, но теоретически возможна. Такой характер действия веществ на биосистемы называется **беспороговым**.

Другим, важным с позиции токсикологии, последствием действия химических веществ на процессы синтеза белка является индукция микросомальных ферментов и, следовательно, изменение скорости и характера метаболизма ксенобиотиков. Значение этого эффекта неоднозначно, поскольку в итоге токсичность одних веществ уменьшается, других - возрастает (см. раздел "Метаболизм ксенобиотиков").

РАЗДЕЛ 3. ТОКСИКОМЕТРИЯ

ГЛАВА 3.1. ЗАВИСИМОСТЬ "ДОЗА-ЭФФЕКТ" В ТОКСИКОЛОГИИ

1. Общие замечания

Спектр проявлений токсического процесса, определяются строением токсиканта. Однако выраженность развивающегося эффекта является функцией количества действующего агента.

Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие - доза. Например, введение в желудок крысе весом 250 г и кролику весом 2000 г токсиканта в количестве 500 мг, означает, что животным введены дозы равные соответственно 2 и 0,25 мг/кг (более подробно понятие "доза" будет рассмотрено ниже).

Зависимость "доза-эффект" может быть прослежена на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до популяционного. При этом в подавляющем большинстве случаев будет регистрироваться общая закономерность: с увеличением дозы - увеличивается степень повреждения системы; в процесс вовлекается все большее число составляющих её элементов.

В зависимости от действующей дозы практически всякое вещество в определенных условиях может оказаться вредным для организма. Это справедливо для токсикантов, действующих как местно (таблица 1), так и после резорбции во внутренние среды (таблица 2).

Таблица 1. Зависимость между концентрацией формальдегида во вдыхаемом воздухе и выраженностью токсического процесса

Концентрация ($\text{см}^3/\text{м}^3$ - ppm)	Клинические проявления
0,01 - 0,05	Раздражение глаз
0,05 - 1,00	Непереносимый запах
0,05 - 3,00	Раздражение верхних дыхательных путей
3,00 - 10,00	Сильное раздражение слизистой дыхательных путей
10,00 - 30,00	Раздражение глубоких дыхательных путей
50,00 - 100,00	Воспалительный процесс в легких; токсический отек

(P.M. Misiak, J.N. Miceli, 1986)

Таблица 2. Зависимость между концентрацией этанола в крови и выраженностью токсического процесса

Концентрация мг/100 мл	Клинические проявления
20 - 99	Изменение настроения; прогрессирующее нарушение координации движений, сенсорных функций; изменение поведения
100 - 199	Выраженные нарушения мышления; увеличение времени реакции на внешние раздражители; атаксия
200 - 299	Тошнота; рвота; выраженная атаксия
300 - 399	Гипотермия; дизартрия; амнезия; 1 стадия анестезии
400 - 700	Кома; угнетение дыхания; смерть

(T.G. Tong, D. Pharm, 1982)

На проявление зависимости "доза-эффект" оказывает существенное влияние внутри- и межвидовая изменчивость организмов. Действительно, особи, относящиеся к одному и тому же виду, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим характеристикам. Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Еще более выражены, в силу тех же генетических особенностей, межвидовые различия. В этой связи дозы конкретного вещества, в которых оно вызывает повреждение организмов одного и того же и, тем более, разных видов, порой очень существенно различаются. Следовательно, зависимость "доза-эффект" отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. На практике это означает, что количественную оценку токсичности, основанную на изучении зависимости "доза-эффект", следует проводить в эксперименте на различных биологических объектах, и обязательно прибегать к статистическим методам обработки получаемых данных.

2. Зависимость "доза-эффект" на уровне отдельных клеток и органов

2.1. Предварительные замечания

Самым простым объектом, необходимым для регистрации биологического действия токсиканта, является клетка. При изучении механизмов токсического действия это положение не редко опускают, концентрируя внимание на оценке характеристик взаимодействия химического вещества с молекулами-мишенями (см. выше). Такой упрощенческий подход, оправданный на начальных этапах работы, совершенно не допустим при переходе к изучению основной закономерности токсикологии - зависимости "доза-эффект". На этом этапе необходимо изучить количественные и качественные характеристики реакции

всего эффекторного аппарата биообъекта на возрастающие дозы токсиканта, и сопоставить их с закономерностями действия ксенобиотика на молекулярном уровне.

2.2. Основные понятия

Рецепторная концепция действия токсикантов на клетку или орган предполагает, что в его основе лежит реакция вещества с определенной биологической структурой - рецептором (см. раздел "Механизм действия"). Наиболее глубоко эти представления развивались в ходе исследований на моделях взаимодействия ксенобиотиков с селективными рецепторами эндогенных биорегуляторов (нейромедиаторов, гормонов и др.). Именно в такого рода опытах установлены базовые закономерности, лежащие в основе зависимости "доза - эффект". Общеизвестно, что процесс образования комплекса вещества с рецептором подчиняется закону действующих масс. Однако гипотетичными до настоящего времени остаются представления, позволяющие связать количественные и качественные характеристики этой первичной реакции и выраженность эффекта со стороны целостной биологической системы. Для преодоления возникающих сложностей принято выделять две токсикометрические характеристики ксенобиотика:

1. Афинность - отражает степень сродства токсиканта к рецептору данного типа;
2. Эффективность - характеризует способность веществ вызывать определенный эффект после взаимодействия с рецептором. При этом ксенобиотики, имитирующие действие эндогенного биорегулятора, называются его агонистами. Вещества, блокирующие действие агонистов, называются антагонистами.

2.3. Афинность

Измерение афинности токсиканта к рецептору, по сути, представляет собой экспериментальное изучение зависимости между количеством вещества, добавляемого в инкубационную среду, и количеством образующегося в результате взаимодействия токсикант-рецепторного комплекса. Обычный методический прием - радиолигандные исследования (см. выше).

При использовании закона действующих масс для определения афинности необходимо учитывать, что исследователю известны количественные характеристики содержания в среде только одного из участников процесса - токсиканта [P]. Количество рецепторов [R]_T, участвующих в реакции, всегда не известно. Существуют методические приемы и допущения, позволяющие в ходе эксперимента и на этапе анализа обработки полученных результатов преодолеть эту сложность.

2.3.1. Описание взаимодействия "токсикант-рецептор" в соответствии с законом действующих масс

В простейшем случае для описания процесса образования комплекса вещества и рецептора применяют кинетические характеристики реакции второго порядка.



В соответствии с законом действующих масс:

$$K_D = [P][R]/[RP] = k_{-1}/k_{+1} \quad (2)$$

K_D - константа диссоциации комплекса "токсикант-рецептор".

$1/K_D$ - константа ассоциативного процесса, является мерой сродства токсиканта к рецептору.

Поскольку общее количество рецепторов в изучаемой системе (культура клеток, изолированный орган и т.д.) есть сумма свободных [R] и вступивших во взаимодействие с веществом [RP] рецепторов, то:

$$[R]_T = [RP] + [R] \quad (3)$$

С учетом уравнений (2) и (3), имеем

$$[RP]/[R]_T = y = [P]/([P] + K_D) \quad (4)$$

Степень насыщения рецептора токсикантом "y" есть отношение связавшегося с веществом рецептора к общему количеству рецепторов. Поскольку количество образовавшегося комплекса [RP] может быть определено экспериментально появляется возможность рассчитать значение K_D в соответствии с уравнением (4). В графическом представлении зависимость насыщения рецептора от концентрации токсиканта в среде имеет вид гиперболы, что также может быть использовано для определения значения константы диссоциации.

2.3.2. Более сложные модели взаимодействия "токсикант-рецептор"

Экспериментально получаемые кривые связывания токсиканта на рецепторах не редко более крутые или более пологие, чем следует ожидать, исходя из закона действующих масс. Иногда выявляются кривые

со сложной зависимостью степени насыщения рецептора токсикантом от его концентрации. Эти отклонения обычно объясняют тремя обстоятельствами:

1. Реакция между веществом и рецептором не является бимолекулярной. В этом случае требуется иная форма задания зависимости, чем представленная уравнением (4):

$$y = [P]^n / ([P]^n + K_D) \quad (5)$$

где n (константа Хила) - формально отражает число молекул токсиканта, принимающих участие в образовании одного комплекса "токсикант-рецептор".

2. Популяция рецептора, с которым взаимодействует токсикант, гетерогенна. Так, если в биологическом объекте в равных количествах содержатся два подтипа рецептора, различающихся в 3 раза величиной константы ассоциации комплекса "токсикант-рецептор", то суммарное значение константы Хила, исследуемой зависимости будет равно 0,94. При больших различиях значений констант ассоциации интегральная её величина в ещё большей степени будет отличаться от 1,0.

3. Определенное влияние на процесс образования комплекса "токсикант-рецептор" оказывают такие явления, как изменение конформации рецептора, кооперативности его отдельных субъединиц, различные аллостерические эффекты. Так, нередко кривая связывания токсиканта с рецептором имеет S-образный вид. Это свидетельствует о взаимном влиянии соседних участков связывания токсиканта с макромолекулой (например, образование комплекса с одной субъединицей рецептора приводит к изменению его сродства к другим, свободным субъединицам). Подобный эффект наблюдается при изучении связывания ацетилхолина препаратом тканевых мембран, содержащих холинорецептор. Увеличение концентрации свободного [^{3} H]-ацетилхолина в инкубационной среде сопровождается возрастанием аффинности вещества к рецепторным протеинам (рисунок 1). Местный анестетик прилокаин при добавлении в инкубационную среду нарушает явление кооперативности рецепторов и, тем самым, ограничивает увеличение сродства к ним ацетилхолина. Об этом свидетельствует изменение формы кривой зависимости "связывание - концентрация токсиканта" и превращение её из S-образной в обычную гиперболическую.

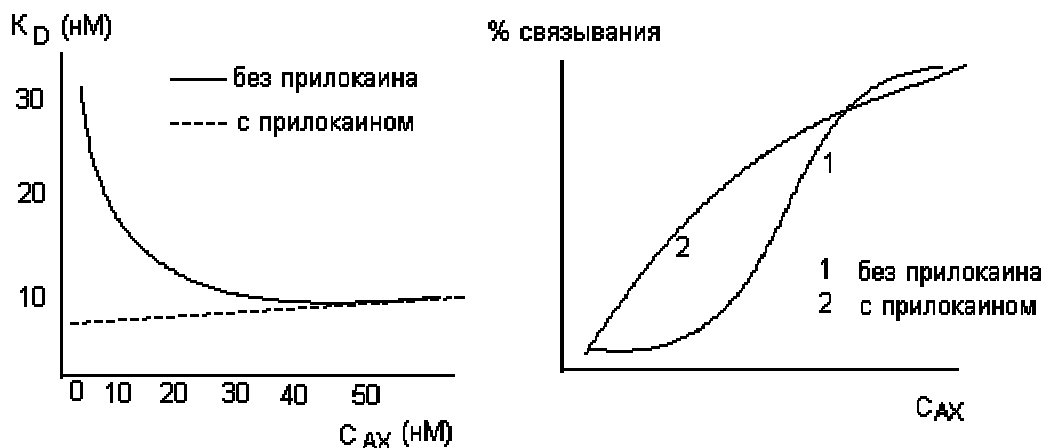


Рисунок 1. Влияние прилокаина на процесс связывания ацетилхолина с холинорецептором (J.B. Cohen et al., 1974)

2.4. Эффективность

В многочисленных опытах показано, что между способностью вещества образовывать комплекс с рецептором определенного вида и выраженностью формирующегося при этом биологического эффекта (например, сокращение гладкомышечных волокон стенки кишечника, изменение сердечного ритма, выделение секрета желез и т.д.) далеко не всегда прослеживается прямая зависимость. Для описания результатов экспериментальных исследований, в которых эта зависимость изучалась, предложен ряд теорий.

Как указывалось ранее, все токсиканты, взаимодействующие с рецептором условно могут быть подразделены на агонисты и антагонисты. В этой связи ниже, при обозначении концентрации токсиканта в среде, будут использоваться соответственно символы: $[A]$ - концентрация агониста; $[B]$ - концентрация антагониста.

2.4.1. Оккупационные теории

Самая первая из предложенных теорий принадлежала Кларку (1926), который предположил, что выраженность наблюдаемого эффекта линейно связана с количеством рецепторов, оккупированных токсикантом ($[RP]/[R]$).

Как следует из уравнения (4)

$$[RA]/[R]_T = [A]/([A] + K_A) = E_A/E_M \quad (6)$$

где E_A - выраженность эффекта от действия агониста в примененной концентрации;

E_M - максимально возможный эффект со стороны исследуемой биологической системы;

K_A - константа диссоциации комплекса "агонист-рецептор".

Согласно теории Кларка 50% выраженности эффект развивается при такой дозе агониста, при которой оккупировано 50% рецепторов ($[A]_{50}$). Эта доза вещества называется среднеэффективной (ED_{50}).

Аналогично, в соответствии с законом действия масс, с рецептором взаимодействует и антагонист, не вызывая при этом эффекта

$$K_B = [B][R]/[BR] \quad (8)$$

где K_B - константа диссоциации комплекса "рецептор-антагонист".

Если агонист и антагонист действуют на рецептор одновременно, то, естественно, количество рецепторов, способных связаться с агонистом понижается. Общее количество рецепторов в биообъекте может быть обозначено как

$$[R]_T = [R] + [RA] + [RB] \quad (9)$$

В соответствии с рассматриваемой теорией токсикант может быть либо агонистом, либо антагонистом. Однако результаты многочисленных исследований указывают на то, что подобная классификация веществ оказывается недостаточной для описания наблюдаемых эффектов. Так установлено, что максимальный эффект, вызываемый различными агонистами, действующими на одну и ту же рецепторную систему, не одинаков.

Для преодоления этого противоречия Стефенсоном (1956) были предложены три допущения:

- максимальный эффект может быть вызван агонистом даже в том случае, если оккупирована лишь незначительная часть рецепторов;
- развивающийся эффект не линейно связан с количеством оккупированных рецепторов;
- токсиканты обладают неодинаковой эффективностью (относительной возбуждающей активностью), т.е. способностью вызывать эффект, взаимодействуя с рецептором. Следовательно, вещества с различной эффективностью для того, чтобы вызвать одинаковый по выраженности эффект, должны оккупировать различное количество рецепторов.

В соответствии с этими представлениями сила эффекта зависит не только от числа занятых рецепторов, но и от величины некоего стимула "S", формирующегося при образовании комплекса "токсикант-рецептор":

$$E_A/E_M = f(S) = f(e[RA]/[R]_T) = f(e y_A) \quad (10)$$

где e - безразмерная величина, характеризующая эффективность агониста. По Стефенсону - это мера способности токсиканта вызывать эффект, при образовании комплекса с рецептором. Количественно Стефенсон определил $e = 1$, при условии, что максимальный эффект от действия вещества на биосистему составляет 50% от теоретически возможной ответной реакции этой биосистемы на возбуждающий стимул.

Фурхголт (1964) предположил, что значение "е" прямо зависит от общей концентрации рецепторов в биологической системе $[R]_T$, и ввел дополнительное понятие "внутренняя эффективность" вещества (ϖ), величина которой обратно пропорциональна концентрации рецепторов в системе

$$\varpi = e/[R]_T \quad (11)$$

Как следует из уравнения (10)

$$E_A/E_M = f(\varpi [R]_T y_A) \quad (12)$$

Подстановка выражения (6) в уравнение (12) приводит к

$$E_A/E_M = f(e[A]/([A] + K)) \quad (13)$$

Если концентрация готовых к взаимодействию с агонистом рецепторов уменьшается в q раз (при необратимой блокаде рецепторов антагонистом), то реальная эффективность изучаемого вещества становится равной qe , тогда уравнение (13) принимает вид

$$E_A^*/E_M^* = f(qe[A^*]/([A^*] + K)) \quad (14)$$

Данная закономерность графически представлена на рисунке 2.

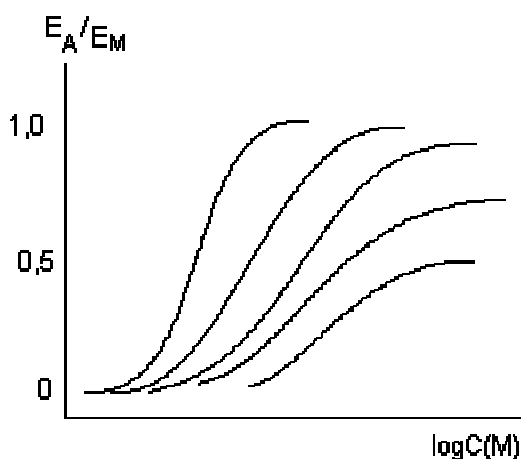


Рисунок 2. Действие гистамина на препарат тонкой кишки морской свинки в условиях возрастающей блокады рецепторов дибенамином ($ED_{50} = 0,24 \mu\text{M}$; $K_A = 10 \mu\text{M}$; $e = 21$) (R.F. Furchgott, 1966)

Еще одна концепция, позволяющая описать зависимость между действующей концентрацией вещества и выраженностью развивающегося эффекта, предложена Ариенсом (1954). Автор предлагает характеризовать исследуемое вещество величиной, обозначаемой как "внутренняя активность" (α^E)

$$(\alpha^E) = E_{A, \text{MAX}}/E_M \quad (15)$$

Поскольку теоретически возможный максимальный эффект можно определить в эксперименте лишь при использовании сильного агониста, обычно значение α^E для большинства веществ лежит в интервале $0 < \alpha^E < 1$. Для полного агониста $\alpha^E = 1$, α^E антагониста равна 0.

Таким образом, максимально возможный биологический эффект может развиваться при оккупации токсикантом части рецепторов. В этом случае необратимое связывание некоторого количества рецепторов должно приводить лишь к смещению кривой "доза-эффект" вправо, без снижения величины максимального эффекта. Только при переходе определенной границы связывания рецепторов с антагонистом начинает снижаться и величина максимального эффекта.

Обычно в ходе исследований зависимости "доза-эффект" с позиций оккупационных теорий для характеристики токсикантов определяют следующие параметры:

1. K_A - константу ассоциации комплекса "агонист-рецептор" ($pK_A = -\lg K_A$). Так как значение этой величины часто оценивают непрямым методом (т.е. не по количеству образовавшегося комплекса "токсикант-рецептор", а по величине развившегося эффекта при добавлении в среду определенного количества токсиканта) на основании концепции "стимулов", лучше говорить о "кажущейся" константе ассоциации.

2. EC_{50} или ED_{50} - такие концентрации или дозы токсиканта, при действии которых формируется ответная реакция биологического объекта равная по интенсивности 50% от максимально возможной ($pD_2 = -\lg ED_{50}$).

3. K_B - константу диссоциации комплекса "рецептор-антагонист". Сила действия конкурентного антагониста может быть выражена лишь с помощью одного параметра - сродства к рецептору. Этот параметр оценивается при обязательном внесении в инкубационную среду агониста.

2.4.2. Теория "скорости взаимодействия"

Для объяснения данных, выявляемых в процессе изучения зависимости "доза-эффект", которые не могут быть поняты с позиций оккупационной теории, Пэтоном (1961) была предложена теория "скорости взаимодействия".

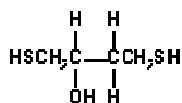
Пэтон предположил, что выраженность ответной реакции биологической системы на действие вещества определяется не только числом оккупированных им рецепторов, но и скоростью, с которой вещество вступает во взаимодействие с рецептором, а затем отсоединяется от него. Автором было использовано такое сравнение: рецептор, это не клавиша органа, на которую чем дольше нажимаешь, тем дольше извлекаешь звук, но это клавиша фортепиано - здесь звук извлекается в момент удара, а затем, даже если долго держишь клавишу нажатой, звук все равно затухает.

В соответствии с теорией Пэтона, сильные агонисты - это вещества, быстро оккупирующие и быстро покидающие рецептор; антагонисты - это вещества, на долго связывающие рецептор.

2.4.3. Теории конформационных изменений рецептора

Для многих веществ кривая "доза-эффект" существенно отклоняется от гиперболической функциональной зависимости. Коэффициент Хила для этих кривых не равен 1 (см. выше). Как уже указывалось, эти особенности, а также S-образный характер кривых "доза-эффект" иногда может быть объяснен явлением кооперативного взаимодействия рецепторных белков. Показано также, что многочисленные химические модификаторы рецепторов (например дитиотреитол - восстановитель

сульфгидрильных групп), необратимые блокаторы холинорецепторов (например β -галогеналкиламины), другие антихолинэргические препараты (атропин), конкурентные миорелаксанты, местные анестетики и многие другие вещества, изменяют вид кривой "доза-эффект" для агонистов, превращая её из S-образной в гиперболическую.



дитиотреитол

Для объяснения этих и других феноменов, трудно интерпретируемых с позиций оккупационных теорий (сенситизация и десенситизация рецепторов при действии агонистов), Катцем и Теслефом еще в 1957 году, на примере изучения действия миорелаксантов, была выдвинута циклическая (конформационная) модель взаимодействия токсиканта с рецептором.

В основе модели лежит представление, согласно которому как рецептор [R], так и комплекс "токсикант-рецептор" [RP] могут находиться в активном (R_A , RP_A) и неактивном состоянии (R_I , RP_I). Схематически это представлено на рисунке 3.

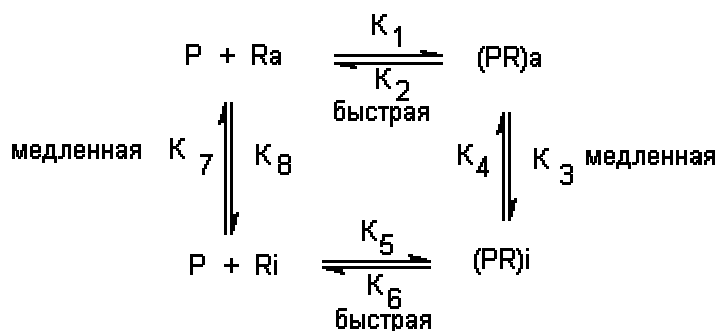


Рисунок 3. Схема взаимодействия токсиканта с рецептором в соответствии с моделью Катца - Теслефа.

Эта модель позволяет объяснить действие на рецептор агонистов и конкурентных антагонистов.

Агонист, например ацетилхолин, взаимодействует с R_A , поскольку имеет более высокое сродство к R_A , чем к R_I , при этом образуется комплекс RP_A . Равновесие между RP_A и RP_I сдвинуто в сторону RP_A , так как R_I имеет низкое сродство к агонисту, а комплекс RP_I диссоциирует с образованием свободного R_I . Развитие эффекта формируется на этапе конформационного превращения RP_A в RP_I . Интенсивность стимула, возникающего в биологической системе, зависит от количества таких превращений в единицу времени. Конкурентные антагонисты, например d-тубокурарин, имеют большее сродство к R_A и снижают эффект агониста, выключая часть рецепторов из процесса взаимодействия с последним.

Основываясь на этой модели, практически не возможно экспериментально определить значение соответствующих констант превращений или внутреннюю активность агонистов. Поэтому до настоящего времени в эксперименте по-прежнему широко используют оккупационные модели.

3. Зависимость "доза-эффект" на уровне организма

3.1. Предварительные замечания

Биологическими системами, в отношении которых в токсикологии изучается зависимость "доза-эффект" являются ткани, органы, целостный организм. Чувствительность различных органов и систем организма к токсиканту не одинакова. Вот почему этот этап исследований необходим для развернутой характеристики токсичности исследуемого вещества.

Изучение изолированных органов в искусственных условиях, моделирующих естественную среду, имеют большое значение для выяснения механизмов взаимодействия токсиканта и организма. Описанные выше теории рецепторного действия токсикантов сформулированы, в основном, на основе данных, полученных в опытах именно на изолированных органах. Не удивительно, что и в настоящее время исследования на этих объектах занимают важное место в токсикологии.

3.2. Кривая "доза-эффект"

В общем виде можно предположить, что кривая "доза-эффект" агониста в полулогарифмических координатах (логарифм дозы - выраженность эффекта) принимает S-образную форму не зависимо от целого ряда качественных и количественных особенностей оцениваемой функции. Метод, с помощью которого изучается зависимость, то ли постепенное добавление токсиканта в инкубат, то ли однократное действие вещества на биообъект в возрастающих концентрациях, не оказывают существенного влияния на результат, если эффект не оценивается в абсолютных значениях, а выражается в процентах от

максимально возможного (100%). Применение относительных величин целесообразно хотя бы потому, что любой биологический препарат, при самом тщательном приготовлении, уникален во всех своих свойствах, в том числе и по чувствительности к химическим веществам. Кроме того, в ходе эксперимента реакционная способность препарата падает. Эти обстоятельства и предполагают обязательную стандартизацию объекта перед исследованием. Графическое представление кривой "доза-эффект" токсиканта Р в сравнении с кривой для некоего стандартного вещества дает всю необходимую информацию о действии Р, включая его токсикометрические характеристики.

Поскольку непосредственное сравнение кривых, получаемых в ходе эксперимента, осуществлять технически сложно, чаще сравнивают важнейшие параметры кривых.

3.2.1. Среднеэффективная доза (ED_{50})

Основным параметром зависимости "доза-эффект" для определенного токсиканта и биологического объекта является величина среднеэффективной дозы (ED_{50}), т.е. такая доза вещества, при действии которой на объект развивается эффект, равный 50% от максимально возможного. При работе на изолированных органах обычно используют величину EC_{50} (среднеэффективная концентрация вещества в пробе). Эффективные дозы обычно измеряют в единицах массы токсиканта на единицу массы биологического объекта (например, мг/кг); эффективные концентрации - в единицах массы токсиканта на единицу объема используемой среды (например, г/литр; М/литр). Вместо величины ED_{50} иногда используют её отрицательный логарифм: $-\log ED_{50} = pD_2$ (таблица 3).

Таблица 3. Величины pD_2 для некоторых токсикантов, полученных в эксперименте на изолированном органе (оцениваемый эффект - сокращение мышечных волокон препарата) (J.M. Van Rossum, 1966)

Вещество	Изолированный орган	pD_2
ацетилхолин	кишка крысы	6,5
ареколин	- ,, -	6,3
пилокарпин	- ,, -	4,8

3.2.2. Относительная активность

Другим параметром зависимости "доза-эффект" является относительная активность токсиканта, величина, определяемая как отношение эффекта, вызываемого токсикантом в данной дозе, к максимально возможному эффекту, развивающемуся при действии на биосистему. Это характеристика определяется, как указывалось выше, величиной внутренней активности вещества (α^E).

В узком смысле слова это понятие описывает феномен различия свойств агонистов, с учетом четко очерченных представлений о механизме их токсического действия. Однако в настоящее время его не редко трактуют в расширенном смысле, как показатель сравнения активности веществ, обладающих определенными свойствами, без учета механизмов, посредством которых они иницируют наблюдаемый эффект. На рисунке 4 представлены кривые "доза-эффект" серии веществ, различающихся значением величин α^E и, соответственно, ED_{50} , действующих на парасимпатический отдел вегетативной нервной системы.

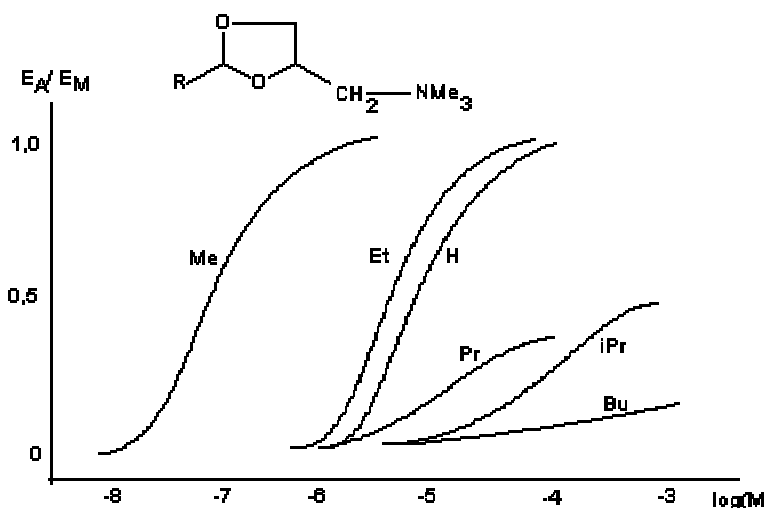


Рисунок 4. Кривые "доза-эффект" серии парасимпатомиметиков ($0 < \alpha^E < 1,0$), полученные на препарате изолированной тонкой кишки крысы. (J.M. Van Rossum, 1966)

3.3. Биологическая изменчивость

Уже указывалось, что на одном и том же биологическом объекте можно поставить ограниченное количество токсикологических экспериментов (в простейших случаях - ввести животному дозу вещества;

добавить в инкубационную среду, содержащую изолированный орган, вещество в возрастающей концентрации и т.д.). Поиск зависимости "доза-эффект" для одного, и тем более, нескольких токсикантов требует постановки множества экспериментов, что предполагает использование большого количества биологических объектов. В этой связи исследователь сталкивается с явлением биологической изменчивости. Даже при тщательном отборе встречаются объекты, как чрезвычайно чувствительные, так и малочувствительные к действию химических веществ, что приводит к известной вариабельности получаемых результатов. Необходимо иметь в виду, что способ учета этого феномена в ходе анализа экспериментальных данных часто оказывает влияние на итоговые значения изучаемых характеристик токсикантов.

В основе учета феномена биологической изменчивости лежит метод усреднения полученных данных. При установлении величины ED_{50} , оказывается безразличным проведено ли усреднение доз, вызывающих одинаковый эффект на нескольких биообъектах, либо значений эффектов, полученных при действии определенных доз токсиканта (рисунок 5). Если же поставлена задача получить результирующую кривую "доза-эффект", то усреднению подлежат только дозы, вызывающие со стороны биообъекта эффекты определенной выраженности. При ином подходе (усреднение эффектов) наблюдается существенное снижение крутизны итоговой кривой "доза-эффект" в сравнении исходными данными.

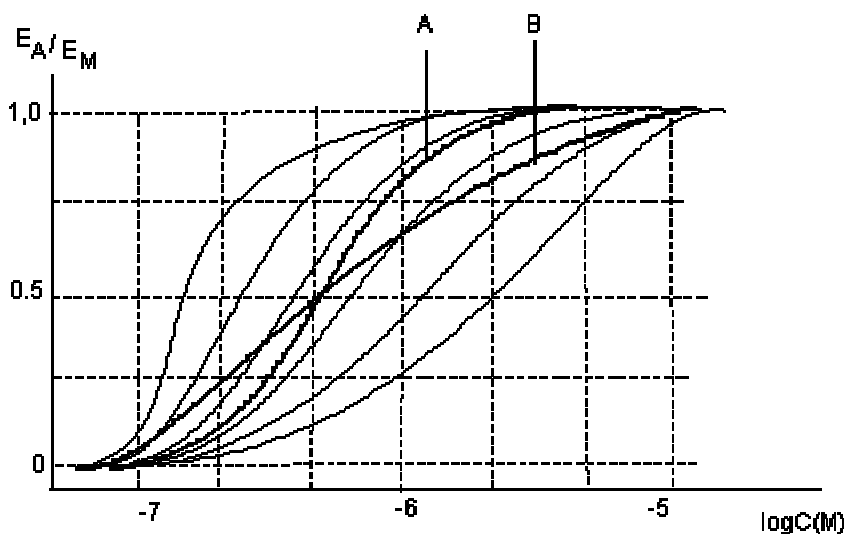


Рисунок 5. Построение усредненной кривой доза-эффект с использованием данных, полученных на нескольких биопрепаратах с различной чувствительностью к исследуемому токсиканту. Использование метода усреднения доз, вызывающих одинаковые эффекты (А) дает правильный результат. Метод усреднения эффектов (В) приводит к "уплощенной" результирующей кривой.

3.4. Совместное действие нескольких токсикантов на биообъект

При совместном действии на биообъект агонистов и антагонистов возможны различные модификации зависимости "доза-эффект" (не связанные с различного рода химическими и физико-химическими взаимодействиями ксенобиотиков). Наиболее часто регистрируются такие изменения как:

- параллельный сдвиг кривой "доза-эффект";
- снижение максимальных значений кривой "доза-эффект";
- параллельный сдвиг с одновременным снижением максимальных значений.

В настоящее время для объяснения наблюдаемых эффектов наиболее часто применяют представления оккупационной теории взаимодействия "токсикант-рецептор".

3.4.1. Параллельный сдвиг кривой "доза-эффект"

Главное и наиболее часто используемое объяснение параллельного сдвига кривой "доза-эффект" для вещества (А) при одновременном действии на биопрепарат (внесение в инкубационную среду) вещества (В) с внутренней активностью $\alpha^E = 0$, базируется на допущении, что (В) является конкурентным антагонистом (А).

При сравнении на основе оккупационной теории равноэффективных концентраций агониста в отсутствии $[A]$ и при добавлении антагониста $[A^*]$ в определенной концентрации $[B]$, имеем

$$[A^*]/[A] = 1 + [B]/K_B \quad (16)$$

Поскольку координаты, в которых регистрируются эффекты, и наблюдается параллельный сдвиг, полулогарифмические, при логарифмировании обеих частей уравнения (16) имеем

$$\log[A^*] - \log[A] = \log(1 + [B]/K_B) = S \quad (17)$$

или

$$-\log K_B = \log([A^*]/[A] - 1) - \log[B] \quad (18)$$

Из уравнения (17) видно, что величина сдвига кривой (S) зависит только от концентрации [B] и величины константы диссоциации комплекса антагонист-рецептор K_B (рисунок 6). Соотношение между величиной стимула, вызываемого агонистом, и эффектом со стороны биосистемы не играет никакой роли. Часто для характеристики сродства антагониста к рецептору используют величину $pA_2 = -\log K_B$.

Из уравнений (16) и (17) следует, что pA_2 численно равна отрицательному десятичному логарифму концентрации конкурентного антагониста, при которой необходимо удвоить содержание в среде агониста чтобы получить эффект, регистрируемый в отсутствии антагониста.

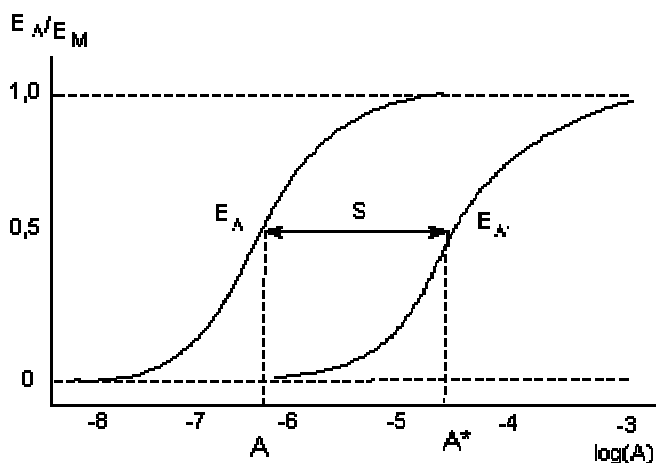


Рисунок 6. Теоретические кривые доза-эффект для агониста при отсутствии (A) и наличии (A*) в инкубационной среде антагониста в определенной концентрации [B]. В приведенном примере сдвиг S равен 1,3 и определяется как $S = \log[A^*] - \log[A]$. Исходя из того, что $S = \log(1 + [B]/K_D)$, K_B может быть определено экспериментально.

3.4.2. Снижение максимальных значений кривой "доза-эффект"

В ряде случаев при изучении зависимости "доза-эффект" для агониста (A*) в присутствии антагониста выявляется, что максимальный наблюдаемый эффект существенно слабее, чем наблюдавшийся от действия того же вещества в отсутствии антагониста (A). Это снижение максимального эффекта, которое может быть оценено в процентах, с позиции оккупационной теории трактуется следующим образом.

Неконкурентный антагонист (B*) реагирует с рецептором (R*) биосистемы, не являющимся рецептором R для агониста (A), при этом образование комплекса $[R^*B^*]$ приводит к понижению эффективности комплекса $[RA]$ понижается. Это приводит к некоему кажущемуся снижению внутренней активности α^E агониста, зависящему от $[B^*]$.

Снижение максимальных значений кривой "доза-эффект" может быть объяснено и необратимым ингибированием рецептора для агониста конкурентным антагонистом (B).

Для количественной характеристики активности неконкурентного антагониста используют величину отрицательного логарифма константы диссоциации комплекса антагонист-рецептор

$$-\log K_{B^*} = pD^*_{2}$$

Для расчета этой величины необходимо экспериментально определить максимально возможное снижение эффекта агониста в присутствии насыщающей концентрации антагониста (E_{AB^*M}). Тогда

$$pD^*_{2} = -\log[B^*] - \log[(E_{AB^*M} - E_A)/(E_{AB^*} - E_A) - 1] \quad (21)$$

С учетом (21) pD_2 можно рассматривать как отрицательный логарифм концентрации неконкурентного антагониста, при которой эффект агониста снижается на половину максимально достижимого уровня. В этом случае $(E_{AB^*M} - E_A)/(E_{AB^*} - E_A) = 2$. Обычно для упрощения расчетов вместо эффекта E_A используют максимальные эффекты, развивающиеся при действии A в разных условиях: E_{AM} , E_{AMB} , E_{AMBM} .

Если с помощью неконкурентного антагониста возможно полностью заблокировать эффект агониста, то величину pD^*_{2} можно рассчитать по более простой формуле

$$pD^*_{2} = -\log[B^*] + \log(E_A/E_{AB^*} - 1) \quad (22)$$

3.4.3. Параллельный сдвиг с одновременным снижением максимальных значений

На практике чрезвычайно редко приходится сталкиваться с веществами (антагонистами), вызывающими либо только параллельный сдвиг, либо только снижение максимальных значений кривой

"доза-эффект" для агониста. Как правило, выявляются оба эффекта. В этой связи становится понятным, что деление многих ксенобиотиков на группы конкурентных и неконкурентных антагонистов ряда рецепторов носит во многом механистический характер. Тем не менее и в данном случае имеется необходимость количественной характеристики действия вещества.

PD_2 рассчитывается в соответствии с уравнением (22), в которое вместо значений эффектов E_A и E_{AB} подставляют значения E_{AM} и E_{AMB} (рисунок 7).

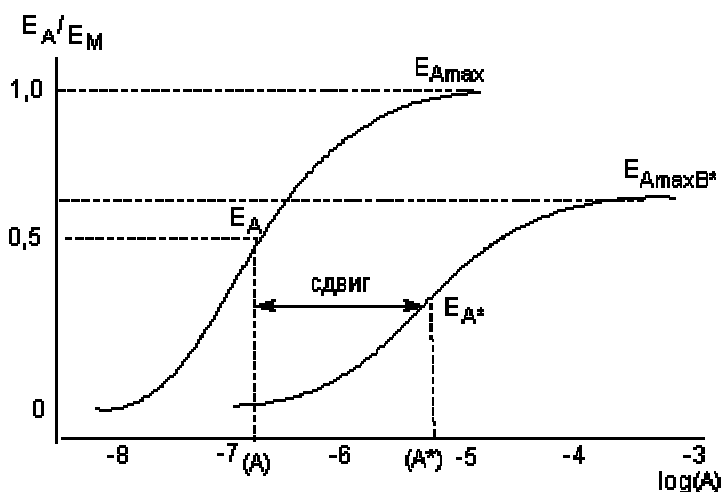


Рисунок 7. Теоретические кривые зависимости относительной эффективности агониста [A] от его концентрации в присутствии в инкубационной среде антагониста [B]. Для расчета величины PD_2 следует использовать отношение условно равноэффективных доз [A] и [A*], после определения соответствующих E_{AM} и E_{AMB*} . Расчет осуществляется в соответствии с уравнением (23), после подтверждения факта, что неконкурентный антагонист является полным.

3.5. Определение кажущихся констант диссоциации комплекса "агонист-рецептор"

В то время, как прямая связь между значениями величин pA_2 и pD^*_2 антагонистов с одной стороны и констант диссоциации комплекса антагонист-рецептор с другой признается хотя бы теоретически, связь между pD_2 и K_A агониста таковой, в строгом смысле не является, поскольку между этапом образования комплекса "агонист-рецептор" и этапом формирования эффекта лежит цепь промежуточных звеньев биохимических и физиологических реакций, как правило далеко не изученных (см. выше). Из этого следует, что непосредственно определить сродство токсиканта к рецептору (т.е. величину константы диссоциации комплекса "токсикант-рецептор") исходя из зависимости "доза-эффект", выстраиваемой в процессе эксперимента, не возможно. Для преодоления этой сложности предлагается определять величину кажущейся константы диссоциации. Классическим является метод с использованием необратимого конкурентного антагониста.

В 1956 году Nickerson установил, что алкилирующие соединения типа β -галогеналкиламинов, например дибенамин и феноксibenзамин, могут вступать в необратимое взаимодействие с рецепторами различных типов. Связываются рецепторы к ацетилхолину, гистамину, серотонину, α -адренорецепторам. Изучая совместное взаимодействие ингибиторов и агонистов с биопрепаратами, удалось:

- установить специфический характер действия галогеналкиламинов на агонист-связывающую область рецепторов;

- уточнить классификацию рецепторов в соответствии с их сродством к эндогенным агонистам.

Furchgott предложил метод, основанный на сравнении эквивалентных доз агониста, действующего на интактный биопрепарат и препарат, обработанный предварительно ингибитором рецепторов (уменьшение $[R]_T$ на величину $q[R]_T$).

Эффект, связанный с действием агониста до блокады рецепторов описывается уравнением (13), после блокады - уравнением (14). Одинаковый по выраженности эффект в этих условиях развивается при одинаковой величине стимула S. Если $S = S^*$, то $E_A/E_M = E_{A^*}/E_{M^*}$, и тогда, комбинируя уравнения 13 и 14, получаем

$$1/[A] = 1/q \cdot 1/[A] + (1-q)/qK_A \quad (23)$$

Выстраивая зависимость в координатах $1/[A]$ и $1/[A^*]$ получаем прямую с углом наклона $1/q$ и отрезок на оси $1/[A]$, равный $(1-q)/qK_A$. Для практического определения K_A можно использовать выражение

$$K_A = (\text{наклон} - 1)/\text{отрезок}$$

Процесс подготовки данных представлен на рисунке 8:

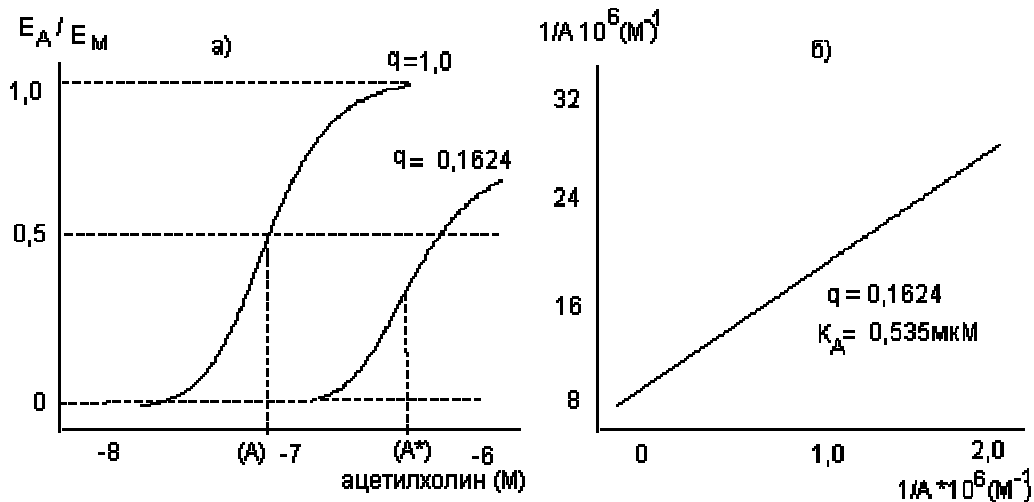


Рисунок 8. Определение величины кажущейся константы диссоциации агонистов на мускариночувствительный рецептор продольной мышцы тонкой кишки морской свинки.

а). Кривая зависимости доза-эффект ацетилхолина для интактного препарата ($q = 1$), и препарата, обработанного в течение 20 минут фенокисбензамином (5мкМ) ($q = 0,1624$).

б). Построение графика соотношения равноэффективных доз для интактного и обработанного препарата в координатах $1/[A]$ и $1/[A^*]$ приводит к прямой, на основе которой (а также уравнения 23) можно вычислить значения константы диссоциации.

4. Зависимость "доза-эффект" в группе

4.1. Зависимость "доза-эффект" для одного токсиканта

При изучении зависимости "доза-эффект" в группе, состоящей из большого количества особей, можно исходить из представлений, развитых при изучении зависимости на уровне отдельного организма. Дополнительным фактором, влияющим на получаемый результат, является индивидуальная изменчивость.

Однако хотя реакция отдельных людей или животных в группе на токсикант не одинакова, по мере увеличения действующей дозы тем не менее будет увеличиваться и выраженность эффекта и количество индивидов (особей), у которых развивается оцениваемый эффект. Например, если на кожу испытуемых апплицировать вещество, вызывающее раздражение (ирритант), то по мере увеличения количества наносимого токсиканта будут отмечаться: - увеличение числа испытуемых, у которых разовьется реакция раздражения; - увеличится выраженность явления раздражения у испытуемых. Из этого следует, что получаемые в ходе работы величины должны определяться с учетом статистических закономерностей.

При изучении действия токсиканта на организм следует различать эффекты, выраженность которых градуально зависит от действующей дозы (например, понижение артериального давления) и эффекты типа "все или ничего" (пал/выжил). При этом следует учитывать, что эффекты первого типа можно практически всегда преобразовать в форму, пригодную для оценки эффектов второго типа. Для определения зависимости "доза-эффект" в группе обычно прибегают к двум типам построения эксперимента:

- с образованием подгрупп исследуемых животных;
- без образования подгрупп.

4.1.1. Анализ зависимости "доза-эффект" методом формирования подгрупп

Наиболее распространенный способ определения зависимости "доза-эффект" в группе состоит в формировании в этой группе подгрупп. Животным, входящим в подгруппу токсикант вводят в одинаковой дозе, а в каждой последующей подгруппе доза увеличивается. Формирование подгрупп должно осуществляться методом случайных выборок. С увеличением дозы будет увеличиваться часть животных в каждой из подгрупп, у которых развился оцениваемый эффект. Получаемую при этом зависимость можно представить в виде кумулятивной кривой частот распределения, где количество животных с положительной реакцией на токсикант (часть общего количества животных в подгруппе) является функцией дозы (рис. 9)

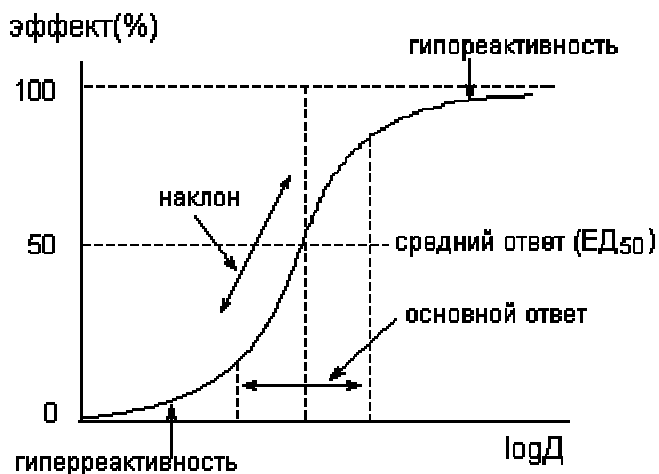


Рисунок 9. Типичная кривая доза - эффект для группы животных, симметричная относительно средней точки (50% ответ). Основные значения ответа группы на токсикант сосредоточены вокруг среднего значения.

В большинстве случаев график представляет собой S-образную кривую log-нормального распределения, симметричную относительно средней точки. Можно выделить ряд важных характеристик этой кривой, которые целесообразно учитывать при интерпретации получаемых результатов.

1. Центральная точка кривой (значение 50% ответа) или средняя эффективная доза (ED_{50}) - удобный способ характеристики токсичности вещества. Если оцениваемый эффект - летальность животных в группе, эта точка обозначается, как среднесмертельная доза (см. ниже). Эта величина является наиболее точной количественной характеристикой токсичности, поскольку значение 95% доверительного интервала здесь минимальны.

2. Чувствительность большинства животных в популяции близка среднему значению. Интервал доз, включающий основную часть кривой вокруг центральной точки, иногда обозначается как "потенция" препарата.

3. Небольшая часть популяции в левой части кривой "доза-эффект" реагирует на малые дозы токсиканта. Это группа сверхчувствительных или гиперреактивных особей. Другая часть популяции в правой части кривой реагирует лишь на очень большие дозы токсиканта. Это малочувствительные, гипореактивные или резистентные особи.

4. Наклон кривой "доза-эффект", особенно вблизи среднего значения, характеризует разброс доз, вызывающих эффект. Эта величина указывает, как велико будет изменение реакции популяции на действие токсиканта с изменением действующей дозы. Крутой наклон указывает на то, что большая часть популяции будет реагировать на токсикант примерно одинаково в узком диапазоне доз, в то время как пологий наклон свидетельствует о существенных различиях в чувствительности особей к токсиканту.

Форма кривой и её экстремальные точки зависят от целого ряда внешних и внутренних факторов, таких как состояние механизмов репарации повреждений, обратимость вызываемых эффектов и т.д. Так, токсический процесс может не развиваться до тех пор пока не истощатся механизмы защиты организма от действующего токсиканта, не наступит насыщение процессов биохимической детоксикации. Точно также насыщение процессов образования токсичных метаболитов из исходного ксенобиотика может явиться причиной выхода кривой "доза-эффект" на плато.

Важным вариантом кривой "доза-эффект" является зависимость, прослеживаемая в генетически гетерогенной группе. Так, в популяции с необычайно высоким количеством особей, у которых генетически закреплена повышенная чувствительность к токсиканту, возможно зарегистрировать в левой части кривой отклонения от типичной S-образной формы (Рис. 10).

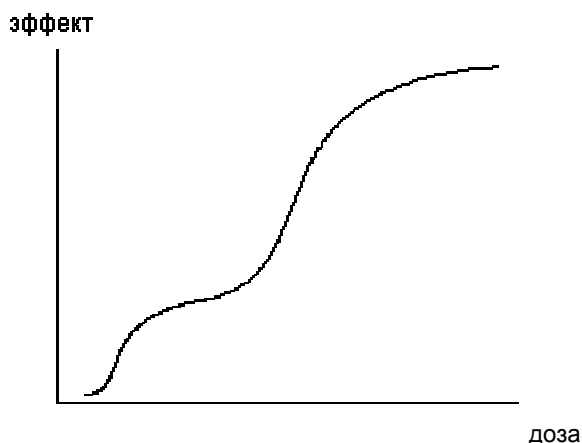


Рисунок 10. Вариант кумулятивной кривой "доза-эффект" с выраженным гиперреактивным компонентом

Кривая "доза-эффект" часто преобразуется в линейную зависимость путем её построения в координатах $\log$ - пробит (доза токсиканта представляется в логарифмах, выраженность ответной реакции - в пробитах). Это преобразование позволяет исследователю подвергнуть результаты математическому анализу (например, рассчитать доверительный интервал, крутизну наклона кривой и т.д.) (рис. 11).

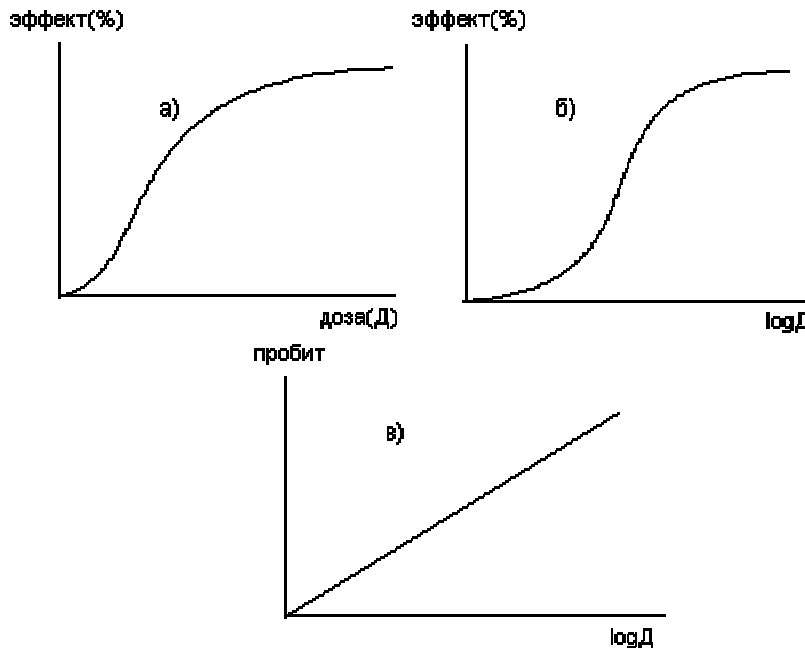


Рисунок 11. Преобразование экспериментальных данных определения зависимости "ДОЗА - ЭФФЕКТ": а) зависимость "ЭФФЕКТ - ДОЗА"; б) зависимость "ЭФФЕКТ - $\log$ ДОЗЫ"; в) зависимость "ПРОБИТ ЭФФЕКТА - $\log$ ДОЗЫ".

Методом формирования подгрупп можно определить зависимость выраженности оцениваемого эффекта (например, степень падения артериального давления, снижения двигательной активности и т.д.) от действующей дозы токсиканта. В этом случае, на основе полученных данных определяют среднюю величину эффекта, развившегося в подгруппе испытуемых на вещество в введенной дозе, и определяют доверительный интервал показателя в каждой точке. Затем строят график зависимости величины эффекта от введенной дозы, путем нахождения аппроксимационной кривой через "облако" точек (рисунок 12).

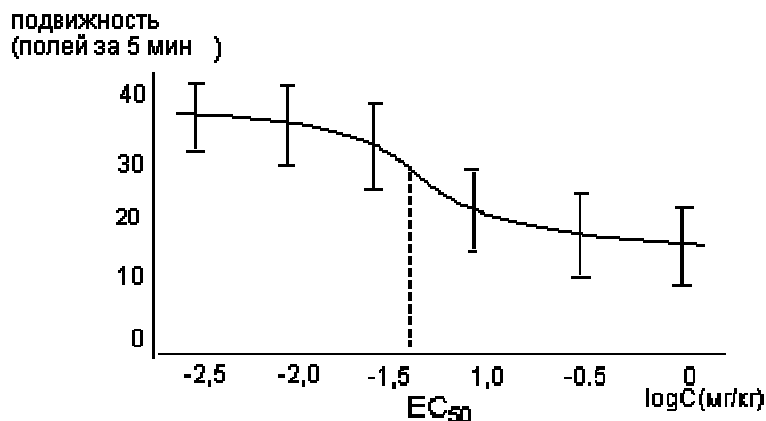


Рисунок 12. Кривая "доза-эффект" для оценки обездвиживающего действия нейролептика пимозиды при внутрибрюшинном введении крысам. Каждая точка на графике получена путем регистрации эффектов, полученных у 10 - 20 животных.

4.1.2. Анализ зависимости "доза-эффект" без формирования подгрупп

При изучении действия быстро распределяющихся, но медленно выводящихся из организма веществ можно обеспечить их постепенное внутривенное введение лабораторному животному, до наступления вполне определенного по выраженности токсического эффекта (например, снижение частоты дыхания на 40%). Таким образом, появляется возможность для каждого отдельного организма определить дозу вещества, вызывающую желаемый эффект. Исследование проводится на достаточно большой группе

животных. Если построить график зависимости числа животных, у которых эффект развился от величины использованных доз, то получим уже известную S-образную кривую, анализ которой осуществляется по общим правилам.

4.1.3. Зависимость "доза-эффект" по показателю летальность

4.1.3.1. Общие представления

Поскольку смертельный исход после действия токсиканта - альтернативная реакция, реализующаяся по принципу "все или ничего", этот эффект считают наиболее удобным для определения токсичности веществ, его используют для определения величины среднесмертельной дозы (ЛД₅₀).

Определение острой токсичности по показателю "летальность" проводится методом формирования подгрупп (см. выше). Введение токсиканта осуществляется одним из возможных способов (энтерально, парентерально) при контролируемых условиях. При этом необходимо учитывать, что способ введения вещества самым существенным образом сказывается на величине токсичности (таблица 4).

Таблица 4. Влияние способа введения на токсичность зарина и атропина для лабораторных животных

Токсикант	Животное	Способ введения	Смертельная доза (мг/кг)
Зарин	Крысы	Подкожно	0,12
		Внутримышечно	0,17
		Внутривенно	0,05
		через рот	0,6
Атропин	Мыши	Внутривенно	800
		через рот	90

Используются животные одного пола, возраста, веса, содержащихся на определенной диете, при необходимых условиях размещения, температуре, влажности и т.д. Исследования повторяют на нескольких видах лабораторных животных. После введения тестируемого химического соединения проводят наблюдения, определяя количество павших животных, как правило за период 14 суток. В случае нанесения вещества на кожу, совершенно необходимо регистрировать время контакта, а также оговаривать условия аппликации (из замкнутого или открытого пространства осуществлялось воздействие). Очевидно, что степень поражения кожи и выраженность резорбтивного действия являются функцией как количества нанесенного материала, так и продолжительности его контакта с кожей. При всех, помимо ингаляционного, способах воздействия экспозиционная доза обычно выражается как масса (или объем) тестируемого вещества на единицу массы тела (мг/кг; мл/кг).

Для ингаляционного воздействия экспозиционная доза выражается как количество тестируемого вещества, присутствующего в единице объема воздуха: мг/м³ или части на миллион (ppm - parts per million). При этом способе воздействия очень важно учитывать время экспозиции. Чем продолжительней воздействие, тем выше экспозиционная доза, выше потенциал неблагоприятного действия. Получаемая информация о зависимости "доза-эффект" для различных концентраций вещества во вдыхаемом воздухе должна быть получена при одинаковом времени экспозиции. Эксперимент может быть построен и иначе, а именно различные группы экспериментальных животных ингалируют вещество в одинаковой концентрации, но в течение различного времени.

Для приблизительной оценки токсичности ингаляционно действующих веществ, одновременно учитывающей и концентрацию токсиканта и время его экспозиции, принято использовать величину "токсодоза", рассчитываемую по формуле, предложенной Габером в начале века:

$$W = C \cdot t, \text{ где}$$

W - токсодоза (мг мин/м³)

C - концентрация токсиканта (мг/м³)

t - время экспозиции (мин)

Предполагается, что при непродолжительной ингаляции веществ одинаковый эффект (гибель лабораторных животных) будет достигаться как при краткой экспозиции высоких доз, так и более продолжительном воздействии веществ в меньших концентрациях, при этом произведение времени на концентрацию для вещества остается неизменным. Наиболее часто к определению токсодоз веществ, прибегали для характеристики боевых отравляющих веществ. Величины токсичности некоторых ОВ представлены на таблице 5.

Таблица 5. Токсодозы отравляющих веществ (при ингаляционном воздействии)

Вещества	LC _{T50} (мг мин/м ³)
1. Удушающего действия	
- хлор	19000
- фосген	3200
- дифосген	3200
- хлорпикрин	800
2. Общеядовитого действия	
- мышьяковистый водород	5000

- синильная кислота	2000
- хлорциан	7000
3. Кожно-нарывного действия	
а. Соединения мышьяка:	
- метиларсиндихлорид	3000
- этиларсиндихлорид	3000 - 5000
- фениларсиндихлорид	2600
- 2-хлорвиниларсиндихлорид	1200 - 1500
б. Иприты:	
- дихлор-диэтилсульфид	1500
- трихлор-триэтиламин	1500
4. Нервно-паралитического действия (ФОВ)	
- табун	400
- зарин	70
- зоман	100
- Vx	100

(M. Kruger, 1991)

Кривая "доза-летальность" как правило, аналогична по форме кривой распределения кумулятивной частоты эффекта для других зависимостей "доза-эффект" (см. выше). Для целей сравнения получаемых данных и статистической их обработки кривую преобразуют в форму линейной зависимости, используя систему координат "log D - пробит".

Токсичность по показателю "летальность", как правило, устанавливается по определенному уровню гибели животных в группе. Наиболее часто в качестве контрольного уровня используется 50% гибель животных, так как это соответствует медиане кривой распределения дозы, вокруг которой симметрично концентрируется большинство позитивных ответных реакций (см. выше). Эта величина и получила название - среднелетальная доза (концентрация). По определению вещество, действуя в этой дозе, вызывает гибель половины популяции животных.

Концепция определения ЛД₅₀ веществ была впервые сформулирована Trevan в 1927 году. С этого момента начинается становление токсикологии как настоящей науки, оперирующей количественными характеристиками исследуемого свойства (величина токсичности).

В качестве других уровней смертности, подлежащих определению, могут быть выбраны величины ЛД₅, ЛД₉₅, которые согласно законам статистики близки соответственно к порогу и максимуму токсического действия и являются границами дозового интервала, в рамках которого, в основном, и реализуется эффект.

По этическим и экономическим соображениям в опыт для определения ЛД₅₀ стараются брать минимальное количество лабораторных животных. В этой связи определение искомой величины всегда сопряжено с фактором неопределенности. Эта неопределенность учитывается путем нахождения 95% доверительного интервала определяемой величины. Дозы, попадающие в этот интервал, не являются среднесмертельными лишь с вероятностью менее 5%. Доверительный интервал величины ЛД₅₀ значительно меньше, чем доверительные интервалы доз других уровней летальности, что является дополнительным аргументом в пользу именно этой характеристики параметров острой токсичности.

Как уже указывалось важной характеристикой любой кривой "доза-эффект" является её крутизна. Так, если два вещества имеют статистически не различимые значения величин ЛД₅₀ и одинаковую крутизну кривой токсичности "доза-эффект" (т.е. статистически не различимые величины значений соответственно ЛД₁₆ и ЛД₈₄), они, по показателю летальность - эквитоксичны в широком диапазоне доз (вещества А и В на рис. 13). Однако вещества, имеющие близкие значения величин ЛД₅₀, но различную крутизну кривой токсичности существенно отличаются по своим токсическим свойствам (вещество С на рис. 13).

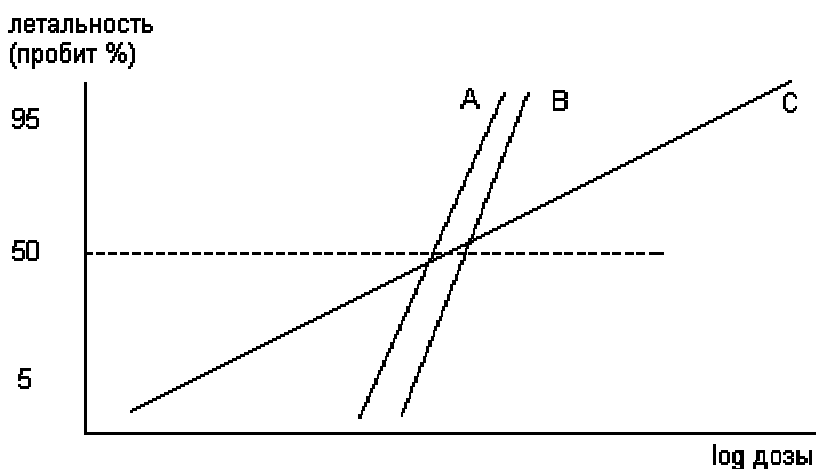


Рисунок 13. Зависимости "доза-эффект" токсикантов с близкими значениями величин ЛД₅₀, но различной крутизной наклона

Вещества с пологой зависимостью "доза-эффект" представляют большую опасность для лиц с выраженной гиперчувствительностью к токсикантам. Вещества с высокой крутизной зависимости более опасны для всего населения, поскольку даже незначительное увеличение дозы по сравнению с минимально действующей приводит к развитию эффекта у большинства популяции.

4.1.3.2. Определение безопасных доз действия токсикантов

В ряде случаев возникает необходимость количественно определить величину максимальной недействующей (безопасной) дозы токсикантов.

Методика решения этой задачи предложена Годдам. Исследование строится на установлении зависимости "доза-эффект" в группе животных. Желательно, чтобы оцениваемый эффект был достаточно чувствительным и оценивался не в альтернативной форме (например снижение активности фермента, подъем артериального давления, замедление роста, нарушение кроветворения и т.д.). График зависимости строится в координатах "логарифм дозы - выраженность эффекта". Анализ кривой позволяет оценить ряд показателей. Поскольку кривая, как правило, имеет S-образную форму, выделяют участок, в пределах которого зависимость носит линейный характер. Определяют крутизну прямой (b). Пороговый эффект (y_s) определяют по формуле: $y_s = tS$, где t - коэффициент Стьюдента, определяемый по соответствующим таблицам; S - величина стандартного отклонения, определяемая из данных опыта. Пороговая доза (D_s) - это такая доза, действующая в которой вещество вызывает пороговый эффект. Для безопасной дозы (D_l) имеем

$$\log D_l = \log D_s - 6(S/b)$$

Пример, представленный на рисунке 14, комментирует определение безопасной дозы.

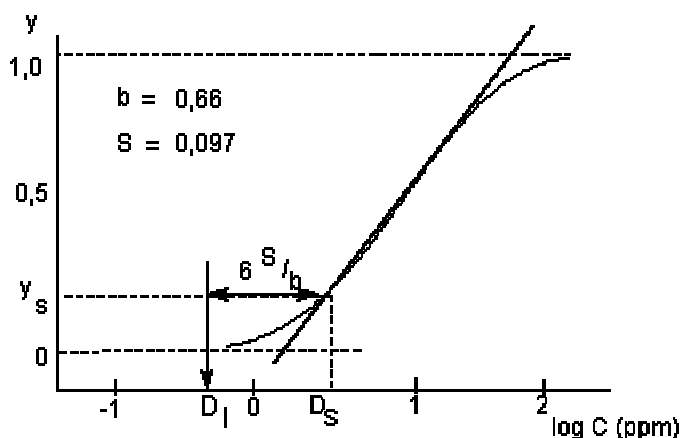


Рисунок 14. Графический метод определения порога безопасного действия ксенобиотика.

Пример. В течение нескольких недель крысам в корм добавляли систокс (инсектицид) в различных концентрациях (части на миллион по массе). Эффект оценивали по степени угнетения активности холинэстеразы крови. Каждая точка на графике представляет собой среднюю величину из 6 - 12 наблюдений. На графике рисунка 14 по оси "y" представлены данные о различии активности фермента у интактных и экспериментальных животных (в относительных единицах от 0 до 1,0); по оси "x" - логарифм концентрации токсиканта. Как следует из полученных данных, начиная с определенной дозы (концентрации) зависимость приобретает линейный характер. Крутизна прямой (b) равна - 0,66; среднее значение всех стандартных отклонений в отдельных группах $S = 0,097$; $t = 2$. Отсюда пороговый эффект $y_s = 2 \times 0,097 = 0,194$. Соответствующее значение D_s , как следует из графика, равно 0,42. Тогда имеем: $\log D_l = 0,42 - 6(0,097/0,66) = -0,462$. Таким образом, безопасное (недействующее) содержание систокса в пище составляет 0,34 части на миллион.

4.1.3.3. Интерпретация и практическое использование результатов

Как правило, основной вывод, который делает токсиколог при установлении позитивной зависимости "доза-эффект", состоит в том, что между воздействием исследуемого вещества и развитием токсического процесса существует причинно-следственная связь. Однако информация о зависимости должна интерпретироваться только относительно условий, в которых она получена. Большое количество факторов влияет на её характер, причем специфично для каждого вещества и биологического вида, на представителей которого вещество действует. В этой связи необходимо учитывать ряд обстоятельств:

1. Точность количественной характеристики значения LD_{50} достигается путем тщательного проведения эксперимента и адекватной статистической обработки получаемых результатов. Если при повторении эксперимента по определению токсичности получают количественные данные, отличные от ранее полученных, это может быть следствием вариативности свойств использованного биологического объекта и условий окружающей среды.

2. Важнейшей характеристикой опасности вещества является время наступления смерти после воздействия токсиканта. Так, вещества с одинаковым значением LD_{50} , но разным временем наступления

смерти могут представлять различную опасность. Быстро действующие вещества часто рассматриваются как более опасные. Однако вещества "замедленного действия" с очень продолжительным скрытым периодом часто склонны к кумуляции в организме и в силу этого также чрезвычайно опасны. К числу быстро действующих токсикантов относятся боевые отравляющие вещества (ФОВ, синильная кислота, вещества раздражающего действия и т.д.). Вещества замедленного действия - это полигалогенированные полициклические углеводороды (галогенированные диоксины, дибензофураны и т.д.), некоторые металлы (кадмий, талий, ртуть и т.д.) и многие другие.

3. Более полная интерпретация полученных результатов по оценке токсичности, помимо определения количественных характеристик, требует детального изучения причин смерти (см. соответствующий раздел). Если вещество может вызвать различные потенциально смертельные эффекты (остановка дыхания, остановка сердечной деятельности, коллапс и т.д.), необходимо представлять какой из эффектов является ведущим, а также может ли этот феномен стать причиной усложнения зависимости "доза-эффект". Например, различные биологические эффекты могут быть причиной гибели в острой и отставленной фазе интоксикации. Так, интоксикация дихлорэтаном уже в первые часы может привести экспериментальное животное к гибели вследствие угнетения ЦНС (наркотический, неэлектролитный эффект). В поздние периоды интоксикации животное погибает от острой почечной и печеночной недостаточности (цитотоксический эффект). Очевидно это имеет значение и при определении количественных характеристик токсичности. Так, трет-бутилнитрит при внутрибрюшинном введении мышам и регистрации смертельного эффекта в течение 30 минут имеет величину ЛД₅₀ равную 613 мг/кг; при регистрации смертельных случаев в течение 7 суток, ЛД₅₀ составляет 187 мг/кг. Смерть в первые минут, по-видимому, наступает в результате ослабления тонуса сосудов и метгемоглибинообразования, в позднем периоде, от поражения печени.

4. Величина ЛД₅₀, полученная в остром опыте, не является характеристикой токсичности вещества при его многократном подостром или хроническом воздействии. Так, для веществ с высокой способностью к кумуляции, значение смертельной концентрации токсиканта в среде, определенное при однократном введении, может оказаться существенно выше концентрации, вызывающей смерть при длительном воздействии. Для слабо кумулирующих веществ эти различия могут быть не столь существенными.

На практике данные о зависимости "доза-эффект" и значения величин ЛД₅₀ часто используют в следующих ситуациях:

1. Для характеристики острой токсичности веществ в ходе рутинных токсикологических исследований и сравнения токсичности нескольких химических соединений.

На основе полученных характеристик ксенобиотик может быть отнесен к одному из четырех классов токсичности (Таблица 6).

Таблица 6. Классификация ксенобиотиков по степени токсичности

Степень токсичности	Энтеральное введение	Ингаляционное введение	
	ЛД ₅₀ (мг/кг)	ЛК ₅₀ (мг/л)	ПДК (мг/м ³)
Чрезвычайно токсичные	менее 15	Менее 1	менее 1
Высокотоксичные	15 - 150	1 - 10	10
Умеренно токсичные	151 - 1500	11 - 40	100
Малотоксичные	более 1500	более 40	более 100

(Заугольников С.Д. и соавт., 1967)

Отнесение веществ к мало- или высокотоксичным во многом носит субъективный характер. Так, Hodg G. и Gleason S. (1975) предлагают иную шкалу токсичности ксенобиотиков (таблица 7).

Таблица 7. Шкала токсичности (смертельное действие) веществ, при их поступлении через рот (По Hodg G., Gleason S., 1975)

Степень токсичности	Сухое вещество (мг/кг)	Жидкое вещество (на человека)
Сверхтоксичные	менее 5	менее 7 капель
Высокотоксичные	5 - 50	7 капель - ложка
Токсичные	50 - 500	ложка - рюмка (30 мл)
Умеренно токсичные	500 - 5000	30 мл - 0,5 л
Малотоксичные	5000 - 15000	0,5 л - 2 л
Нетоксичные	более 15000	более 2 л

В настоящее время в России химические вещества принято разделять на 4 класса опасности (таблица 8).

Таблица 8. Классификация химических веществ по степени опасности (ГОСТ 12.1.007-76)

Показатели	Класс опасности			
	1	2	3	4
ПДК мг/м ³	<0,1	0,1-1,0	1,1-10,0	>10,0
ЛД ₅₀ р/о мг/кг	<15	15-150	151-5000	>5000
ЛД ₅₀ р/cut мг/кг	<100	100-500	501-2500	>2500
ЛК ₅₀ /2 час мг/м ³	<500	500-5000	5001-50000	>50000
КВНО*	>300	300-30	29-3	>3

* КВНО - коэффициент возможности ингаляционного отравления. Определяют, как отношение максимально возможной концентрации токсиканта (пара) в воздухе, к среднесмертельной концентрации

2. Для определения уровней безопасного воздействия токсиканта. Для большинства веществ можно определить дозы, при уменьшении которых, вещества утрачивают способность инициировать токсический процесс. Доза, ниже которой современными методами исследования не выявляется действие химического вещества на биологический объект (организм), называется "пороговой дозой". Концепция пороговости полезна тем, что на её основе с помощью специальных методов определяют, а затем оценивают и юридически утверждают дозы веществ, признаваемые безопасными для человека в условиях повседневной жизни, производства, специальных ситуаций (аварии) - ПДК, МДК, ОБУВ и т.д.

На основе экспериментальных данных по определению зависимости "доза-эффект" также устанавливаются (с учетом представлений о допустимом риске)(см. ниже) пределы допустимого воздействия токсикантов, способных вызывать "беспороговые" эффекты.

3. Для первичной характеристики эффективности специфических противоядий. В ходе подобных исследований обычно устанавливают соотношение параметров кривых зависимости "доза-эффект", полученных в условиях изолированного действия токсиканта и на фоне примененного противоядия (см. ниже).

4.2. Зависимость "доза-эффект" при комбинированном действии нескольких веществ

Схема изучения совместного действия веществ на группе лабораторных животных может быть различной. Обычно изучают выраженность действия одного из веществ в возрастающей дозе на фоне предварительного введения другого вещества в фиксированной дозе. Наиболее часто для объяснения и анализа получаемых результатов используют математический аппарат и представления оккупационной теории. Так, параллельный сдвиг кривой доза-эффект свидетельствует о возможном конкурентном действии препаратов на биомишени в исследуемом организме; понижение или повышение уровня максимального эффекта при совместном действии веществ косвенно указывает на различные точки приложения веществ (рисунок 15).

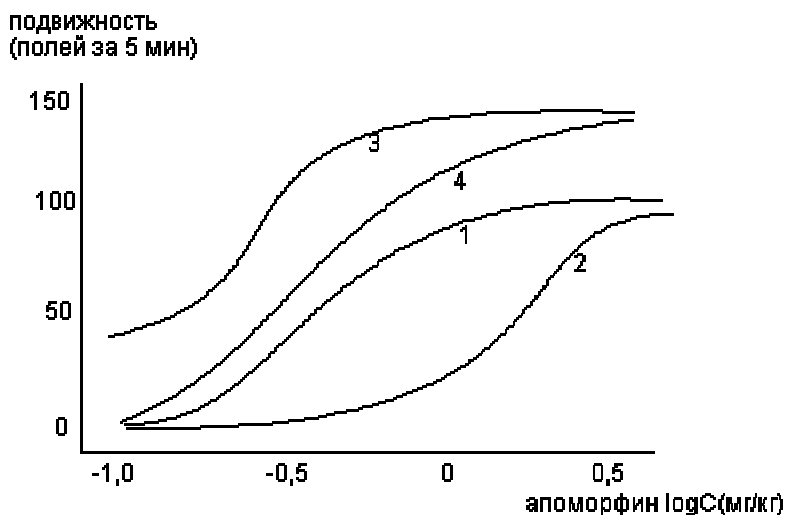


Рисунок 15. Сочетанное действие апоморфина, ДЛК и галоперидола на двигательную активность крыс в открытом поле при внутрибрюшинном способе введения веществ. (1) - апоморфин; (2) - апоморфин + 0,063 мг/кг галоперидола; (3) - апоморфин + 100 мкг/кг ДЛК; (4) - апоморфин + 100 мкг/кг ДЛК + 0,063 мг/кг галоперидола. Данные свидетельствуют о потенцирующем действии ДЛК на эффект апоморфина (различные точки приложения веществ) и конкурентном действии галоперидола.

Как следует из данных, представленных на рисунке 15, галоперидол, являясь антагонистом апоморфина, теоретически может использоваться как противоядие при интоксикации последним. Напротив, при интоксикации ДЛК апоморфин усугубит тяжесть развивающегося состояния.

ГЛАВА 3.2. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ТОКСИКОЛОГИИ

В ряде случаев, очевидно, что причина того или иного заболевания - действие химического вещества. Например, отек легких после действия хлора или фосгена, развитие судорожного синдрома вследствие воздействия фосфорорганического вещества, угнетение кроветворения как итог контакта с ипритом и т.д. Однако нередко трудно доказать наличие причинно-следственной связи между действием токсиканта и развитием конкретной патологии у человека. Огромное число симптомов и синдромов заболеваний неспецифично, и их возникновение возможно в результате пример инфекционных, факторов. Это является причиной неопределенности суждений как в случае выявления заболеваний (связаны ли они с воздействием токсикантов?), так и в случае оценки возможных последствий воздействия токсикантов (выявляются ли неблагоприятные для здоровья эффекты?). Затруднения часто возникают также, когда недуг развивается в результате длительного действия вещества в малых дозах, а проявлению патологического процесса предшествует длительный скрытый период (канцерогенез). Задачи подобного свойства усложняются еще и тем, что реакция людей на токсикант в определенной дозе колеблется в очень широких пределах: от практически не диагностируемых субклинических эффектов, до отчетливо выраженных заболеваний.

доказательства значения химического вещества, как этиологического фактора, в токсикологии используют ряд методических приемов:

- экспериментальное изучение зависимости "структура-активность";
- полномасштабные исследования на лабораторных животных токсичности, механизма действия, особенностей повреждения отдельных органов и систем, канцерогенной, мутагенной, тератогенной активности;
- краткосрочные скрининговые исследования для уточнения отдельных сторон токсического действия;
- глубокий анализ случаев острых и хронических интоксикаций в условиях клиники;
- компьютерное моделирование;
- **эпидемиологические исследования популяций людей, подвергающихся действию токсикантов.**

Ни один из указанных приемов не лишен недостатков. Поэтому конечное решение вырабатывается с учетом данных, получаемых всеми методами. В последние годы, как весьма продуктивный, зарекомендовал себя метод эпидемиологических исследований.

Эпидемиологические исследования в токсикологии основываются на выявлении различий в состоянии здоровья отдельных людей и популяций, находящихся в условиях воздействия химических соединений, в сравнении с контрольными группами. Подобные исследования строятся на наблюдениях над естественно складывающимися событиями. Поэтому основное различие между экспериментом и эпидемиологическим анализом состоит в том, каким образом формируется база анализируемых данных. В ходе экспериментального исследования сам экспериментатор активно создает группу объектов будущего анализа, воздействуя на организм оцениваемым фактором в требуемых условиях. В ходе эпидемиологических исследований воздействие изучаемого фактора никак не регулируется исследователем. Под его контролем находятся только этапы выбора из генеральной совокупности репрезентативных групп обследуемых и подбор адекватных методов анализа полученной информации.

По указанной причине эпидемиологический анализ позволяет сформировать гипотезы, выявить важные тенденции, но не даёт исчерпывающих доказательств наличия причинно-следственных связей между воздействием и наблюдаемым эффектом, и в этом его ограниченность. Тем не менее в медицинской науке этот метод играет все возрастающую роль. По всей видимости, при изучении влияния факторов среды на здоровье людей, эпидемиологический анализ может оказаться единственно полезным методом, поскольку эксперимент на людях не возможен. Но в этой связи совершенно недопустимы скоропалительные выводы по итогам исследований, а ответственность исследователей перед обществом весьма велика.

Принципиально возможны два типа ошибок в ходе эпидемиологических исследований. Ошибка первого типа: ложно позитивный результат - декларация наличия причинно-следственной связи между оцениваемым фактором и эффектом там, где её реально нет; ошибка второго типа: ложно отрицательный результат - декларация отсутствия связи при её реальном наличии.

Любое эпидемиологическое исследование включает следующие этапы:

- уяснения задачи предстоящей работы;
- выбор замысла исследования;
- сбор фактического материала;
- выбор математического аппарата анализа баз данных;
- обработка данных;
- анализ полученных результатов;
- формулировка выводов и предложений.

1. Основные категории и типы эпидемиологических исследований

Можно выделить три категории эпидемиологических исследований:

- описательные;
- аналитические (этиологические);
- интервенционные.

Описательные исследования представляют собой регистрацию распространенности того или иного заболевания или эффекта среди обследуемой популяции. Величина показателя исследуется в зависимости от возраста, пола, расовой и социальной принадлежности, характера профессиональной деятельности, привычек и т.д. В ходе этой работы формулируются новые гипотезы об особенностях действия токсикантов, идентифицируются новые факторы риска для здоровья человека.

Аналитические исследования направлены на определение причинно-следственных связей между неким воздействием ("вредностью") и нарушениями здоровья, анализ ответных реакций организма и популяции на комбинированные воздействия. Задачи могут быть решены лишь при соблюдении определенных правил:

верный учет временной составляющей (сначала воздействие, затем эффект), тщательный контроль сопутствующих воздействий, максимально возможное устранение косвенных влияний, соответствие получаемых результатов теориям, описывающим действие рассматриваемых факторов на биологический объект.

Интервенционные исследования также преследуют цель установления причинно-следственных связей, однако в данном случае исследователь оценивает результаты своего активного вмешательства в изучаемое явление (последствия оздоровительных мероприятий, эффективность системы контроля качества среды и т.д.).

Эпидемиологические исследования в токсикологии проводятся в рамках текущего наблюдения, санитарно-эпидемиологического надзора, целевого программного исследования.

Текущим наблюдением называется систематическая оценка одного или нескольких параметров окружающей среды либо показателей здоровья. Такой вид работы выполняют, в частности, учреждения гидрометеорологической службы, онкологические диспансеры, другие организации, получающие информацию о качестве окружающей среды, заболеваемости населения.

Санитарно-эпидемиологический надзор предполагает постоянное сопоставление данных текущего наблюдения за качеством окружающей среды и текущего наблюдения за здоровьем. На основании данных такого комбинированного наблюдения могут выдвигаться гипотезы о причинной связи между параметрами окружающей среды и состоянием здоровья.

Целевое программное исследование - это частное или всеобъемлющее эпидемиологическое исследование, относящееся к одной из описанных выше категорий, направленное на решение конкретной задачи, как правило, по оценке влияния некоего фактора на здоровье определенной группы лиц.

По способу организации схемы выполнения также можно выделить несколько основных типов эпидемиологических исследований:

- регистрации серии событий;
- **исследование типа "случай-контроль"** - связанный с экспозицией риск вычисляется путем сравнения группы заболевших ("случаев") и группы здоровых лиц ("контролей") по показателю экспонированности их токсикантом;
- **когортное исследование** - оценивается риск заболевания среди экспонированных токсикантом лиц в сравнении с контрольной группой;
- **корреляционные исследования** - выявляются пространственные, временные, профессиональные, алиментарные или другие связи заболеваемости (распространенности) и экспозиции токсикантом.

По временной направленности плана изучения связи заболеваний и воздействий можно выделить:

- ретроспективные исследования - осуществляются по результатам регистрации заболеваний и экспонированности лиц за какой-то отрезок времени в прошлом;
- "поперечные" исследования на основе оценки текущей распространенности заболевания (или заболеваемости) и воздействия фактора;
- проспективные исследования, предусматривающие определенный план регистрации заболеваний и экспозиции людей в будущем в течение заданного периода времени с последующим анализом данных.

Любое эпидемиологическое исследование только выигрывает, если ему сопутствует (или предшествует) классический токсикологический эксперимент на лабораторных животных. Часто именно экспериментальные исследования, в которых обнаруживается тот или иной неблагоприятный эффект от действия токсиканта, побуждают к проведению эпидемиологического анализа. Однако возможна и противоположная ситуация.

2. Основные показатели, привлекаемые для организации эпидемиологических исследований

2.1 Классификация показателей

Можно выделить четыре группы показателей, используемых в эпидемиологическом исследовании:

- показатели состояния обследуемой популяции (группы);
- характеристики исследуемого фактора (строение токсиканта, концентрация в окружающей среде или биосредах, продолжительность воздействия, колебания интенсивности воздействия во времени и т.д.);
- показатели, характеризующие другие факторы, модулирующие действие основного (вредные привычки: курение, прием лекарств, отношение к алкоголю и т.д., производственные условия, характер работы, место жительства и т.д.);
- "запутывающие" факторы (социальная принадлежность, пол, возраст, раса и др.). Влияние "запутывающих" факторов можно исключить, путем составления программы исследования, в которой предусмотрено равномерное распределение этих факторов в сравниваемых группах, использования соответствующих статистических методик. Важно представлять, что "запутывающий" фактор в одном исследовании может являться основным в другом.

Получаемые и анализируемые данные, в зависимости от условий, могут представляться: а) в альтернативной (категорийной) форме (типа "да - нет"); б) в виде шкалы непрерывных количественных показателей (концентрация токсиканта в среде, величина артериального давления у обследуемых); в) в форме порядковых показателей (уровень воздействия: - отсутствует - низкий - средний - высокий).

2.1.1. Показатели состояния обследуемой популяции

Основными исходными данными для эпидемиологического исследования являются заболеваемость и распространенность анализируемого эффекта (токсического процесса).

Заболеваемость в популяции является показателем риска развития заболевания. Она определяется числом **новых** случаев заболеваний (появление эффекта) в популяции, выявленных в течение определенного периода времени. Например - число случаев смерти (смертность) от новообразований на 1000 человек, занятых определенным видом деятельности, в возрасте от 45 до 54 лет за год (плотность случаев смертности). Иногда эту величину называют скоростью охвата популяции.

Распространенность анализируемого эффекта характеризует долю лиц с интересующим исследователя признаком (заболеванием) в определенной группе или выборочной совокупности лиц без учета того, когда признак (заболевание) у них появился. Например - количество лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями среди рабочих фабрики. Распространенность эффекта определяется не только заболеваемостью, но и продолжительностью болезни. Этот показатель ничего не говорит исследователю о потенциальном значении исследуемого фактора, как причины заболевания, до тех пор, пока не будут представлены данные о распространенности заболевания в аналогичной группе лиц, отличающихся тем, что на них изучаемый фактор не действовал (или не действует в момент исследования). Допустив известное упрощение (постоянство скорости развития заболевания в популяции; выживание заболевшего в течение длительного времени), можно постулировать, что распространенность эффекта прямо пропорциональна заболеваемости.

В эпидемиологических исследованиях часто используют производные характеристики заболеваемости и распространенности, позволяющие сравнивать получаемые результаты. Это относительный риск (коэффициент риска), атрибутивный риск, стандартизованная заболеваемость.

Относительный риск (ОР) - это отношение распространенности эффекта в группе лиц, контактировавших с "вредным" фактором, к распространенности в группе, не имевших такого контакта:

$$OP = (B_{\Pi}/\Pi)/(B_{\text{нп}}/\text{нп})$$

B_{Π} - число случаев заболевания среди подвергающихся воздействию фактора;

Π - общее число обследованных лиц подвергающихся воздействию;

$B_{\text{нп}}$ - число случаев заболевания среди неподлежащих воздействию фактора;

нп - общее число обследованных лиц неподлежащих воздействию.

Величины (B_{Π}/Π) и $(B_{\text{нп}}/\text{нп})$ называют абсолютным риском заболевания. Поскольку показатели абсолютного риска в разных обследуемых группах чрезвычайно изменчивы, для верификации получаемых результатов необходимо иметь статистические характеристики их достоверности. Часто она осуществляется с помощью критерия χ^2 для четырехпольной таблицы с одной степенью свободы:

$$\chi^2 = (|ad-bc|-N/2)^2 N/[(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)],$$

где a и b - соответственно число заболевших и не заболевших в изучаемой группе, c и d - то же в контрольной группе, N - сумма $a+b+c+d$.

Если χ^2 превышает критическое значение на выбранном уровне значимости ($\chi^2_{0,05} = 3,84$; $\chi^2_{0,01} = 6,63$), то ОР признается значимым. При малых N (меньше 30 - 70), для оценки значимости различий, можно использовать иные методы оценки. В тех случаях, когда в силу естественного разброса данных доверительные интервалы велики, а величина относительного риска приближается к 1, сделать определенный вывод об усилении (уменьшении) риска для здоровья действующего фактора по результатам обследования не представляется возможным.

Атрибутивный риск (АР). Эту характеристику полезно использовать, когда выявляемый эффект (заболевание) может быть следствием действия не только изучаемого, но и иных факторов. В этом случае определяются: абсолютный риск заболевания в группе лиц, контактировавших с комплексом факторов, в том числе и изучаемым (P_{Φ}); абсолютный риск заболевания в группе лиц, контактировавших с аналогичным комплексом факторов, за исключением изучаемого (P_0). Атрибутивный риск (АР) рассчитывают по формуле:

$$AP = (P_{\Phi} - P_0)/P_{\Phi}$$

или, используя величину относительного риска:

$$AP = (OP - 1)/OP$$

где $OP = P_{\Phi}/P_0$. Эта величина показывает, какая часть от общего числа заболеваний в обследуемой группе, обусловлена действием изучаемого фактора.

Стандартизованная заболеваемость (СЗ). Для сравнения результатов различных эпидемиологических исследований необходимо использовать упорядоченные величины. Исходные характеристики, получаемые в ходе обследований, могут быть использованы для сравнений лишь в том случае, если параметры сравниваемых групп, в которых оценивалось воздействие фактора, идентичны. Общим методом, с помощью которого характеристики одной или более групп сравнения упорядочиваются в форму статистических величин, является стандартизация.

СЗ равна числу случаев заболевания, выявленных в обследуемой группе лиц, контактировавших с "вредным" фактором, отнесенному к числу заболеваний, прогнозируемому в группе, с учетом числа обследуемых. Число прогнозируемых случаев заболевания рассчитывается исходя из уровня заболеваемости в контрольной группе населения. Это прогнозируемое число, таким образом, является чисто гипотетической величиной. Так, выявленное при обследовании число случаев смерти от рака мочевыделительных органов, среди 1413 рабочих, контактировавших со стекловолокном (период наблюдения 19 лет) равно 5. Прогнозируемое число случаев (с учетом частоты заболевания в контрольной группе и числа лиц обследованной группы) равно 2,4. Таким образом, стандартизованный показатель смертности в группе работающих со стекловолокном от рака мочевыделительных органов составил 2,077.

3. Замысел эпидемиологического исследования

3.1. Метод регистрации серии событий

Это самый простой, но и наименее эффективный тип эпидемиологического анализа. Он состоит в простой констатации (документально оформленной официальными службами контроля) факта появления в популяции заболевания вслед за воздействием некоего вредного фактора. Этот метод может оказаться полезным лишь в тех случаях, когда изучаемый фактор вызывает эффект, с очень высокой скоростью охвата популяции, либо когда оцениваемый эффект чрезвычайно редко встречается в контрольной популяции, или, наконец, когда хорошо известен механизм действия изучаемого фактора и появление эффекта в обследуемой популяции является ожидаемым событием. Например, центр контроля заболеваемости США смог предупредить врачей Нью-Йорка о появлении среди горожан синдрома

приобретенного иммунодефицита, поскольку в городе были зарегистрированы случаи заболеваний, вызванных *Pneumocystis carinii*, ранее здесь вообще не встречавшиеся.

В тех случаях, когда наблюдаемый эффект является следствием действия нескольких факторов, выводы, построенные только на результатах исследования данным методом, могут быть ошибочными. Поэтому в большинстве случаев констатация факта появления в популяции некоего эффекта используется лишь как повод для формирования гипотезы, которая в дальнейшем проверяется другими методами эпидемиологического анализа.

3.2. Исследование типа "случай-контроль" (болезнь - контроль).

Исследования типа "случай-контроль" позволяют сравнительно надежно определять относительный риск, обусловленный действием вредного фактора. Они применимы при учете как остро протекающих, так и хронических токсических процессов с длительным латентным периодом.

В процессе исследования случайным образом формируются репрезентативные группы лиц, из числа имеющих (случай) и не имеющих (контроль) определенное (интересующее исследователя) заболевание. После этого в каждой из групп выявляют лиц, подвергавшихся (или подвергающихся в момент исследования) воздействию определенного химического агента.

При наличии реальной связи заболевания с действием вредного фактора среди группы "случаев" доля экспонированных лиц (например, принадлежащих к определенной профессиональной группе, или работавших с токсикантом, или питавшихся загрязненной пищей) оказывается выше, чем в контроле, что и оценивается количественно. Для этого по результатам обследования составляется таблица данных (таблица 1) и производятся необходимые вычисления.

Таблица 1. Вариант таблицы представления результатов исследования типа "случай-контроль"

Этиологический фактор (воздействие фактора)	Численность лиц в группах исследования		Всего
	В группе лиц с заболеванием ("случай")	В группе лиц без заболевания ("контроль")	
Имеется	A	b	a+b
Отсутствует	c	d	c+d
Всего	a+c	b+d	N = a+b+c+d

Как указывалось ранее, величина относительного риска определяется отношением распространенности заболевания (токсического процесса) в экспонированной фактором группе лиц к распространенности среди не подвергавшихся воздействию. В случае представления результатов по форме предложенной на таблице величина относительного риска определяется по формуле:

$$OP = a d / b c$$

где a,b,c,d - показатели, полученные в результате исследования по методу "случай-контроль" (Таблица 1.1). Если $OP > 1$, то можно сделать заключение о наличии положительной корреляции между интересующим этиологическим фактором и конкретным заболеванием (эффектом).

В качестве примера можно привести данные одного из первых эпидемиологических исследований, посвященных оценке зависимости между развитием рака мочевого пузыря и курением сигарет (таблица 2).

Таблица 2. Распределение по признаку курения сигарет пациентами в группах: а) больных раком мочевого пузыря и б) не имеющих заболевания

Этиологический признак	Больные раком мочевого пузыря	Контрольные пациенты	Всего
Курящие сигареты	192	156	348
Некурящие	129	181	310
Всего	321	337	658

Величина относительного риска возникновения рака мочевого пузыря в связи с курением сигарет составляет:

$$OP = (192 \cdot 181) / (129 \cdot 156) = 1,73$$

Тот факт, что $OP > 1$, свидетельствует о наличии положительной корреляции между фактом развития рака мочевого пузыря и курением.

Проверка статистической значимости вывода осуществляется с помощью критерия χ^2 (см. выше). Расчет показывает, что в условиях исследования $\chi^2 = 11,5$. Таким образом, найденное значение относительного риска достоверно с вероятностью более 99%, а это означает, что курение является одной из причин рака мочевого пузыря.

Важнейшим этапом исследования типа "случай-контроль" является подбор контрольных и опытных групп. Его проводят таким образом, чтобы максимально учесть действие дополнительных факторов и избежать влияния на результат "запутывающих" факторов. Исследование является, как правило, ретроспективным, причем, по определению, в группу обследованных попадают лишь те, у кого к моменту начала изучения уже развилась диагностируемая форма патологии. В этой связи метод не применим для оценки влияния существующих в реальном масштабе времени факторов окружающей среды на здоровье. Уязвимым местом исследования является процедура сбора информации о характере воздействия изучаемого фактора. Источники такой информации далеко не всегда являются вполне надежными (профессиональные карты, больничные листы и другие подобные документы). Нередко для выявления факта воздействия агента на обследуемого используют метод опроса, что, несомненно, снижает

достоверность получаемых результатов. Другим недостатком метода является высокая вероятность недочета дополнительных факторов, значимых для формирования оцениваемой патологии.

3.3. Метод когортных исследований

Когортное исследование основывается на результатах обследования группы лиц (когорты), находящихся (находившихся) в условиях воздействия некоего фактора, с целью установления частоты случаев развития у них ожидаемой патологии. Таким образом, этот метод применяется с целью выявления последствий для здоровья воздействия фактора, в отношении которого сформирована конкретная гипотеза (например: у лиц, контактирующих с бензолом в производственных условиях возможно развитие заболеваний крови). С целью решения задачи формируются когорты из числа лиц, не контактирующих и контактирующих с фактором (бензолом) в различных условиях, с последующей оценкой эффекта (наличие заболеваний крови). Когортные исследования могут быть как ретроспективными, так и проспективными. И в том и другом случаях в различных когортах определяют количество или уже имеющихся к моменту исследования, или вновь появляющихся, случаев заболевания (состояний) и затем сравнивают их друг с другом.

При формировании когорт важно учитывать, что многие виды патологии имеют длительный скрытый период, поэтому продолжительность проспективного исследования должна быть большой. Так, проспективное когортное исследование для изучения действия диоксида, как причины развития новообразований различной локализации требует наблюдения в течение 20 - 40 лет. Исследования существенно затрудняются мобильностью обследуемых, их переходом с одной работы на другую, изменением места жительства и т.д.

Исходя из сказанного, для решения неотложных задач по установлению причинно-следственных связей между действующим фактором и патологией рекомендуется ретроспективное обследование (конечно, если это возможно). При этом, с целью получения более достоверной информации, из групп анализа исключаются лица, контакт которых с фактором имел место относительно недавно. Проспективные исследования больше подходят для анализа скоротечных последствий острых воздействий.

В известном смысле метод когортных исследований является обратным методу исследований типа "случай-контроль" (таблица 3).

Таблица 3. Различия в подходе к формированию групп в исследованиях типа "случай-контроль" и когортных исследованиях

		Исследование типа "случай-контроль" начинается с формирования групп:	
		Лица с заболеванием	Лица без заболевания
Когортное исследование начинается с формирования групп:	Лица, не подвергшиеся воздействию	a	b
	Лица, подвергшиеся воздействию	c	d

Если заболевание у лиц, подвергшихся воздействию фактора, встречается значительно чаще, чем у лиц контрольной группы, это свидетельствует о наличии причинно-следственной связи между заболеванием и воздействием.

В соответствии с замыслом исследования количественная оценка риска воздействия фактора определяется по формуле:

$$OR = [c/(c+d)] / [a/(a+b)]$$

где a,b,c,d - символы, соответствующие представленным в таблице. Если OR достоверно больше 1, причинная обусловленность заболевания изучаемым фактором признается доказанной. Оценка достоверности получаемых результатов осуществляется с помощью критерия χ^2 . Количество лиц, подлежащих обследованию, является решающим фактором, определяющим качество работы, достоверность получаемых результатов. Поэтому размеры когорт должны быть определены исследователем до начала работы, исходя из представлений о распространенности изучаемой патологии в контрольной группе.

Методом когорт можно исследовать множественные изменения в состоянии здоровья, наступающие в результате действия фактора. Например в когорте лиц, контактировавших с этиленоксидом, может быть одновременно изучена частота случаев новообразований, заболеваний органов дыхания, кожи, нарушений репродуктивных функций и т.д.

Когортные исследования позволяют оценить как абсолютный, так и относительный риск, связанный с воздействием изучаемого фактора. Эффективность исследования зависит от частоты проявления эффекта в популяции. Если ожидаемый эффект проявляется единичными случаями на тысячу обследуемых в течение нескольких лет, то исследование превращается в трудно выполнимое.

Ретроспективные исследования во многом опираются на имеющиеся свидетельства воздействия изучаемого фактора и поэтому они должны быть по возможности максимально объективными. Следует обязательно учитывать влияние запутывающих факторов (пол, возраст, расовая и социальная принадлежность, особенности работы, продолжительность трудовой деятельности и т.д.).

Количественная характеристика воздействия вредного фактора на обследуемых является важнейшим элементом когортного исследования. Поэтому достоверность результатов зависит от надежности и объективности химико-токсикологического мониторинга среды (состояния рабочего места). Иногда дополнительная заболеваемость (распространенность) в больших когортах может и не выявляться, если

исследователи полагали, что все лица подверглись реальному воздействию, в то время как лишь часть обследуемых имела биологически значимый контакт с токсикантом.

Для обеспечения сравнимости получаемых результатов при проведении когортных исследований изучаемые патологические состояния следует кодировать в соответствии с принятой международной классификацией болезней. Рекомендуемым показателем выраженности эффекта является стандартизованная заболеваемость (см. выше). В корректно проводимом исследовании стандартизованная заболеваемость в контрольной группе близка к 1,0.

В ходе когортных исследований возможно получение парадоксальных результатов, когда заболеваемость в исследуемой группе ниже, чем в группе сравнения. Это свидетельствует о неправильном формировании контрольной группы.

3.4. Метод "поперечного среза"

Этот метод исследования иногда называют одномоментным, обзорным или выборочным. Он состоит в одновременной регистрации силы воздействия "вредного" фактора и оценке распространенности некоего изменения в состоянии здоровья среди группы лиц, случайным образом выбранных из обследуемой популяции (или всей популяции) и популяции сравнения. Метод может оказаться полезным при изучении причин хронических заболеваний, часто встречающихся в той или иной популяции. Он позволяет установить связь между действием фактора и увеличением частоты случаев заболевания (в сравнении с контролем), однако временные, причинно-следственные связи, а также тенденция развития процесса в данном случае не определяются.

Преимуществом метода является быстрая и полная характеристика возникшей проблемы.

Ограничения метода обусловлены тем, что далеко не всегда регистрируемая патология является следствием действия фактора, определяющегося в момент исследования (болезнь развилась ранее в результате действия другого фактора).

Для обработки результатов может быть привлечена методология когортного анализа или метода "случай-контроль".

В качестве примера приведем результаты расследования случая хронического отравления мышьяком, содержавшимся в питьевой воде, жителей двух деревень Западной Бенгалии. Хронические отравления мышьяком характеризуются гиперкератозом, гиперпигментацией, гепатомегалией и неврологическими нарушениями. В далеко зашедших случаях развиваются рак кожи и гангрена конечностей ("черная стопа"). Некоторые из этих симптомов и были выявлены у жителей. Необходимо было решить, в какой степени симптоматика обусловлена действием As обнаруженного в воде некоторых водоносных скважин.

В процессе исследование провели:

- опрос жителей деревень (вопросы о здоровье, источнике воды, пище, работе);
- клиническое обследование жителей;
- лабораторный анализ проб воды, добытой из разных скважин.

Результаты исследования приведены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты поперечного исследования в двух деревнях

Деревня	± скважины	Концентр. Мышьяка мг/л	Пьют из данной скважины	Гиперпигментация кожи у (чел)	Гепатомегалия у (чел)
Концентрация мышьяка > 0,05 мг/л					
N 1	1	2,0	48	46	46
"-	2	0,2	8	6	6
"-	3	0,275	7	6	6
N 2	4	0,2	4	4	4
Всего			67	62	62
Концентрация мышьяка < 0,05 мг/л					
N 1	5	0	11	0	0
"-	6	0,035	8	0	0
"-	7	0	26	0	3
"-	8	0,037	16	0	1
N 2	9	0,022	7	0	
"-	10	0	12	0	0
"-	11	0,031	16	0	1
Всего			96	0	6

Как следует из представленных данных, для лиц, использующих воду из источников с содержанием мышьяка менее 0,05 мг/л, распространенность гиперпигментации и гепатомегалии соответственно составляют 0 - 6 %.

Для источников с концентрацией более 0,05 мг/л распространенность патологии равна $62/67=0,93$ (93%) (по источникам 1-4, соответственно, 96%, 75%, 86%, 100%).

Различие между сравниваемыми группами высоко значимо ($p<0,001$), что указывает на обусловленность симптоматики приемом мышьяка.

Анализ этих же результатов методом "случай-контроль" предполагает формирование таблицы иного вида. Ниже представлена четырехпольная таблица распределения лиц с гепатомегалией ("случай") и без данного признака ("контроль") по грациям концентрации мышьяка в воде (Таблица 5. Анализ результатов поперечного исследования по группам больных и здоровых (подход "случай-контроль").

Таблица 5. Анализ результатов поперечного исследования по группам больных и здоровых (подход "случай-контроль")

Этиологический фактор	Обследованные с гепатомегалией	Обследованные без гепатомегалии
Концентрация мышьяка в воде > 0,05 мг/л	62	5
Концентрация мышьяка в воде < 0,05 мг/л	6	90

Относительный риск развития гепатомегалии $OR = (62 \times 90) / (6 \times 5) = 186$. Значимость различий очень высокая, $p < 0,001$. Если в определение случая включить также гиперпигментацию, то ОР стремиться к бесконечности, а значимость различий будет еще выше.

Выводы, полученные с использованием методологии "когортного анализа", совпадают со сделанными выше.

3.5. Другие методы

Кластерные исследования оценивают частоту ожидаемых эффектов в группах лиц, подвергшихся (подвергающихся) воздействию вредного фактора, неформально объединенных каким-либо кластеробразующим показателем: временным, пространственным, семейным (национальным) родством, близостью механизмов развития патологии и т.д. Для анализа результатов прибегают к помощи специального математического аппарата.

Экотоксикологические исследования предполагают анализ функционального состояния не отдельных лиц, а целых групп населения, находящихся в условиях предполагаемого воздействия со стороны экополлютантов. Не редко подобные обследования носят геополитический характер (государство, страна, континент), а в качестве оцениваемого эффекта рассматриваются такие показатели, как рождаемость, смертность, заболеваемость и т.д. Поскольку на результаты подобных исследований влияет огромное количество факторов, их следует рассматривать как основание для формирования гипотез, подлежащих в дальнейшем более глубокому изучению в ином масштабе.

4. Интерпретация результатов (принципы формирования выводов)

В ходе эпидемиологических исследований редко удается выявить абсолютную связь между интересующим фактором и изучаемой патологией. В этой связи разработана концепция "паутины" причин, согласно которой в реальных условиях целый ряд факторов, взаимодействуя между собой, вносит вклад в развитие тех или иных нарушений здоровья. Хотя концепция разработана для объяснения возникновения и распространения среди населения заболеваний, обусловленных длительным действием факторов, многие из её следствия применимы и для острых воздействий.

В настоящее время в токсикологии признано, что степень научной обоснованности вывода о наличии причинно-следственных связей между действием "вредного" фактора и нарушением здоровья определяется:

- достоверностью и выраженностью математических характеристик силы связи между явлениями, полученных в ходе исследования;
- специфичностью выявленной связи;
- воспроизводимостью результатов, получаемых в разных исследованиях;
- временной последовательностью событий (сначала действие, затем эффект);
- биологической возможностью связи между фактом действия вещества и развитием конкретной формы токсического процесса;
- дозовой зависимостью оцениваемого эффекта.

Сила связи. Связь между действием исследуемого фактора и развитием патологии колеблется в широких пределах от очень сильной до слабой. Чем сильнее связь между событиями, тем вероятнее, что оцениваемый фактор действительно является этиологическим. Характеристиками силы связи являются: относительный риск, коэффициент корреляции, результаты регрессионного анализа и т.д. Последние две характеристики количественны по своей природе. В эпидемиологических исследованиях силу связи лучше выражать в величинах относительного риска (см. выше). Определение относительного риска позволяет рассчитать и другие характеристики, в частности, атрибутивный риск (см. выше). Сила связи зависит от ряда факторов. Важнейший из них - число лиц, охваченных обследованием. При обследовании больших групп вероятность получения достоверной информации в целом выше, более надёжными являются характеристики силы связи.

На силу связи влияют особенности действия изучаемого фактора. В ряде случаев характеристика воздействия полностью определяет объективность получаемых результатов. Неправильная характеристика воздействия, недоучет множественного характера действующих факторов на популяцию приводят к появлению ошибок в определении силы изучаемой связи. В ряде случаев особую значимость приобретает корректность характеристики сроков воздействия токсиканта. Так, при изучении последствий контакта с предполагаемыми тератогенами, эмбриотоксикантами очень важно представлять в каком периоде развития плода произошло воздействие, т.к. чувствительность эмбриона к подобным химическим веществам существенно изменяется во времени. Однако далеко не всегда характеристики воздействия могут быть получены в полном объеме.

В этом случае один из методов подтверждения связи между действием токсиканта и развитием патологии состоит в устранении его действия, с последующим изучением характеристик распространенности патологии и заболеваемости и сравнением данных с предсказанными путем расчета атрибутивного риска. Подобные исследования продолжительны и потому требуют тщательного контроля сопутствующих факторов.

Грамотное определение силы связи важно, поскольку в этом случае уменьшается вероятность того, что полученные результаты являются следствием субъективизма и методических погрешностей. Субъективизм, проявляемый на этапах формирования групп, компоновки базы данных, анализа результатов, может иметь такое же влияние на содержание выводов, как и исследуемый фактор.

Специфичность связи. Специфичность связи характеризует отношение между действующим фактором и развивающимся эффектом. Наиболее простая форма: отношение "один к одному". Регистрация такого типа связи означает, что конкретному типу воздействия соответствует появление вполне конкретного эффекта, или действие агента всегда сопровождается развитием определенного токсического процесса. Как правило, в природе такая связь встречается крайне редко. Чаще токсикант специфически вызывает ту или иную форму патологии, но она проявляется и при действии иных факторов на организм. Более того, каждый из известных токсикантов может вызывать целый ряд эффектов (симптомокомплексы) и распознавание его действия связано с необходимостью выявления всех (большинства) этих эффектов. Например, хроническое действие мышьяка сопровождается развитием периферической нейропатии. Однако нейропатии могут быть следствием воздействия и других токсикантов (органических растворителей, ТОКФ и т.д.). С другой стороны, мышьяк помимо нейропатий вызывает и другие эффекты (поражение кожи, почек, печени, легких, системы крови, новообразования).

Важным моментом, определяющим специфичность связи, является правильная диагностика заболеваний, формирующихся в результате действия токсикантов.

Постоянство и воспроизводимость связи. Вероятность истинности суждения о значении изучаемого фактора, как этиологического фактора данного патологического состояния возрастает, если результаты, полученные в ходе выполнения независимых исследований на различных объектах и популяциях, совпадают.

Биологическая возможность связи. Предположение о наличии связи между действием ксенобиотика и развитием патологии формируется в ходе эксперимента, либо наблюдений в условиях клиники за лицами, перенесшими острые и хронические интоксикации. Весьма ценно, если установлен механизм, посредством которого изучаемый фактор может вызывать оцениваемый биологический эффект. Такие данные получают в ходе систематических экспериментальных исследований на лабораторных животных, других биологических объектах. Однако, оценивая результаты, необходимо иметь в виду, что невозможность вызвать в эксперименте на животных патологическое состояние, наблюдаемое у человека, тем не менее не исключает возможность того, что изучаемый токсикант все-таки может стать причиной заболевания людей.

Временная последовательность событий. Порой у исследователя нет четких свидетельств о времени воздействия фактора на обследуемую популяцию, а длительный скрытый период патологического состояния еще более затрудняет его определение. В этих условиях возникает возможность вмешательства дополнительных факторов в процесс формирования патологии. Поэтому необходимо всячески стремиться к получению объективной информации о сроках действия изучаемого фактора.

Установление дозо-зависимых связей между фактором и эффектом чрезвычайно важная, но практически не выполняемая в рамках эпидемиологических исследований, задача. Подобные связи изучаются в ходе лабораторных исследований. Однако естественная изменчивость человеческой популяции и известная неточность эпидемиологических исследований чрезвычайно затрудняют получение этой характеристики применительно к человеку.

ГЛАВА 3.3. ОЦЕНКА РИСКА ДЕЙСТВИЯ ТОКСИКАНТА

Человек подвержен действию огромного количества вредных химикатов, следовательно, всегда имеется риск возможного вреда, причиняемого ими. Очень часто общество нуждается в разумных, обоснованных предложениях о путях снижения риска. Такие предложения могут быть сделаны только на основе информации о вероятности и характере вредного действия. Это и послужило поводом для разработки методологии оценки риска, которая предназначена для его идентификации, характеристики и измерения.

1. Исторические аспекты

В 50-х годах, вследствие установления факта канцерогенности ионизирующих излучений, появилась необходимость оценки риска развития новообразований при облучении. Разработка методики оценки риска канцерогенеза, обусловленного действием химических веществ, была начата в 60-х годах, как реакция на возрастающее загрязнение окружающей среды. В 1961 году Управление по Пищевым и Лекарственным Веществам США (FDA) предложило первую редакцию методики. В дальнейшем было разработано и принято несколько реализующих документов. В настоящее время оценка риска - важный инструмент принятия решений на административном уровне во многих странах мира.

2. Что такое оценка риска?

Риск - это вероятность ущерба здоровью, или более точно, вероятность травмы, заболевания или смерти при определенных условиях. Другими словами, риск это потенциальная возможность реализации нежелательных последствий некоего события. Оценка риска строится на анализе конкретной ситуации и состоит в определении вероятности вредного действия изучаемого фактора. Частным случаем является количественная оценка вероятности ущерба здоровью человека, связанного с действием определенных агентов, например, химических веществ, находящихся в окружающей среде или на рабочем месте.

Базовой информацией для проведения исследования является токсикологическая характеристика вещества, риск от воздействия которого предполагается оценить. Изучение токсикологической характеристики веществ - сложный процесс, включающий целый спектр технических приемов (таблица 1).

Таблица 1. Токсикологическая характеристика вещества, привлекаемая для оценки риска его воздействия

1. Химические и физические свойства
2. Судьба в окружающей среде и способы воздействия на биологические системы (организм)
 - А. Источники
 - Б. Стойкость на местности
 - В. Пути превращения в окружающей среде
 - Г. Возможности биоаккумуляция и биомагнификации в организмах живых существ:
 - токсикокинетические характеристики
 - особенности метаболизма
3. Тесты *in vivo*
 - А. Оценка острой токсичности:
 - величины ЛД₅₀ и ЛК₅₀
 - Б. Подострое воздействие:
 - токсичность при 90-суточном скормливании токсиканта
 - токсичность при 30 - 90 суточном ингаляционном и/или чрезкожном воздействии
 - В. Хроническое действие:
 - токсичность при пожизненном введении
 - Г. Специальные виды токсичности:
 - раздражающее действие
 - способность сенсибилизации кожных покровов
 - тератогенность
 - канцерогенность
 - репродуктивная токсичность
 - Д. Избирательная токсичность:
 - нейротоксичность
 - гепатотоксичность
 - пульмонотоксичность
 - нефротоксичность и т.д.
4. Тесты *in vitro*
 - мутагенность (исследования на прокариотах, эукариотах)
 - способность вызывать хромосомные aberrации
 - канцерогенность
6. Натурные исследования
 - эпидемиологические исследования
 - оценка экологического ущерба

Как указывалось ранее, токсические процессы можно отнести к одной из следующих групп:

- формирующиеся по пороговому принципу;
- формирующиеся по беспороговому принципу.

В первом случае причинно-следственная связь между фактом действия вещества и развитием процесса носит безусловный характер. Зависимость "доза-эффект" прослеживается на уровне каждого, подвергающегося воздействию организма, при этом, чем больше доза, тем выраженнее реакция. Вместе с тем при действии веществ в дозах ниже определенных уровней (порогов) токсический процесс не развивается вовсе (интоксикации, транзиторные токсические реакции).

Во втором случае причинно-следственные связи между фактом действия вещества и развитием процесса носят вероятностный характер. Зависимость "доза-эффект" прослеживается только на уровне популяции: чем больше доза, тем у большей части особей испытываемой популяции регистрируется эффект. При этом вероятность формирования токсического процесса сохраняется при действии на биосистему даже одной молекулы токсиканта (беспороговый эффект), хотя у отдельных организмов эффект может не развиваться даже при очень интенсивных (смертельных) воздействиях (мутагенез, канцерогенез, тератогенез).

В этой связи и количественные характеристики риска определяются в соответствии с двумя операционными схемами.

Токсиканты, способные провоцировать токсические процессы, развивающиеся только по пороговому принципу, могут быть охарактеризованы с помощью критерия "фактор безопасности" (индекс опасности). Оценить риск контакта с таким веществом, означает, по сути, - определить порог его токсического (или безопасного) действия, выразив его через величины предельно допустимой дозы (ПДД) или предельно допустимой концентрации (ПДК). За рубежом для этой цели используют такие показатели как: уровень максимального загрязнения (УМЗ), допустимый суточный прием (ДСП), рекомендуемая доза (РД) (соответственно: Maximum Contaminant Level, Acceptable Daily Intake, Reference Dose). Эти характеристики определяются по специальным методикам, в основе которых лежит установление зависимости "доза-эффект", и в дальнейшем утверждаются законодательно (см. выше). В любом случае указанные величины характеризуют количество токсиканта (в миллиграммах на килограмм массы тела или миллиграммах на единицу объема объекта, среды), контакт с которым не приводит к появлению каких бы то ни было неблагоприятных последствий при хроническом действии в популяции, включая группы чувствительных лиц.

В ходе оценки риска, измеряют действующие дозы токсикантов, находящихся в окружающей среде (экспозиционные дозы - ЭД), после чего их сравнивают с величинами безопасных доз и концентраций и на этом основании судят о степени риска воздействия.

Часто для оценки риска используют еще одну величину - хронического ежедневного приема (ХЕП). ХЕП характеризует воздействия, при контакте с токсикантом на протяжении всей жизни. Единицей измерения ХЕП является величина массы токсиканта приходящаяся на величину массы тела в единицу времени (мг/кг/сут).

Для химических веществ с определенным порогом токсического действия оценка риска сводится к определению отношения ЭД к РД и т.д. Эти соотношения и называются "индекс опасности".

Порядок расчета индекса опасности, связанной с действием вещества, осуществляется следующим образом:

Индекс опасности = ЭД/РД,

где: ЭД - экспозиционная доза

РД - рекомендуемая доза

(при этом ЭД и РД должны выражаться в одинаковых величинах, применительно к одинаковым временным условиям воздействия - острому, подострому, хроническому).

Если индекс опасности выше 1, имеется риск связанный с действием токсиканта.

Риск развития эффектов, развивающихся по беспороговому принципу, должен быть охарактеризован другим способом. В частности, следует установить действующую дозу токсиканта, при которой частота возникновения вызываемого эффекта (канцерогенез) в экспонируемой популяции, находится на "допустимом" (выбранном субъективно) уровне. Эта доза рассчитывается путем математического моделирования. Обычно, в качестве "допустимого" принимают воздействие, при котором в популяции количество, например, смертей от новообразований увеличится не более чем на 1 случай на миллион (1×10^{-6}), при условии контакта людей с токсикантом в течение всей жизни. Однако в зависимости от обстоятельств (особенности региона и т.д.) этот уровень может колебаться в диапазоне 1×10^{-3} - 1×10^{-6} . Такой подход обозначается, как методология оценки риска беспорогового действия, а определенная таким образом доза токсиканта в зарубежной литературе получила название виртуальная безопасная доза (virtual safe dose - ВБД). В России, в соответствии с "Методическими рекомендациями по экспериментальному обоснованию гигиенических регламентов химических канцерогенных веществ" (1985), в основе регламентации канцерогенов лежит определение их ПДК.

За рубежом, для веществ, вызывающих беспороговые эффекты (канцерогенез и др.), риск выражают как вероятностную величину. В частности для оценки риска канцерогенеза используют "фактор канцерогенной активности вещества". Эта величина определяется с помощью расчетных методик на основе экспериментального материала и представляет собой угол наклона зависимости между величинами вероятности развития новообразования и действующей дозы токсиканта (q). Результат умножения величины ХЕП (см. выше) на q дает безразмерную величину риска развития новообразования. Если эта величина превышает установленный уровень, воздействие признается опасным.

Порядок расчета опасности воздействия веществ, связанной с развитием беспороговых эффектов, осуществляется следующим образом:

Риск = $1 - \exp(-ХЕП) q$,

где:

Риск - вероятность развития конкретной опухоли при анализируемой величине ХЭП;

exp - экспоненциал;

ХЕП - величина хронического ежедневного приема, усредненная на 70 лет жизни (мг/кг.сут);

q - фактор канцерогенной активности вещества.

Методика оценки опасности может быть упрощена, при условии, что безопасные концентрации вещества уже известны. В этом случае величину ХЕП просто сравнивают с величиной ВБД. Если ХЕП

больше, это свидетельствует о превышении допустимого содержания вещества, установленного законодательством.

Целью определения риска иногда являются числовые характеристики вероятности развития определенных неблагоприятных эффектов, например фиброза легких, хронической печеночной недостаточности, новообразования, смерти и т.д.

3. Процесс оценки риска

Из-за большого разнообразия условий и свойств токсикантов не возможно создать единый сценарий, позволяющий оценивать риск всех химических веществ во всех возможных ситуациях. Существует методология поэтапного решения задачи, в соответствии с которой можно провести полный анализ различных случаев. Она включает четыре элемента:

1. Идентификация опасности;
2. Оценка воздействия;
3. Оценка токсичности;
4. Характеристика риска.

Каждый из этих элементов имеет непосредственное отношение к важнейшим характеристикам, определяющим риск от воздействия токсикантов:

- наличия опасных токсикантов в окружающей среде;
- судьбы токсиканта в окружающей среде;
- способа воздействия на организм;
- токсикологических свойств вещества;
- характеристики популяции, на которую действует токсикант;
- вероятности ожидаемого риска для здоровья.

Общая схема алгоритма оценки риска представлена на рисунке 1.

Сбор и обработка данных:
 - сбор и анализ данных о месте происхождения (события)
 - идентификация потенциально опасных веществ



Оценка воздействия:
 - определение содержания загрязнителя в окружающей среде
 - выявление пострадавшего населения
 - идентификация потенциальных путей воздействия
 - оценка концентраций и доз загрязнителя, действующего различными путями
 - оценка количества токсиканта, поступающего в организм



Оценка токсичности:
 - сбор количественных и качественных характеристик токсичности загрязнителей
 - дополнительные исследования по оценке токсичности загрязнителя



Характеристика риска:
 - характеристика возможных неблагоприятных эффектов действия загрязнителей (в том числе оценка риска развития новообразований, мутагенного, тератогенного и др. действия)
 - оценка фактора неопределенности
 - суммирование данных о возможном риске

Рисунок 1. Алгоритм оценки риска действия токсиканта

3.1. Идентификация опасности

В ходе этого этапа определяют, какие вещества оказывают воздействие на организм, пути их поступления в окружающую среду, обладают ли они потенциальной способностью вызывать неблагоприятные эффекты в организме (в том числе канцерогенное, мутагенное и иные), изменять среду обитания.

Все доступные данные по токсикантам собираются, систематизируются и используются для оценки токсического потенциала веществ. Если в среде присутствует большое количество токсикантов возможно выбрать для анализа некое вещество-индикатор загрязненности.

3.2. Оценка воздействия

Оценка воздействия - этап, на котором количественно определяют дозу токсиканта, действующую на организм в конкретной анализируемой ситуации (экспозиционная доза). При этом изучают данные определения содержания вещества в воздухе, воде, почве, пищевых продуктах, элементах биоты. При оценке воздействия определяют популяцию лиц, подвергающихся агрессии, а также частоту, продолжительность действия токсиканта, способ воздействия на организм.

В ходе работы желательно выявить часть населения с повышенной чувствительностью к ксенобиотику. Необходимо тщательно проанализировать пути поступления токсиканта в организм.

В результате получают данные, позволяющие оценить количество вещества, поступающего в организм в течение длительного и пожизненного воздействия:

$$I = C R D / W T, \text{ где:}$$

I - количество вещества, поступающего в организм (мг/кг);

C - концентрация токсиканта в среде (средняя концентрация за период воздействия: мг/л; мг/м³ и т.д.);

R - количество зараженного элемента внешней среды, поступающего в организм в сутки (л/день, г/день);

D - кратность и продолжительность воздействия;

W - средний вес человека за весь период воздействия;

T - время, в течение которого получены усредненные данные.

3.3. Оценка токсичности

Третий этап исследования состоит в установлении зависимости "доза-эффект" для изучаемых веществ. Конечная цель этого этапа работы заключается в установлении уровня доз, при которых появляются неблагоприятные эффекты от действия токсиканта на организм. Если эти характеристики уже найдены, но не утверждены законодательно, исследования могут быть продолжены в требуемом объеме. Если данных нет, можно попытаться получить ориентировочные значения токсичности веществ, прибегая даже к расчетным методам. Наконец, рекомендуемая доза может быть определена путем деления установленной в иных исследованиях пороговой дозы на фактор безопасности.

Фактор безопасности является своеобразным допущением, учитывающим неполноту или недостаточность наших знаний о токсичности вещества. Фактор безопасности иногда устанавливается на основе данных, доступных для анализа (таблица 2).

Таблица 2. Величины фактора безопасности, используемые при оценке риска и установлении допустимого уровня воздействия токсиканта

Фактор безопасности	Критерии выбора величины
10	Экстраполяция доз, полученных в результате анализа эффектов, развивающихся при длительном воздействии токсиканта на ограниченную группу лиц; позволяет обезопасить часть населения, с повышенной чувствительностью к химическим веществам
10	Дополнительное десятикратное снижение допустимого уровня действующих доз, если осуществляется экстраполяция данных, полученных в хроническом опыте на экспериментальных животных
10	Дополнительное снижение величины, если экстраполируемые данные получены в остром и подостром опыте на экспериментальных животных
1 - 10	Суждение научной общественности может быть использовано для дополнительного снижения допустимого уровня действующих доз с целью коррекции неопределенности, обусловленной другими факторами, не указанными в предыдущих графах

3.4. Характеристика риска

Характеристика риска - конечный этап работы. На этом этапе обобщается вся информация, использованная и полученная на предыдущих этапах. Итоговый документ по оценке риска составляется в зависимости от цели исследования. Рассчитываются, в случае возможности, количественные характеристики риска, в частности индекс опасности. Часто бывает необходимо указать на неопределенный характер отдельных параметров и т.д.

Если вещество проявляет свойства канцерогена в документе должно быть представлено значение риска развития новообразований в конкретных условиях, т.е. указано, какое количество дополнительных случаев новообразований возникнет в популяции, на которую действует (или действовал) токсикант, в сравнении с контрольной группой.

4. Недостатки методологии оценки риска

Методология оценки риска была разработана как инструмент принятия решения административными органами, на основе данных о возможном ущербе здоровью, наносимом оцениваемым фактором. Определенная надежность получаемых результатов обусловлена использованием экспертами научно обоснованных данных. Однако, поскольку значительная часть информации, необходимой для анализа, остается неоцененной и используемые модели не всегда верифицированы, достоверность результатов страдает, т.е. процесс оценки риска всегда сопряжен с некоторыми неопределенностями, связанными с неполнотой наших знаний о механизмах и характере токсического действия веществ.

Каждый этап оценки риска предполагает формирование определенных выводов при отсутствии исчерпывающей информации, необходимой для этого. В этой связи основные недостатки методологии оценки риска связаны с необходимостью принятия большого числа допущений (экстраполяции данных, моделирования ситуации и т.д.), что сказывается на точности формулируемых выводов.

Существует четыре основных источника появления неопределенности в методологии оценки риска:

- влияние свойств и особенностей окружающей среды на эффекты, вызываемые токсикантами;
- допущения в процессе установления зависимости "доза-эффект";
- допущения при определении токсикокинетических параметров ксенобиотика;
- неопределенность, обусловленная переходами от одного этапа исследования к другому.

Для правильного отношения к результатам исследования необходимо иметь представление о причинах и механизмах появления неопределенности в процессе оценки риска.

4.1. Экстраполяция данных

Экстраполяция - это процесс распространения выводов (суждений, заключений), полученных для определенных объектов в определенных условиях, на иные объекты и иные условия. Экстраполяция при оценке риска действия токсикантов, как правило, касается переноса данных, полученных на одном виде животных, на другие биологические объекты (другие виды животных, человека), установленные в условиях моделирования непрерывного воздействия - на интермитирующее, результатов, полученных для больших доз воздействия - на малые и т.д. Очевидно, что экстраполяция требует целого ряда допущений, которые и являются источниками неопределенности. Улучшение способов экстраполяции предполагает исчерпывающее знание токсикокинетических и токсикодинамических характеристик токсикантов. В настоящее время для большинства веществ такая информация просто отсутствует.

Необходимость экстраполяции диктуется объективными причинами. Так, оценка токсичности осуществляется в опытах на лабораторных животных. Вместе с тем хорошо известны видовые различия чувствительности к токсикантам (таблица 3).

Таблица 3. Сравнительная токсичность некоторых веществ для человека и экспериментальных животных (ЛД₅₀; мг/кг - через рот)

Вещество	Человек	Крыса	Мышь	Кролик	Собака
Анилин	350	440	-	-	-
Амитап	43	560	-	575	-
Борная кислота	640	2660	3450	-	-
Кофеин	192	192	620	-	-
Карбофуран	11	5	2	-	-
Линдан	840	125	-	130	120
Аминопирин	-	1380	1850	160	150

(A. Rowan, 1983)

Иногда считают, что человек - наиболее восприимчивый вид. В частности из этого представления исходят при изучении канцерогенной активности ксенобиотиков. Однако это не так. Изучая и используя на практике явление избирательной токсичности, удалось создать огромное количество препаратов, малотоксичных для людей и высокотоксичных для представителей других видов (антибиотики, противопаразитарные средства, пестициды и т.д.). Поэтому в тех случаях, когда при определении риска основываются на рассматриваемой посылке, может возникнуть существенная переоценка степени риска для человека.

Для достоверного выявления "слабых" токсических эффектов вещества, действующего в малых дозах, порой необходимо проведение эксперимента на тысячах лабораторных животных. Ни физически, ни экономически это не осуществимо. Поэтому обычно исследование проводится с использованием высоких доз токсикантов, что позволяет получить статистически значимые результаты. Однако затем необходим этап обратной экстраполяции. Существует несколько математических моделей экстраполяции данных, полученных в опытах с высокими дозами веществ на малые, но отсутствует информация, какая из этих моделей адекватно характеризует процесс, или даже на сколько реальны они все. Эти модели хорошо (и главное практически одинаково) описывают зависимость "доза-эффект" при относительно высоких уровнях воздействия, но при слабых воздействиях, выявляются существенные различия между ними. Причем, чем к более малым дозам экстраполируются результаты, тем больше вероятность расхождений. В рамках существующего знания отсутствует возможность экспериментальной верификации этих моделей.

Неопределенности, возникающие при использовании для оценки риска данных, полученных в ходе эпидемиологических исследований, рассмотрены в соответствующем разделе книги.

4.2. Неадекватные исследования

Многие данные, полученные в эксперименте, не могут быть надежно использованы в процессе оценки риска. Так, целый ряд характеристик токсичности веществ получен в условиях, совершенно не соответствующих тем, для которых оценивается риск. Вместе с тем проявления токсического действия, как правило, существенно зависят от условий проведения эксперимента. Дозы, примененные экспериментатором для оценки токсических свойств ксенобиотика, могут существенно отличаться от тех, в которых токсикант действует на организм в реальных условиях. Естественно и последствия этого воздействия могут быть совершенно иными.

4.3. Различия в механизмах токсического действия

Особенности механизмов токсического действия веществ могут иметь решающее значение для выбора методологии оценки риска действия ксенобиотиков. Так, принято выделять две группы канцерогенов: взаимодействующие с ДНК (генотоксическое действие) и не взаимодействующие с ДНК (эпигенетическое действие). Современные теории, описывающие химический канцерогенез, выделяют три этапа развития опухоли: инициацию, промоцию, экспрессию. Инициаторы и промоторы с известными допущениями могут быть охарактеризованы соответственно как генотоксиканты и эпигенотоксиканты. Вещества, относящиеся к первой группе действуют по беспороговому принципу, в то время, как эпигенотоксиканты могут быть охарактеризованы соответствующим пороговым значением доз. Методология оценки риска для таких веществ, принципиально различна (см. выше). Однако далеко не для всех канцерогенов установлен механизм их действия. Существующая методика оценки риска действия канцерогенов не учитывает различий механизмов их действия.

4.4. Популяционные различия

Методология расчета риска имеет дело с "типичным" человеком, но хорошо известно, на сколько реальные люди отличаются от воображаемого стандарта. Определяемые значения коэффициентов риска рассчитаны на применение в популяции. Однако выраженность ответных реакций индивидов, составляющих популяцию, на токсикант, как ожидается, должна подчиняться закону нормального

распределения. В этой связи установление единого индекса опасности для всей популяции приводит к "ущемлению интересов" лиц, чувствительность которых к ксенобиотику выходит за рамки "обычной" с позиции современной статистики (группа лиц с высокой чувствительностью). Таким образом, усреднение коэффициентов риска, использование наиболее вероятных значений этой величины приложимы только к популяции в целом и представляют собой значительные допущения, рождающие неопределенность, при использовании их применительно к конкретному человеку.

В последнее время в токсикологических лабораториях часто используют инбредных животных. Получаемые в этом случае результаты варьируют не в столь широких пределах, как в реальной генетически гетерогенной популяции, каковой, в частности, является популяция людей. Используя такие данные, исследователь может допустить ошибку в отношении возможного риска для тех подгрупп населения, чувствительность которых к токсиканту особенно велика.

4.5. Неопределенность при оценке воздействия

Оценка воздействия - самый слабый элемент системы оценки риска. Значения, обычно характеризующие воздействия, являются результатом редких измерений. Дозы, которые получил человек, часто устанавливаются расчетным методом. При этом их определение осуществляется с учетом усредненных характеристик массы организма (70 кг) и потребления человеком (например, 2 литра питьевой воды в сутки, 20 м³ вдыхаемого воздуха в день, 100 мг почвы, попадающей ежедневно в организм с пищей и вдыхаемым воздухом и т.д.). Такие оценки воздействия адекватно характеризуют лишь небольшую часть населения. В итоге получают результаты существенно отличающиеся от реальных.

Уровень воздействия, частота, продолжительность, способ воздействия никогда в полной мере не являются неизменными. Источник воздействия, например зараженная среда, часто не могут быть охарактеризованы количественно. Обычно для этой цели прибегают к использованию усредненных результатов отдельных измерений, а еще чаще - расчетным методом. В существенном улучшении нуждаются методики описания поведения токсикантов в окружающей среде.

Факторы окружающей среды, такие как температура, влажность воздуха, скорость ветра, шумы, плотность населения, питание, привычки, активность и т.д. - оказывают большое влияние на особенности и выраженность действия ксенобиотиков. Эти факторы сказываются, например, на особенностях токсикокинетики веществ в организме.

Изложенные обстоятельства - важные источники неопределенности, поскольку не могут быть полностью учтены.

4.6. Неопределенность, связанная с комбинированным действием токсикантов

В реальных условиях люди не подвергаются изолированному воздействию какого либо одного химического вещества. Как правило, действуют смеси соединений самого различного состава. Естественно, в лабораторных условиях, с целью получения количественных характеристик токсичности, никогда не удастся воспроизвести все эти бесконечные смеси. А вместе с тем вопрос о том, каков эффект данной комбинации ксенобиотиков, каковы характеристики коергизма компонентов смеси (синергизм или антагонизм) является чрезвычайно важным. В настоящее время существующая методология оценки риска не позволяет решить эту проблему, основываясь на научных представлениях. Существующие методы оценки путем простого суммирования действующих доз ксенобиотиков, составляющих смесь, имеют отчетливый механистический характер.

Заключение

До настоящего времени многие ученые противятся распространению методологии оценки риска, поскольку считают его не в полной мере адекватным решаемым задачам. Причина этого в высокой степени неопределенности получаемых результатов, в основе которой - скудость наших знаний в области токсикологии огромного количества токсикантов, окружающих современного человека, общих законов науки токсикологии, несовершенство методологии определения токсичности и т.д.

Конечно хотелось бы, основываясь на строгом научном подходе, идентифицировать и устранить все источники риска для здоровья человека. Поэтому следует уделять пристальное внимание развитию методологии оценки риска, но при этом каждому должно быть понятно, что нулевой риск, в частности от действия химических веществ - недостижимая иллюзия.

РАЗДЕЛ 4. ТОКСИКОКИНЕТИКА

ГЛАВА 4.1. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ

Токсикокинетика - раздел токсикологии, в рамках которого изучаются закономерности, а также качественные и количественные характеристики резорбции, распределения, биотрансформации ксенобиотиков в организме и их элиминации (рисунок 1).

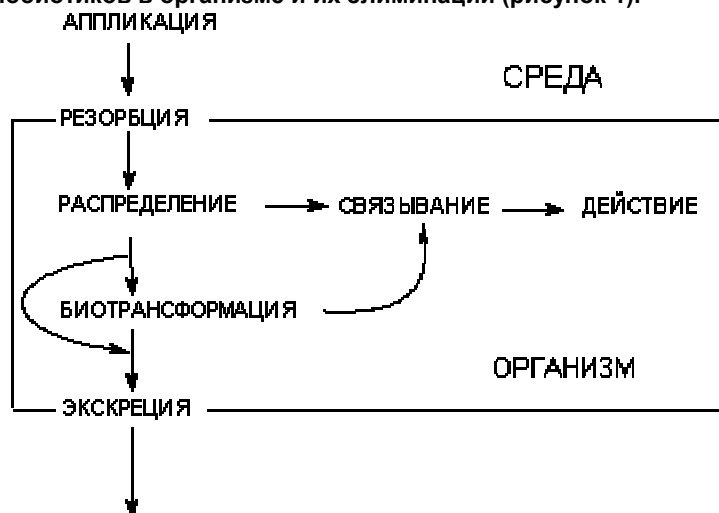


Рисунок 1. Этапы взаимодействия организма с ксенобиотиком

С позиций токсикокинетики организм представляет собой сложную гетерогенную систему, состоящую из большого числа компартментов (отделов): кровь, ткани, внеклеточная жидкость, внутриклеточное содержимое, с различными свойствами, отделенных друг от друга биологическими барьерами. К числу барьеров относятся клеточные и внутриклеточные мембраны, гистогематические барьеры (например, гематоэнцефалический), покровные ткани (кожа, слизистые оболочки). Кинетика веществ в организме - это, по сути, преодоление ими биологических барьеров и распределение между компартментами (рисунок 2).

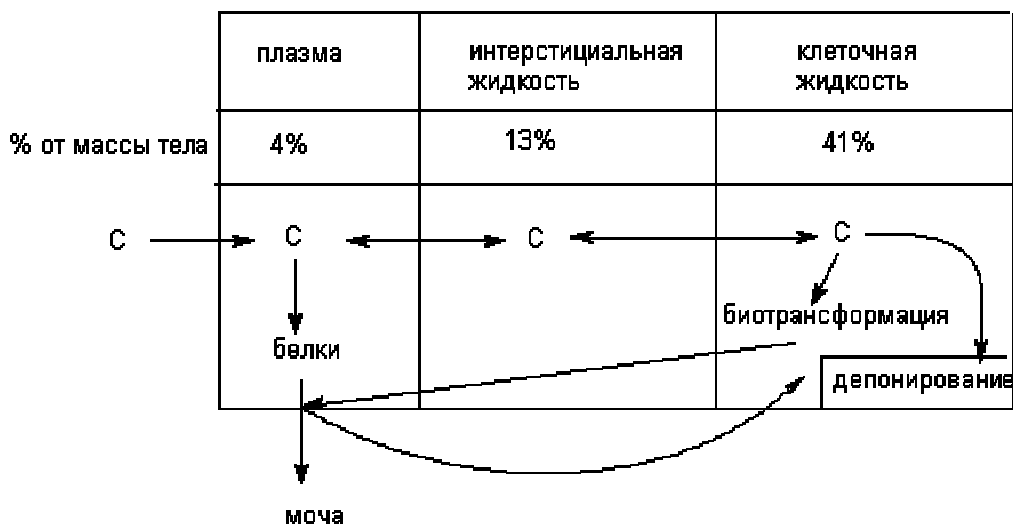


Рисунок 2. Схема движения веществ в основных компартментах организма

В ходе поступления, распределения, выведения вещества осуществляются процессы его перемешивания (конвекция), растворения в биосредах, диффузии, осмоса, фильтрации через биологические барьеры.

Конкретные характеристики токсикокинетики определяются как свойствами самого вещества, так и структурно-функциональными особенностями организма.

Важнейшими характеристиками вещества, влияющими на его токсикокинетические параметры, являются:

- коэффициент распределения в системе масло/вода - определяет способность накапливаться в соответствующей среде: жирорастворимые - в липидах; водорастворимые - в воде;
- размер молекулы - влияет на способность диффундировать в среде и проникать через поры биологических мембран и барьеров;
- константа диссоциации - определяет относительную часть молекул токсиканта, диссоциировавших в условиях внутренней среды организма, т.е. соотношение молекул, находящихся в ионизированной и неионизированной форме. Диссоциировавшие молекулы (ионы) плохо проникают через ионные каналы и не проникают через липидные барьеры;
- химические свойства - определяют сродство токсиканта к химическим и биохимическим элементам клеток, тканей и органов.

Свойства организма, влияющие на токсикокинетику ксенобиотиков.

Свойства компартментов:

- соотношение воды и жира в клетках, тканях и органах. Биологические структуры могут содержать либо мало (мышечная ткань), либо много жира (биологические мембраны, жировая ткань, мозг);
- наличие молекул, активно связывающих токсикант. Например в костях имеются структуры, активно связывающие не только кальций, но и другие двухвалентные металлы (свинец, стронций и т.д.).

Свойства биологических барьеров:

- толщина;
- наличие и размеры пор;
- наличие или отсутствие механизмов активного или облегченного транспорта химических веществ.

По существующим представлениям сила действия вещества на организм является функцией его концентрации в месте взаимодействия со структурой-мишенью, что в свою очередь определяется не только дозой, но и токсикокинетическими параметрами ксенобиотика. **Токсикокинетика формулирует ответ на вопрос, каким образом доза и способ воздействия вещества на организм влияют на развитие токсического процесса?**

Помимо теоретических, данные токсикокинетики позволяют грамотно решать и практические задачи. Например, на основе анализа содержания ксенобиотиков и их метаболитов в биосредах оценивать риск действия вещества на производстве, выявлять случаи острых, подострых, хронических интоксикаций, проводить судебно-медицинские исследования, корректировать терапевтические мероприятия, разрабатывать противоядия и совершенствовать методы форсированной детоксикации организма и т.д.

Точность и достоверность результатов токсикокинетических исследований увеличиваются по мере совершенствования методов аналитической химии. Количественная токсикокинетика широко использует математический аппарат. Построение математических моделей, описывающих течение во времени процессов резорбции, распределения, элиминации веществ, вводимых в определенных дозах, позволяет получать характеристики, которые и используются на практике. В интересах практики даже самые сложные токсикокинетические процессы исследователи пытаются облечь в доступную форму относительно простых констант.

1. Растворение и конвекция

Растворение - процесс накопления вещества в жидкой фазе (растворителе) в молекулярной или ионизированной форме. Количественно процесс характеризуется растворимостью, т.е. максимальным количеством вещества, способным накапливаться в данном объеме растворителя при определенной температуре и давлении. Основными растворителями организма являются вода и липиды (жировая ткань, липиды биологических мембран и т.д.). Растворимость определяется физическим и химическим сродством молекул растворителя и растворяемого вещества. Как правило хорошо растворяются друг в друге подобные по физико-химическим свойствам вещества - полярные молекулы в полярных растворителях (воде), неполярные молекулы в неполярных растворителях (липидах).

Конвекция. Без явления конвекции жизнь организма была бы невозможна, так как только благодаря ей осуществляется быстрый обмен веществами между внешней и внутренней средами. Вещества, проникшие в кровоток, распределяются в организме также путем механического перемешивания, т.е. конвекции. Они в считанное время распространяются по всему организму, проникая как в хорошо, так и плохо кровоснабжаемые органы.

Так, через органы с общей массой 7% от массы тела (мозг, легкие, сердце, печень, почки) за минуту протекает 70% объема минутного сердечного выброса крови. Поэтому токсиканты, попавшие в кровоток, прежде всего, окажутся в этих органах. Напротив, шунтирование крови и исключение из кровотока отдельных участков органа или ткани может полностью предотвратить поступление сюда токсиканта.

Движущей силой конвекции является градиент давления крови Δp , создаваемый периодическим сокращением сердечной мышцы. Ламинарное движение жидкости по неподвижной трубке подчиняется закону Хагена-Пуазейля, в соответствии с которым, скорость движения обратно пропорциональна радиусу трубки. Этому же закону, с известными ограничениями, подчиняется и движение крови по сосудам. Так как суммарная площадь сечения капиллярного русла в 700 раз больше площади сечения аорты, скорость кровотока по капиллярам существенно ниже, чем в аорте (в капиллярах - 0,03 - 0,05 см/сек; в аорте - 20 см/сек). Поэтому перемешивание токсиканта в крови, в основном осуществляется в сердце, аорте и крупных сосудах.

Сердечно-сосудистая недостаточность затрудняет распределение веществ в организме.

2. Диффузия в физиологической среде

Диффузия - процесс перемещения массы вещества в пространстве в соответствии с градиентом концентрации, осуществляемый вследствие хаотического движения молекул.

Диффузия веществ в воде описывается уравнением Фика:

$$Y = -D_p \frac{\Delta C}{\Delta l} S \Delta t, \text{ где}$$

Y - количество диффундирующего вещества;

D_p - коэффициент диффузии вещества в воде (для различных веществ можно найти в справочниках). С увеличением молекулярной массы вещества величина коэффициента диффузии, как правило, уменьшается;

$\Delta C / \Delta l$ - градиент концентраций вещества в различных участках среды;

S - площадь диффузионной поверхности.

Δt - время регистрации процесса.

Знак минус означает, что движение вещества осуществляется в направлении, по которому градиент концентрации отрицателен.

Из уравнения следует, что количество диффундировавшего вещества из одной среды в другую увеличивается при увеличении разности концентраций между средами, площади их соприкосновения, времени контакта и уменьшается при увеличении диффузионного расстояния (Δl).

При изучении диффузии газов между воздухом и тканями животных целесообразно соотносить скорость процесса с величиной парциального давления газов. Коэффициент диффузии в данном случае использовать очень сложно из-за трудностей, возникающих при определении концентрации вещества в тканях. Для того, чтобы преодолеть это препятствие вместо коэффициента диффузии в расчетах используют константу диффузии, численно равную количеству газа, в кубических сантиметрах, которое диффундирует за 1 мин через 1 см² площади контакта при градиенте давления 1 атм на 1 см.

Физиологически значимые диффузионные процессы осуществляются на небольшие расстояния - от нескольких микрон до миллиметра. Дело в том, что время диффузии возрастает пропорционально квадрату пути, проходимому молекулой (для диффузии на расстояние 1 мкм потребуется время 10⁻² с, для 1 мм - 100 с, для 10 мм - 10000 с, т.е. три часа). Поэтому распределение веществ в организме осуществляется путем конвекции, преодоление различного рода барьеров - путем диффузии.

Процесс диффузии веществ в биологических средах, таких как плазма крови, ликвор, внутри- и межклеточная жидкость имеет некоторые особенности. Компонентами биологических жидкостей, влияющими на процесс диффузии ксенобиотиков, являются как низкомолекулярные (K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, H₂PO₄⁻, мочевины, аминокислоты и т.д.), так и высокомолекулярные вещества. К числу последних, например, в плазме крови относятся белки (альбумины, глобулины, фибриноген), липопротеины и т.д. Свободная диффузия ксенобиотиков значительно ограничивается упомянутыми веществами. Особенно сильно влияет на процессы распределения химическое взаимодействие токсикантов с компонентами биологических жидкостей (в основном белками - размер образующихся комплексов в 200 - 700 раз превосходят размеры свободных токсикантов) - связавшиеся вещества практически утрачивают способность проникать через биологические барьеры не только путем диффузии, но и фильтрации.

2.1. Проникновение веществ через биологические барьеры

На пути вещества, диффундирующего в организме, постоянно встречаются барьеры, а именно: эпителиальные, эндотелиальные структуры; клеточные, ядерные, митохондриальные мембраны и т.д.

Биологические мембраны представляют собой двойной слой молекул липидов, гидрофильные участки которых обращены в сторону водной фазы, а гидрофобные погружены внутрь мембраны. В липидный бислой встроены молекулы протеинов, которые и определяют тип мембраны, её физиологическую и морфологическую идентичность, свойства и, в том числе, проницаемость для химических веществ. Через биологические мембраны могут проходить жирорастворимые вещества, молекулы воды и лишь некоторые низкомолекулярные гидрофильные соединения.

Для объяснения этого феномена постулируется, что липидные мембраны имеют гидрофильные "поры" диаметром до 0,4 нм. В соответствии с жидкостно-мозаичной моделью Зингера и Николсона, эти "поры" представляют собой проницаемые точки неупорядоченной структуры мембраны (точки выпадения). С позиций теории упорядоченности белковых молекул в мембране, поры - ионные каналы, образуемые белками.

Так, постулировано, что отдельные протеины способны свободно диффундировать в липидном бислое, другие фиксированы в структуре цитоскелета. Большинство таких протеинов образуют в плоскости мембраны структуры, порой состоящие из нескольких субъединиц, обеспечивающие функциональный контакт клетки с окружающей средой. Примером таких структур являются ионные каналы, регулирующие проницаемость биомембран для ионов натрия, калия, кальция, хлора. Например, натриевый канал представляет собой крупный белковый комплекс, встроенный в липидную мембрану, состоящий из 4 гомологичных субъединиц, каждая из которых образован 8 различными белками. Такими же сложными структурами являются мембранные поры, через которые осуществляется транспорт других ионов и молекул.

Упрощенно любой биологический барьер, поскольку он формируется клеточными структурами, можно представить как липидную поверхность с определенным количеством пор (каналов) разного диаметра. В качестве гидрофильных каналов в сложных биологических барьерах выступают не только поры клеточных мембран, но и промежутки между клетками, которые также называются порами. Сравнение площадей непрерывного липидного слоя и суммарной поверхности пор показывает, какова относительная проницаемость конкретного биологического барьера для липофильных и гидрофильных веществ. Хотя такие представления являются более чем упрощенными, они позволяют объяснять поведение токсикантов внутри организма. На таблице 1 представлены характеристики различных биологических барьеров организма млекопитающих.

Таблица 1. Характеристики различных биологических барьеров

Тип барьера	Проницаемость для веществ	Примеры
Липидная мембрана	Хорошо растворимые в жирах, неионизированные молекулы	Слизистые полости рта, эпителий почечных канальцев, эпителий кожи, гемато-энцефалический барьер
Липидная мембрана с порами малого диаметра (0,3 - 0,8 нм)	Хорошо растворимые в жирах и низкомолекулярные водорастворимые молекулы (до 200 Д)	Эпителий тонкой и толстой кишки
Липидная мембрана с порами средних размеров (0,8 - 4 нм)	Липофильные и в меньшей степени гидрофильные молекулы	Слизистые оболочки глаз, носоглотки, мочевого пузыря
Липидная мембрана с порами диаметром более 4 - 6 нм	Липофильные и гидрофильные молекулы с молекулярной массой до 1000 Д	Легкие, стенка капилляров кожи, мышц, желчные капилляры
Липидная мембрана	Липофильные и гидрофильные	Печеночные капилляры

с пора большого диаметра	молекулы с большой молекулярной массой (до 4000 Д)	
Пористая мембрана	Гидрофильные молекулы с молекулярной массой до 50000 Д	Гломерулярный аппарат почек

Транспорт веществ через биологические барьеры порой чрезвычайно сложный процесс. Так, прохождение кальция через клеточные мембраны кардиомиоцитов осуществляется с помощью по крайней мере 7 механизмов. В таблице 2 приведены примеры механизмов проникновения химических веществ через биологические барьеры.

Таблица 2. Механизмы проникновения химических веществ через биологические барьеры

ПРОХОЖДЕНИЕ ЧЕРЕЗ:	МЕХАНИЗМЫ	ВЕЩЕСТВА
Липидные мембраны	Свободная диффузия в соответствии с градиентом концентрации	Жирорастворимые ксенобиотики
Ионные каналы ("поры" 0,3 - 0,4 нм)	Затрудненная диффузия в соответствии с градиентом концентрации	Гидрофильные молекулы малых размеров; ионы, селективно проникающие через ионные каналы
Транспортные белки; пермеазы; транслоказы	Активный транспорт против градиента концентрации с потреблением АТФ; каталитическая диффузия	Некоторые субстраты, сахара, органические кислоты и основания
Инвагинация мембран	Фагоцитоз; пиноцитоз; эндоцитоз рецепторных молекул	Большие молекулы, частицы, капли диаметром до 20 нм
Межклеточные поры	Затрудненная диффузия, избирательная фильтрация	Ионы; большие молекулы, нерастворимых в липидах веществ
Коннексоны	Контролируемая фильтрация	Ионы; аминокислоты; сахара; нуклеотиды (размеры до 2 нм)

2.2. Диффузия веществ через липидные мембраны

Исследования с использованием искусственных липидных мембран, сформированных из фосфатидилхолина (лецитина) свидетельствуют, что такие мембраны непроницаемы для заряженных ионов даже небольшого диаметра, например Na^+ , Cl^- , но проницаемы для незаряженных жирорастворимых молекул (хлороформ, дихлорэтан, бутанол и т.д.). Причиной полного отсутствия проницаемости для ионов является высокое значение энергии, необходимой для переноса заряженной молекулы из водной среды в неполярную гидрофобную среду мембраны.

Многочисленные исследования проницаемости биологических барьеров для химических веществ (модель - эритроциты, эпителиальные слои и т.д.) показывают, что они ведут себя как липидные мембраны. Такие свойства обеспечивают разделение биологических сред, отграничение организма от окружающей среды. Высокая изолирующая способность липидных мембран имеет большое значение для нормального функционирования клеток и тканей. Так, для переноса ионов через возбудимые мембраны нейронов, миоцитов клетки должны располагать специфическими каналами, состояние которых регулируется с помощью электрических или химических механизмов.

Процесс проникновения жирорастворимых веществ через липидные мембраны можно рассматривать с позиций простой диффузии, выделив при этом три этапа:

1. Переход молекулы из водной фазы в гидрофобную фазу биологической мембраны;
2. Диффузия молекул в мембране;
3. Переход из липидной в водную фазу.

Поскольку диффузии в мембране описывается уравнением Фика, а переход молекулы из одной среды в другую определяется соотношением растворимости вещества в этих средах, проницаемость барьера должна зависеть от величины коэффициента диффузии, а также коэффициента распределения вещества в системе липиды/вода. Коэффициенты диффузии различных химических веществ варьируют в достаточно узких границах. Напротив, коэффициенты распределения в системе масло/вода различаются существенным образом. Это означает, что при сравнении проницаемости веществ значением коэффициента диффузии (D) можно пренебречь, и тогда:

$$P = \text{const } \beta, \text{ где}$$

P - коэффициент проницаемости барьера (мембраны) для вещества;

β - коэффициент распределения вещества в системе липиды/вода.

Так как коэффициент проницаемости пропорционален коэффициенту распределения (абсорбции), скорость проникновения различных веществ через мембраны существенно различна: вещество тем легче проникает через клеточную мембрану, чем выше его растворимость в липидах. Однако неверно полагать, что между проницаемостью и растворимостью в липидах существует простая линейная связь. При достаточно высоких значениях коэффициента β вещество накапливается в липидных мембранах и утрачивает способность покидать их. Таким образом, прослеживается следующая зависимость: с увеличением растворимости в липидах первоначально проницаемость барьера для веществ растёт, но достигнув определенного уровня, вновь понижается.

2.3. Диффузия через поры

Проникновение через биологические барьеры веществ, растворимых преимущественно в воде, осуществляется путем диффузии через водные каналы (поры), а потому определяется размерами

молекулы и практически не зависит от коэффициента распределения в системе масло/вода. Молекулы малого размера свободно проходят через поры. Если диаметр молекулы больше диаметра пор, она не проникает через мембрану. Кривая зависимости "проницаемость - размеры молекул" носит S-образный характер (рисунок 3).

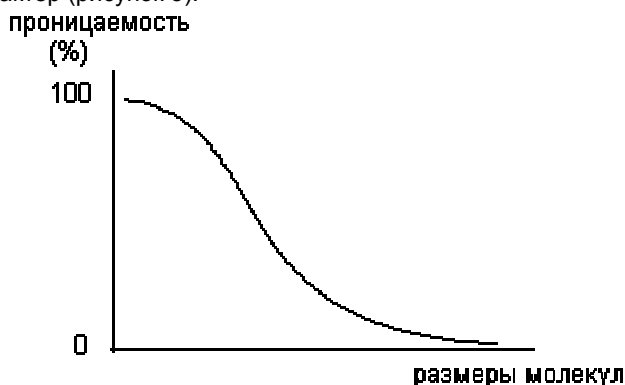


Рисунок 3. Зависимость проницаемости биологических барьеров от размеров молекул водорастворимых веществ

Можно представить, что с увеличением размеров молекул их взаимодействие со стенками белковых каналов все в большей степени препятствует свободной диффузии. Так, радиус пор мембран эпителия желудочно-кишечного тракта составляет 0,3 - 0,8 нм. Химические вещества, поступающие в организм *per os*, и имеющие молекулярную массу менее 400 Д, могут проходить через эпителий кишечника, но лишь при условии, что молекулы имеют цилиндрическую форму. Для молекул шарообразной формы, граница проницаемости через эпителий желудочно-кишечного тракта - 150 - 200 Д.

В целом диффузия водо-растворимых веществ через барьеры также описывается уравнением Фика, однако, в качестве диффузионной поверхности следует учитывать только эффективную интегральную площадь пор.

Проницаемость биологических барьеров для электролитов еще более затруднена. Поры биологических мембран плохо проницаемы (а порой и непроницаемы вовсе) для заряженных молекул, причем величина заряда имеет большее значение, чем их размеры. Отчасти это обусловлено взаимодействием (притяжением или отталкиванием) ионов с зарядами белковой стенки каналов, отчасти их гидратацией в водной среде. Степень гидратации тем выше, чем выше заряд. Размеры гидратированного иона значительны, что затрудняет его диффузию. В этой связи проницаемость мембран для двухвалентных ионов всегда ниже, чем для одновалентных, а трехвалентные практически не способны преодолевать биологические барьеры.

Слабые органические кислоты и основания способны к реакции диссоциации, т.е. образованию ионов, в водной среде. Причем недиссоциированные и, следовательно, незаряженные молекулы таких веществ проникают через липидные мембраны и поры в соответствии с величиной коэффициента распределения в системе масло/вода, диссоциировавшие же молекулы через липидный бислой и поры не диффундируют. Для проницаемости подобных веществ большое значение имеет величина их pK_a , определяющая, какая часть растворенного вещества будет находиться в ионизированной и неионизированной форме при данных значениях pH среды. pK_a представляет собой отрицательный логарифм константы диссоциации слабых кислот и оснований, и численно равна pH, при котором 50% вещества находится в ионизированной форме. Степень диссоциации вещества может быть рассчитана по формулам:

$$\text{Log(неиониз.форма)/(ионизир.форма)} = pK_a - \text{pH (для слабых кислот)}$$

$$\text{Log(ионизир.форма)/(неиониз.форма)} = pK_a - \text{pH (для слабых оснований)}$$

Кислая среда способствует превращению слабых кислот ($\text{RCOOH} \leftrightarrow \text{RCOO}^- + \text{H}^+$) в неионизированную форму, и наоборот, щелочная (pH больше pK_a) - в ионизированную. Для слабых оснований ($\text{RNH}_2 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{RNH}_3^+$) справедлива обратная зависимость: уменьшение pH (увеличение концентрации водородных ионов в среде) способствует превращению веществ в ионизированную форму.

Различия в значениях pH по обе стороны биологической мембраны существенно влияют на процессы резорбции, являются причиной неравномерного распределения веществ в организме. Значения pH плазмы крови и различных тканей не одинаковы (таблица 3).

Таблица 3. Значения pH различных жидкостей организма человека

Орган или жидкость	значение pH
Кровь	7,36
Слюна	5,4 - 6,7
Желудочный сок	1,3 - 1,8
Панкреатический сок	8,3
Двенадцатиперстная кишка	7,0 - 7,8
Тонкая кишка	6,2 - 7,3
Молоко	6,4 - 6,7
Моча	4,8 - 7,4
Пот	4,0 - 8,0
Ликвор	7,5
Мышечная ткань	6,7 - 6,8
Связки	7,2

Почки	6,6 - 6,9
Протоплазма клеток	6,4 - 7,0

2.4. Межклеточный транспорт химических веществ

Через специальные каналы, так называемые коннексоны, возможен обмен между контактирующими друг с другом клетками веществами с молекулярной массой до 1000 дальтон (ионами, аминокислотами, сахарами, нуклеотидами). Коннексоны представляют собой белковые образования, состоящие из 6 субъединиц в каждой из контактирующих мембран. Диаметр поры коннексона в зависимости от концентрации Ca^{2+} в окружающей среде изменяется в интервале от 0 до 2 нм. Через коннексоны возможно проникновение в клетку и токсических веществ. В настоящее время коннексоны обнаружены во всех тканях организма млекопитающих и человека за исключением мышечной и нервной.

2.5. Диффузия растворенных газов

Благодаря малым размерам молекул, газы в биологических средах диффундируют с относительно высокой скоростью. Они хорошо проникают из окружающей среды в кровь, а затем из крови в ткани. Это справедливо не только для веществ, участвующих в процессе дыхания (кислород, диоксид углерода), но и для подавляющего большинства газообразных токсикантов.

Количество газа, растворенного в жидкости, определяется:

1. Величиной его парциального давления в газовой смеси над жидкостью;
2. Свойствами жидкости;
3. Температурой.

Количество газа (объем), растворяющегося в единице объема жидкости при стандартных условиях и значении его парциального давления 1 атм, характеризуется коэффициентом поглощения (абсорбции) Бунзена (α). С повышением температуры α понижается. Понижение значения коэффициента Бунзена отмечается также при повышении ионной силы раствора (все биологические жидкости в сравнении с водой).

Поскольку величина коэффициента диффузии для различных газов практически одинакова, их накопление в тканях, определяется парциальным давлением и растворимостью в биологических жидкостях. В таблице 4 представлены значения коэффициентов α для некоторых газов. Обращает на себя внимание высокая растворимость аммиака и низкая таких газов, как кислород, азот и т.д. В целом прослеживается следующая закономерность - чем лучше растворяется газ в воде, тем большая его часть, при ингаляции, связывается верхними дыхательными путями, легочной тканью, и тем меньшая проникает во внутренние среды организма. В этой связи аммиак, при ингаляции, будет оказывать преимущественно местное действие на верхние отделы дыхательных путей, сероводород - не только местное раздражающее, но и резорбтивное действие, оксид углерода - только системное действие.

Таблица 4. Коэффициенты поглощения Бунзена для ряда газов в воде (20°C)

ГАЗ	α_{20}
Азот	0,015
Водород	0,018
Оксид углерода	0,023
Кислород	0,031
Этилен	0,122
Оксид азота	0,629
Диоксид углерода	0,879
Ацетилен	1,030
Сероводород	2,583
Аммиак	702,0

Биологически значимы различия в абсорбционной способности CO_2 и O_2 . При физиологических условиях ткани лучше отдают диоксид углерода, чем поглощают кислород. В этой связи обмен веществ в клетках в значительно большей степени лимитирован скоростью проникновения в ткани O_2 , чем высвобождением ими CO_2 . Различия в способности этих газов растворяться в жидкостях, важны и при формировании токсического отека легких, вызванного ингаляцией некоторых токсикантов, например хлора или фосгена. При накоплении отечной жидкости в альвеолах увеличивается толщина барьера, отделяющего кровь от воздуха. Вследствие существенных различий в способности кислорода и диоксида углерода растворяться в жидкостях, для O_2 отечная жидкость, инфильтрирующая альвеоларно-капиллярный барьер, представляет плохо преодолеваемую преграду, для CO_2 - нет. В результате, на фоне токсического отека легких развивается гипоксия при нормальном содержании (или даже пониженном) CO_2 . Поскольку углекислый газ является стимулятором дыхательного центра, его недостаток в крови усугубляет и без того тяжелое состояние отравленного. Методом повышения содержания O_2 в крови является увеличение его парциального давления во вдыхаемом воздухе.

3. Осмос

Осмос - процесс перемещения растворителя через мембрану, не проницаемую для растворенного вещества, в сторону его более высокой концентрации.

Биологические жидкости представляют собой многокомпонентные растворы, в которых осмотическое давление всех растворенных частиц пропорционально их общей концентрации. При интоксикациях осмотическое давление внутри и вне клеток за счет попадания во внутреннюю среду молекул токсикантов практически не изменяется. Тем не менее это явление имеет определенное токсикологическое значение.

Клетки организма ведут себя, как осмометр, снабженный полупроницаемой мембраной. Если они взаимодействуют с гипосмотической средой, внутрь клеток поступает вода. В результате увеличивается их объем. При значительном увеличении объема клеточная мембрана разрушается, клеточное содержимое выходит в среду. Это явление называется цитоллизом (для эритроцитов - гемолизом). Вещества,

нарушающие эластичность биологических мембран (мышьяковистый водород, сурьмянистый водород и др.), снижают резистентность клеток к колебаниям осмотического давления среды и вызывает гемолиз. Реакция антиген-антитело может приводить к существенному изменению проницаемости клеточных мембран, а это в свою очередь также становится причиной лизиса клеток. В гиперосмотической среде клетки отдают воду, и объем их уменьшается (в крови появляются "звездчатые" эритроциты).

В целом явление осмоса оказывает несущественное влияние на токсикокинетические характеристики ксенобиотиков. Однако при назначении осмотических диуретиков удается существенно повысить интенсивность процесса отделения мочи путем увеличения осмотического давления жидкости внутри почечных канальцев, и затруднения тем самым реабсорбции воды. В этих условиях ускоряется процесс элиминации выделяемых через почки некоторых ксенобиотиков и продуктов их метаболизма.

4. Фильтрация

Под фильтрацией понимают процесс просачивания жидкости с растворенными в ней молекулами веществ под действием механической силы (гидростатическое, осмотическое давление) через пористые мембраны, задерживающие крупнодисперсные частицы. Размер фильтруемых частиц определяется размерами пор мембраны. Поскольку диаметр пор биологических мембран мал, в организме путем фильтрации разделяются не только грубодисперсные "частицы" (клетки крови), но и растворенные в биологических жидкостях молекулы (ультрафильтрация).

Скорость фильтрации или объем жидкости, проходящий через пористую мембрану за единицу времени зависит от:

1. Различия гидростатического давления по обе стороны мембраны, т.е. градиента давления;
2. Вязкости жидкости, которая в свою очередь, зависит от температуры;
3. Проницаемости мембраны, которая определяется размерами пор, их числом, структурой, особенностями взаимодействия стенки мембраны с жидкостью;
4. Площади фильтрующей поверхности.

На скорость фильтрации ксенобиотиков в органах, кроме того, влияют дополнительные факторы:

1. Детерминированные свойствами организма: давление крови, количество функционирующих фильтрующих образований (капилляров, почечных клубочков и т.д.);
2. Обусловленные свойствами веществ: размеры и форма молекул, особенности взаимодействия с порами.

Фильтрация осуществляется главным образом в капиллярном отделе кровеносного русла: капилляры проницаемы для низкомолекулярных веществ. На принципе фильтрации основана работа гломерулярного аппарата почек, в котором происходит образование первичной мочи. Путем фильтрации из организма выделяется подавляющее большинство ксенобиотиков.

4.1. Капиллярная фильтрация

На распределение жидкости между интра- и экстравазальным пространствами тканей влияют следующие факторы:

- давление крови в капиллярном русле (p_k);
- давление жидкости вне капиллярного русла ($p_{тк}$);
- колоидосмотическое давление крови (π_k);
- колоидосмотическое давление тканевой жидкости ($\pi_{тк}$).

Результирующее давление определяется как:

$$P_{эф} = p_k - p_{тк} - \pi_k + \pi_{тк}$$

На рисунке 4 схематично представлен обмен жидкостью между капиллярным руслом и тканями. Давление крови в артериальном отделе капилляра составляет около 32 мм Нг, в венозном - 17 мм Нг, давление тканевой жидкости - 3 мм Нг. Колоидосмотическое давление крови равно 25 мм Нг и тканевой жидкости - 5 мм Нг. Следовательно, эффективное давление в артериальном отделе капилляра составляет около +9 мм Нг, в венозном - -6 мм Нг. Это означает, что в артериальном отделе капилляра происходит фильтрация, а в венозном - реабсорбция жидкости. В итоге, движение жидкости через стенку сосуда зависит от разницы $\Delta p - \Delta \pi$, а 90% отфильтрованной в артериальной части капилляра жидкости возвращается в венозном отделе обратно в капиллярное русло. Абсорбция не реабсорбировавшихся 10% жидкости удаляется из тканей по лимфатическим сосудам.

Из этого следует, что при введении веществ непосредственно в кровь, они активно фильтруются в ткани, и наоборот, вещества попадающие в межклеточное пространство, например при подкожном или наочном введении - активно абсорбируются в кровяное русло. В основе действия веществ, усиливающих или блокирующих проницаемость капилляров, лежит не только способность изменять размеры и количество пор в стенке сосуда, но и влияние на диаметр капилляров в артериальном и венозном отделах, т.е. внутрикапиллярное давление.

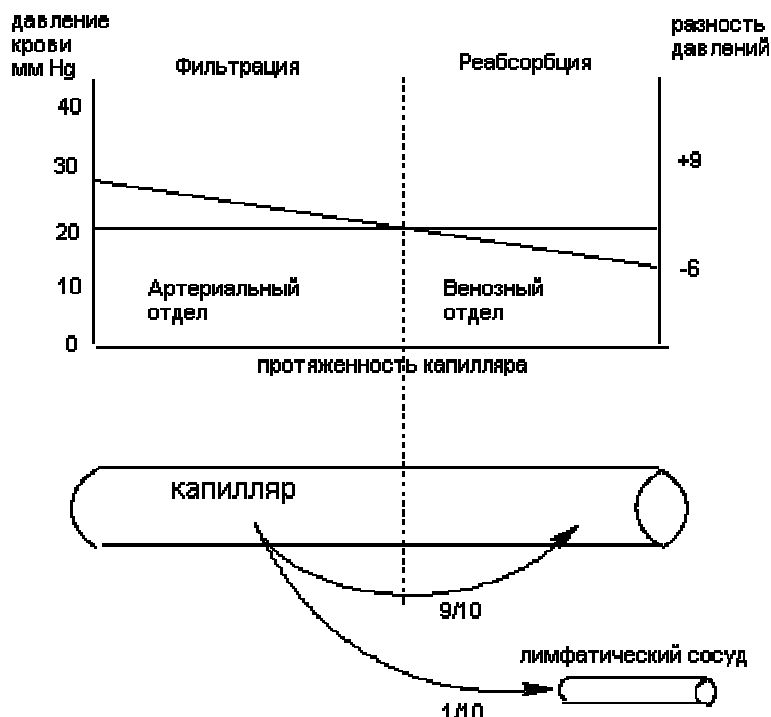


Рисунок 4. Обмен жидкости между капилляром и окружающей тканью

5. Специфический транспорт веществ через биологические барьеры

Хорошая проницаемость ряда биологических барьеров для нерастворимых в липидах веществ объясняется наличием транспортных систем (транслоказ, транспортных белков и т.д.), которые осуществляют их специфический перенос через мембраны.

Эволюционно специфический транспорт возник из физиологических процессов переноса через мембраны относительно простых, жизненно необходимых клетке молекул, например глюкозы, аминокислот и т.д. Для транспорта токсикантов этот механизм не является ведущим. Тем не менее, путем специфического транспорта в клетку могут поступать токсичные вещества - аналоги естественных метаболитов (например, пуриновых и пиримидиновых оснований, сахаров, аминокислот и т.д.). Специфический транспорт веществ через мембраны напоминает ферментативную реакцию. К числу объединяющих эти явления свойств относятся, в частности, общие закономерности реализации процессов, кинетические характеристики, существенно отличающиеся от кинетики простой диффузии (таблица 5).

Таблица 5. Признаки специфического транспорта

1. Связывание ксенобиотика с наружной поверхностью мембраны и молекулой-носителем;
2. Транслокация связанного вещества через мембрану специальным носителем;
3. Высвобождение вещества из связи с носителем внутри клетки;
4. Субстратная специфичность взаимодействия вещества с носителем;
5. Кинетика процесса, описываемая гиперболой (наличие максимальной скорости процесса - V_{max} , и константы процесса - K_m);
6. Наличие веществ, избирательно блокирующих процесс;
7. Более высокая скорость процесса в сравнении с процессом диффузии.

Некоторые ксенобиотики могут изменять активность и свойства молекул-переносчиков и, тем самым, влиять на течение естественных физиологических процессов. Т.е. механизм токсического действия веществ может быть связан с нарушением свойств молекул переносчиков (атрактилозид - нарушает транспорт АТФ через мембрану митохондрий).

5.1. Активный транспорт

Активный транспорт - это процесс переноса химических веществ через биологическую мембрану против градиента его концентрации. Процесс всегда сопряжен с расходом энергии и протекает *in vivo* в одном направлении. Различают первичный и вторичный активный транспорт.

Первичный активный транспорт - это процесс, при котором энергия макроэргов (АТФ) непосредственно расходуется на перемещение молекулы или иона через мембрану. В молекулах эукариотов известны, по крайней мере, четыре типа таких процессов, известные, как ионные насосы: Na^+/K^+ АТФ-аза; Ca^{2+} АТФ-аза; H^+/K^+ АТФ-аза; H^+ АТФ-аза.

Вторичный активный транспорт состоит из двух структурно разделенных транспортных механизмов: первичной активно-транспортной системы, например транспорта Na^+ , нуждающейся в АТФ, и сопряженного процесса каталитической диффузии другого вещества в противоположном направлении, например транспорт сахаров или аминокислот.

5.2. Каталитическая (облегченная) диффузия

Отличие этого процесса от активного транспорта состоит в том, что перенос вещества через мембрану осуществляется по градиенту концентрации. После уравнивания концентрации вещества по обе стороны мембраны процесс транспорта прекращается. В отличие от простой диффузии, облегченная осуществляется с большей скоростью, для нее характерна насыщаемость и структурная специфичность.

Этот процесс также связан с расходом энергии. Процесс поступления глюкозы в эритроциты происходит по этому механизму.

5.3. Транспорт веществ путем образования мембранных везикул

Процесс транспорта веществ через мембраны путем образования везикул, содержащих эти вещества, называется цитозом. На основе данных гистологических исследований выделяют несколько видов цитоза (таблица 6): эндоцитоз, экзоцитоз, транцитоз, синцитоз, интрацитоз.

Таблица 6. Транспорт веществ путем цитозов

1. Эндоцитозы: захват вещества клеткой

1.1. Фагоцитоз: захват корпускулярных частиц

1.2. Пиноцитоз: захват капель жидкости и растворенных в ней молекул

1.3. Рецептор-обусловленный эндоцитоз: связывание макромолекул на специфических рецепторах клеточной мембраны с последующим образованием шероховатых везикул

2. Экзоцитозы: выделение веществ из клетки

2.1. Гранулокринная секреция: выделение везикул, содержащих клеточное вещество

2.2. Отпочковывание: выделение части цитоплазмы содержащихся в ней веществ путем краевого отделения части клетки

3. Транцитоз (цитопемзис): транспорт веществ через объем клетки

4. Синцитозы

4.1. Слияние клеток

4.2. Слияние клеток липидными везикулами, содержащими вещества

5. Интрацитоз: образование везикул и их слияние внутри клетки

Путем фагоцитоза клетка захватывает большие частицы или макромолекулярные комплексы. При контакте с клеточной мембраной объект начинает погружаться в клетку, пока полностью не захватывается ею. Отшнуровавшаяся от клеточной мембраны везикула, содержащая частицы, перемещается в цитоплазму. Размеры везикулы и содержащейся в ней частицы могут составлять несколько микрон. Таким способом, например, легочные макрофаги захватывают частицы водо-нерастворимых, чужеродных веществ (металлическая, угольная пыль и т.д.) попавшие в дыхательные пути.

Под пиноцитозом понимают захват клеткой капель жидкостей. Капли жидкости, с растворенными в ней веществами, окружаются клеточной мембраной; в результате образуются везикулы с диаметром около 0,1 мкм.

Рецептор-обусловленный эндоцитоз - высоко специфичный транспортный процесс. В качестве рецепторов к веществам выступают ассоциированные с мембранами гликопротеиды со специфичным участком связывания определенного лиганда, например белка. Вследствие специфичности взаимодействия появляется возможность из большого числа протеинов, находящихся в среде выбирать лишь отдельные и обеспечивать их транспорт даже в том случае, если их концентрация низка. Связывание вещества с рецептором побуждает мембрану к образованию везикулы, которая погружается в цитоплазму. После её взаимодействия с мембраной лизосом, везикула разрушается, а содержащийся в ней лиганд, выходит в цитоплазму. Рецептор, связанный с везикулой обратно встраивается в структуру клеточной мембраны, т.е. осуществляется рециркуляция рецептора. В норме путем рецептор-обусловленного эндоцитоза в клетку поступают гормоны (например, инсулин) и другие высокомолекулярные вещества, регулирующие её метаболизм, железо, в связанной с трансферинем форме и т.д. Этим же способом в клетку проникают некоторые токсины белковой природы, например тетанотоксин, ботулотоксин. Как полагают, в основе токсического действия ботулотоксина лежит его способность повреждать процесс взаимодействия синаптических везикул, содержащих ацетилхолин, с аксоном, что сопровождается нарушением экзоцитоза нейромедиатора. Токсин действует, попав внутрь нервного окончания, путем рецептор-обусловленного эндоцитоза.

Рецепторы эндоцитоза представляют собой сложные протеины, липофильная часть молекулы которых связана с липидной мембраной, а гидрофильные части обращены внутрь и наружу клетки. Так, рецепторы трансферина представляют собой гликопротеид с молекулярной массой около 180000 Д. Он состоит из двух практически идентичных полипептидных цепей, включающих около 800 аминокислот каждая. Эти цепи связаны дисульфидной связью. Рецепторы имеют высокое сродство к лиганду. Константа диссоциации равна 5 нМ. На поверхности клеток насчитывается до 50000 мест связывания трансферина.

Эндоцитоз представляет собой динамичный процесс. В течение одного часа клетка может путем рецептор-обусловленного эндоцитоза, фаго- и пиноцитоза обновить всю клеточную мембрану. Каким образом, не смотря на постоянное движение частей мембраны между различными органеллами, сохраняется её целостность, остается не известно.

ГЛАВА 4.2. РЕЗОРБЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Термином "резорбция" обозначают процесс проникновения вещества из окружающей среды или ограниченного объема внутренней среды организма в лимфо- и кровотоки. Действие вещества, развивающееся вслед за его резорбцией, называется резорбтивным (системным). Некоторые вещества оказывают действие на месте аппликации, главным образом на барьерные ткани: кожу, слизистые оболочки, не проникая в кровоток (процесс резорбции отсутствует). Такое действие называется местным. Многие токсиканты способны как к местному, так и резорбтивному действию.

В настоящее время известно, что подавляющее большинство веществ могут проникать в организм через один или несколько тканевых барьеров: кожные покровы, дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, хотя скорость резорбции при этом различна. В зависимости от того, какой из барьеров преодолевает вещество, говорят об ингаляционном, чрезкожном или пероральном пути поступления токсиканта в организм.

Путь проникновения вещества в организм во многом определяется его агрегатным состоянием, локализацией в элементах окружающей среды, площадью и свойствами "входных ворот" (таблица 1). Так, вещество в форме пара имеет очень высокую вероятность резорбироваться в дыхательных путях, но то же вещество, растворенное в воде, сможет попасть во внутренние среды организма преимущественно через желудочно-кишечный тракт и с меньшей вероятностью через кожу.

Таблица 1. Площадь "всасывающих" поверхностей тела человека (м²)

Кожа	1,2 - 2
Полость рта	0,02
Желудок	0,1 - 0,2
Тонкий кишечник	100
Толстый кишечник	0,5 - 1,0
Прямая кишка	0,04 - 0,07
Полость носа	0,01
Легкие	70

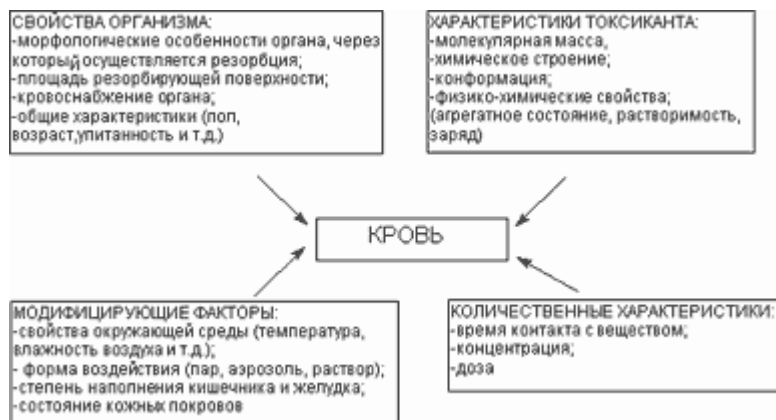
Способность многих химических веществ переходить из одного агрегатного состояния в другое и локализоваться вследствие этого в разных средах, порой затрудняет предсказание, каким будет основной способ резорбции токсиканта. Например, многие летучие вещества, способные действовать ингаляционно, вместе с тем растворяются и в воде и в продовольствии и, следовательно, могут действовать различными путями (боевые отравляющие вещества: иприт, люизит, зоман; металлы и их соединения и т.д.).

1. Факторы, влияющие на резорбцию

Скорость и характер резорбции веществ определяется рядом факторов (рисунок 1). Их можно отнести к одной из следующих групп:

- обусловленные особенностями организма;
- обусловленные количеством и свойствами апплицируемого вещества;
- обусловленные параметрами среды.

Из-за большого количества влияющих факторов характеристики резорбции конкретного токсиканта колеблются в широких пределах. Если возникает необходимость изучить влияние на процесс какого либо фактора, остальные необходимо строго контролировать, что порой бывает сложно выполнить при проведении исследования, как на человеке, так и экспериментальных животных.



(7,29кб, 554x307 GIF)

Рисунок 1. Факторы, влияющие на процессы резорбции

2. Резорбция через кожу

Площадь поверхности кожных покровов взрослого человека составляет в среднем 1,6 м². Анатомически кожа состоит из нескольких слоев (см раздел "Дерматотоксичность"). С позиций токсикокинетики особый интерес представляет поверхностный роговой слой эпидермиса, препятствующий резорбции многих чужеродных веществ.

Поверхностный слой кожи состоит из ороговевших эпидермоцитов. Его толщина равна 20 - 40 мкм, поверхность покрыта жировой смазкой. В роговом слое содержится 5 - 15% воды. При длительном контакте с водой или водосодержащими средами количество воды в роговом слое увеличивается до 50%, однако, в кровотоке вода не проникает. Расстояние, отделяющее роговой слой от капилляров дермального слоя составляет в среднем 0,2 - 0,4 мм. Кожа представляет собой электрически заряженную мембрану. Её наружная поверхность несет отрицательный заряд. В области роста волос, устьев сальных и потовых желез целостность рогового слоя нарушается. Здесь же вокруг волосяных фолликулов, сальных и потовых желез локализуется разветвленная сеть капилляров.

Кожа не просто пассивный барьер, отделяющий организм от окружающей среды. Здесь, в эпидермальном слое, осуществляется и метаболизм некоторых ксенобиотиков, хотя общая активность процессов не велика (2 - 6% от метаболической активности печени).

2.1. Способы резорбции

Проникновение веществ через кожу осуществляется тремя путями: через эпидермис, через сальные и потовые железы, через волосяные фолликулы. Для хорошо проникающих через кожу низкомолекулярных и липофильных соединений основным является трансэпидермальный путь, поскольку относительная суммарная площадь поверхности двух других путей мала и составляет менее 1% от общей площади поверхности кожи. Для веществ, медленно всасывающихся через кожные покровы, трансфолликулярный и трансгландулярный пути могут иметь существенное значение. Особенно в начальной стадии пенетрации отмечается значительное накопление липофильных ксенобиотиков в перифолликулярном и перигландулярном пространстве. Однако в дальнейшем прямое проникновение веществ через эпидермоциты приобретает первостепенное значение. Такие хорошо растворяющиеся в жирах вещества как сернистый и азотистый иприты проникают через кожу трансэпидермально.

При трансэпидермальном проникновении веществ возможно как прохождение их непосредственно через клетки, так и через межклеточные пространства.

При рассмотрении процесса прохождения веществ через кожу следует различать собственно резорбцию (проникновение веществ в кровь) и фиксацию токсикантов в кожных покровах.

В силу того, что многие токсиканты проникают через кожу чрезвычайно медленно, орган может выполнять функции своеобразного депо. Развивающиеся эффекты в этом случае формируются постепенно и по прошествии достаточно продолжительного скрытого периода.

2.2 Факторы, влияющие на скорость резорбции

Проникновение ксенобиотиков через кожу представляет собой процесс пассивной диффузии. До настоящего времени не зарегистрировано случаев активного трансдермального транспорта веществ. Резорбция веществ, умеренно растворимых в воде со средней массой молекулы, описывается уравнением Фика. На скорость резорбции влияют многочисленные факторы, среди которых важнейшие:

- площадь и локализация резорбирующей поверхности;
- интенсивность кровоснабжения кожи;
- свойства токсиканта.

При изучении в эксперименте резорбции веществ через кожу всегда сложной представляется задача выбора подходящего экспериментального животного. Кожа человека в наибольшей степени близка, по свойствам, коже приматов и свиньи.

2.2.1. Площадь и область резорбции

Количество вещества, проникающего через кожу, пропорционально площади контакта вещества и кожи. С увеличением площади, увеличивается и количество всасываемого вещества. При действии в форме аэрозоля площадь контакта апплицируемой массы ксенобиотика с кожей увеличивается с уменьшением диаметра частиц, поскольку объем частиц уменьшается пропорционально уменьшению третьей степени их радиуса, а площадь - второй ($V \propto r^3$; $S \propto r^2$).

Анатомическая локализация области контакта с веществом существенно влияет на скорость резорбции (таблица 2). Наибольшей способностью к резорбции обладает кожа мошонки и подмышечной впадины.

Таблица 2. Скорость проникновения паратиаона через кожу различных областей тела человека (% резорбированного вещества от нанесенного количества, за 5 суток)

Анатомическая область	Количество
Наружная поверхность предплечья	8,6
Волосистая часть головы	32,2
Ладонь	11,8
Коленная область	13,8
Живот	18,5
Тыл кисти	21,0
Лоб	36,3
Аксиллярная область	64,0
Мошонка	100

2.2.2. Кровоснабжение

Кровоснабжение кожи слабее многих других органов, например мышц. Площадь сосудистого русла, снабжающего кожу кровью 1 - 2 см² на 1 см², а скорость кровотока составляет около 0,05 мл/мин на 1 см². Вместе с тем скорость кровотока не является лимитирующим фактором проникновения веществ. При активации кровотока несколько усиливается резорбция лишь токсикантов, в принципе способных проникать через кожные покровы. В этой связи, действие таких факторов как раздражающие вещества, ультрафиолетовое облучение, температурное воздействие и т.д., сопровождающееся расширением сосудов, открытием анастомозов, усиливает резорбцию лишь некоторых токсикантов.

2.2.3. Свойства действующих веществ

На процесс резорбции в наибольшей степени влияют физико-химические свойства токсикантов и прежде всего способность растворяться в липидах (липофильность). Существует отчетливая корреляция между величиной коэффициента распределения в системе масло/вода и скоростью резорбции. Липофильные агенты (например, ФОС, иприты, хлорированные углеводы и др.) достаточно легко преодолевают кожный барьер. Гидрофильные агенты, и особенно заряженные молекулы, практически не проникают через кожу. В этой связи проницаемость барьера для слабых кислот и оснований существенно зависит от степени их диссоциации. Так, салициловая кислота и нейтральные молекулы алкалоидов способны к резорбции, однако анионы кислоты и катионы алкалоидов этим путем в организм не проникают. Вместе с тем проникновение в организм липофильных веществ, вообще не растворяющихся в воде, также невозможно: они депонируются в жировой смазке и эпидермисе и не захватываются кровью. Поэтому масла не пенетрируют через кожу.

Газы, такие как кислород, азот, диоксид углерода, сероводород, аммиак, гелий, водород - способны к кожной резорбции. На скорости процесса, прежде всего, сказывается их липофильность и концентрация в окружающей среде. Увеличение парциального давления газа в воздухе ускоряет его проникновение в организм, что может приводить к тяжелым интоксикациям. Так, для кроликов содержание H_2S в воздухе в концентрации 9,3% оказывается смертельным (ингаляционное воздействие исключено).

2.3.4. Экзогенные факторы

Повреждение рогового слоя эпидермиса и жировой смазки кожи (кератолитическими средствами, органическими растворителями) приводит к усилению резорбции токсикантов. Механическое повреждение кожи с образованием дефектов, особенно обширных, лишает её барьерных свойств.

Увлажненная кожа лучше всасывает токсиканты, чем сухая.

На скорость резорбции веществ, апплицируемых в виде эмульсий, растворов, мазей кроме факторов, перечисленных выше, существенное влияние оказывают свойства носителя (растворителя, эмульгатора, мазовой основы).

Параметры резорбции некоторых веществ через кожу человека представлены на таблице 3.

Таблица 3. Проникновение некоторых токсикантов в организм человека через кожу

Вещества	Место аппликации	Растворитель	Параметры пенитрации
Фенол	Накожная камера	Испарение	48%, 8ч
Фенол	Руки	Вода	23%, 1ч
Ацетат свинца	Лоб	Лосьон	0,3%, 48ч
Хром	Предплечие	Вода	23%, 1ч
Малатион	Предплечие	Ацетон	8%, 5 дней
Паратион	Предплечие	Ацетон	10%, 5 дней
Карбарил	Предплечие	Ацетон	74%, 5 дней
Алдрин	Предплечие	Ацетон	8%, 5 дней
2,4-Д	Предплечие	Ацетон	6%, 5 дней
Дикват	Предплечие	Ацетон	1%, 5 дней

3. Резорбция через слизистые оболочки

Слизистые оболочки, не зависимо от того, образованы они многослойным или однослойным эпителием, кубическими или плоскими клетками, лишены рогового слоя и жировой пленки на поверхности. Они покрыты водной, иногда с примесью слизи, пленкой. Их функция состоит в осуществлении обмена веществ между организмом и внешней средой. Эти отличия от кожи объясняют, почему многие вещества достаточно легко проникают через слизистые оболочки. Резорбтивная способность для слизистых разных анатомических областей близка, хотя структурные особенности организации и топография некоторых образований лежат в основе наблюдаемых различий.

Резорбция веществ через слизистые определяется главным образом следующими факторами:

- агрегатным состоянием вещества (газ, аэрозоль, взвесь, раствор);
- дозой и концентрацией токсиканта;
- видом слизистой оболочки, её толщиной;
- продолжительностью контакта;
- интенсивностью кровоснабжения анатомической структуры;
- дополнительными факторами (параметры среды, степень наполнения желудка и т.д.).

На таблице 4 представлены некоторые характеристики слизистых оболочек различных анатомических образований человека.

Таблица 4. Характеристика слизистых оболочек

Область	Тип эпителия	Площадь поверхности (м ²)	Время контакта с веществом
Полость рта	Многослойный плоскоклеточный	0,02	произвольное
Желудок	Однослойный цилиндрический	0,1 - 0,2	минуты - часы
Тонкая кишка	Однослойный цилиндрический ворсинчатый	100	часы
Толстая кишка	Однослойный цилиндрический складчатый	0,5 - 1,0	часы
Прямая	Однослойный	0,04 - 0,07	часы

кишка	цилиндрический; однослойный плоскоклеточный; многослойный плоскоклеточный		
Полость носа	Многослойный мерцательный	0,01	определяется продолжительностью экспозиции
Бронхи и альвеолы	Однослойный цилиндрический; однослойный плоскоклеточный	70	определяется продолжительностью экспозиции

Большая площадь поверхность, малая толщина слизистых и хорошее кровоснабжение делают наиболее вероятным проникновение веществ через органы дыхания и стенку тонкой кишки. Однако пенетрация ксенобиотиков возможна через слизистые и других анатомических образований.

3.1. Резорбция в ротовой полости

Многие токсиканты достаточно быстро всасываются уже в ротовой полости. Эпителий полости рта не представляет собой значительной преграды на пути ксенобиотиков. В резорбции участвуют все отделы ротовой полости. Хотя площадь поверхности не велика, однако слизистая здесь хорошо снабжается кровью. Поскольку pH слюны лежит в диапазоне 6,6 - 6,9, то есть незначительно отличается от pH крови, эта характеристика мало сказывается на процессе резорбции ксенобиотиков - слабых электролитов (кислот и оснований).

Проникать через слизистые могут лишь вещества, находящиеся в полости рта в молекулярной форме. Поэтому растворы лучше резорбируются, чем взвеси. Раствор обволакивает всю поверхность ротовой полости, покрывая слизистую пленкой. Взвеси плохо растворимых веществ во-первых имеют меньшую площадь контакта с поверхностью слизистой, во-вторых большая часть вещества находится в агрегатном состоянии, препятствующем резорбции.

Оттекающая от слизистой полости рта кровь поступает в верхнюю полую вену и потому всосавшееся вещество попадает непосредственно в сердце, малый круг кровообращения, а затем и общий кровоток. В отличие от других способов проникновения через слизистые желудочно-кишечного тракта, при резорбции в ротовой полости, всосавшиеся токсиканты распределяются в организме минуя печень, что сказывается на биологической активности быстро метаболизирующих соединений.

3.2. Резорбция в желудке

В целом ксенобиотики плохо всасываются в желудке, хотя его слизистая оболочка мало отличается от слизистой других отделов желудочно-кишечного тракта. В основе резорбции лежит механизм простой диффузии. Специальные переносчики ксенобиотиков в слизистой не обнаружены. Фактором, определяющим особенности желудка, как органа резорбции, является кислотность желудочного содержимого. Как и для пенетрации через другие биологические барьеры скорость процесса в значительной степени определяется коэффициентом распределения веществ в системе масло/вода. Жирорастворимые (или растворимые в неполярных органических растворителях) соединения достаточно легко проникают через слизистую желудка в кровь (таблица 5).

Таблица 5. Резорбция некоторых производных барбитуровой кислоты в желудке

Вещество	pK _a	Коэффициент распределения		% резорбции из 0,1 М р-ра HCl
		хлороформ/вода	гептан/вода	
Барбитал	7,8	0,7	0,001	4
Секобарбитал	7,9	23,3	0,10	30
Тиопентал	7,6	100	3,3	46

Алкалоиды (морфин, атропин и др.) резорбируются здесь лишь в следовых количествах.

3.2.1. Растворимость в жирах и pH

Особенностью резорбции в желудке является то, что она осуществляется из среды с низким значением pH. В этой связи эпителий слизистой формирует своего рода липидный барьер между водными фазами: кислой (кислотность желудочного сока примерно равна 1,0) и щелочной (pH крови равен 7,4). Этот барьер токсиканты могут преодолеть лишь в форме незаряженных молекул. Многие соединения не способны к диссоциации в водных растворах (неэлектролиты), их молекулы не несут заряда, и они легко проходят через слизистую желудка (дихлорэтан, четыреххлористый углерод и т.д.). Сильные кислоты и щелочи (серная, соляная, азотная кислоты, NaOH, KOH) в любом растворе полностью диссоциированы и потому переходят в кровь лишь в случае разрушения слизистой оболочки (химический ожог).

Для веществ - слабых кислот и слабых оснований большое значение имеет величина pK_a, определяющая, какая часть растворенного вещества будет находиться в ионизированной и неионизированной форме при данных значениях pH среды.

Для слабых кислот кислая среда способствует превращению вещества в неионизированную форму, для слабых оснований низкие значения pH (высокие концентрации водородных ионов в среде) способствует превращению веществ в ионизированную форму.

Поскольку неионизированные молекулы более липофильны они легче проникают через биологический барьер. Поэтому в желудке лучше абсорбируются слабые кислоты.

Так, pK_a синильной кислоты составляет 9,2. Это означает, что при pH 9,2 около 50% молекул HCN находится в диссоциированной форме (ион CN⁻). Если pH смещается в кислую сторону, то большая часть, или даже практически все молекулы, переходят в форму недиссоциированного соединения, хорошо растворяющегося в липидах. Поэтому слизистая желудка практически не является барьером для синильной

кислоты, а прием цианидов через рот сопровождается быстрым превращением их в кислоту и немедленной резорбцией.

Алкалоид стрихнин, практически полностью ионизирован в кислой среде желудка и потому, при пероральном введении, интоксикация этим веществом у экспериментальных животных не наблюдается, если желудочно-кишечный тракт лигирован между желудком и кишкой.

3.2.2. Растворимость в воде

Необходимым условие резорбции вещества в желудке является его растворимость в желудочном соке. Потому практически не растворимые в воде вещества, даже в случае высокой растворимости в жирах, здесь не всасываются (дикумарол).

Взвеси химических соединений перед всасыванием должны перейти в раствор. Поскольку время нахождения в желудке ограничено взвеси действуют слабее, чем растворы того же вещества.

3.2.3. Содержимое желудка

Если токсикант поступает в желудок с пищей, то возможно взаимодействие с её компонентами: растворение в жирах и воде, абсорбция белками и т.д. Поскольку градиент концентрации ксенобиотика при этом снижается, уменьшается и скорость диффузии в кровь. Хорошо известно, что резорбция алкоголя в желудке значительно замедляется при приеме с жирной пищей. Из пустого желудка вещества всасываются лучше чем из наполненного. Однако, поскольку прием пищи сопровождается изменением pH содержимого и увеличением времени эвакуации из желудка, порой может наблюдаться и увеличение степени резорбции некоторых ксенобиотиков.

3.3. Резорбция в кишечнике

Кишечник, в силу особенностей строения, является одним из основных мест всасывания химических веществ (таблица 6).

Таблица 6. Некоторые характеристики слизистой тонкой кишки человека

Структуры	Количественные характеристики	Площадь поверхности (м ²)
Тонкая кишка	Длина - 4000 мм Диаметр - 25 мм	0,3
Складки слизистой	Высота - 8 мм Количество - 650	1,0
Крипты	Высота - 1 мм Диаметр - 0,16 мм Количество 10 млн	6,0
Ворсинки	Высота - 1 мкм Диаметр - 0,1 мкм Количество - $3 \cdot 10^{14}$	100

Перистальтика кишечника обеспечивает перемешивание содержимого, вследствие чего поддерживается высокая концентрация веществ на границе контакта гомуса с клетками слизистой оболочки.

Молекулы-субстраты обмена веществ и структурные элементы живого (глюкоза, аминокислоты, электролиты, нуклеотиды и т.д.) резорбируются в кишечнике посредством активного транспорта. Ксенобиотики - структурные аналоги этих молекул, например 5-фторурацил, ксилит, аналоги аминокислот и т.д., также могут поступать в организм с помощью этих механизмов. Таким же способом пенетрируют гликозиды, среди которых немало высокотоксичных веществ (амигдалин, дигитоксин, буфотоксин и др.). Однако основным является механизм пассивной диффузии веществ через эпителий.

Пассивная диффузия в кишечнике - дозо-зависимый процесс. При увеличении содержания токсиканта в кишке увеличивается и скорость его всасывания, но при сохранении процента всосавшегося вещества (таблица 7).

Таблица 7. Резорбция анилина в кишечнике крысы

Концентрация анилина в кишке (мМ)	Резорбция (% от введенного количества)
0,1	58
1,0	54
10,0	59
20,0	54

(L.S. Schanker et al, 1958)

Для большинства ксенобиотиков не существует насыщающей концентрации процесса. Резорбция обусловлена не только проникновением через липидные мембраны незаряженных молекул. В незначительном количестве через слизистые кишечника проникают ионы слабых кислот и оснований. Этот поток ксенобиотиков, вероятно обусловлен диффузией через поры. Соотношение объемов пенетрации незаряженных и заряженных молекул одного и того же вещества неодинаково и зависит от его строения. Так, для амидопирин оно составляет 11 : 1; для салициловой кислоты - 6 : 1. Некоторые токсиканты (паракват, дикват) и антитоксиканты (d-пеницилламин) абсорбируются в кишечнике в достаточном количестве, хотя действуют в ионизированной форме. Квота резорбции некоторых сильных оснований составляет 10 - 20 %, что плохо объяснимо с позиций простой диффузии через биологический барьер. Имеются данные о сопряжении процессов резорбции в кишечнике ксенобиотиков и воды.

В целом резорбция веществ в кишечнике подчиняется тем же законам, что и в желудке, хотя имеются существенные особенности.

3.3.1. Значение pK_a

Как правило, сильные кислоты и основания не резорбируются в кишечнике. Всасывание полностью ионизированных молекул, например миорелаксантов, ганглиоблокаторов и многих других соединений,

содержащих четвертичный азот в молекуле, затруднено. Пенетрация слабых кислот и оснований зависит от величины их pK_a (см. выше). При этом абсорбционная поверхность слизистой кишки (установлено в экспериментах на грызунах) ведет себя так, как если бы её pH составлял 5,3, хотя при измерениях установлено, что кислотность содержимого тонкого кишечника равна 6,5, толстого - 6,8.

3.3.2. Коэффициент распределения в системе масло/вода

Скорость диффузии веществ через слизистую оболочку тонкой кишки пропорциональна величине коэффициента распределения в системе масло/вода. Вещества нерастворимые в липидах, даже в форме незаряженных молекул не проникают через слизистую кишечника. Так, ксилоза - низкомолекулярное соединение, относящееся к группе неэлектролитов, но нерастворимое в липидах, практически не поступает во внутренние среды организма при приеме через рот. Некоторые ксенобиотики хорошо растворяющиеся в жирах, тем не менее также плохо резорбируются в кишечнике. В этих случаях, как правило, выявляется их чрезвычайно низкая растворимость в воде.

3.3.3. Размеры молекулы

Проникновение веществ через слизистую оболочку существенно зависит от размеров молекул. Как правило, с увеличением молекулярной массы проникновение соединений через слизистую уменьшается. Например, инулин, манитол медленнее всасываются, чем низкомолекулярные спирты. Некоторые высокомолекулярные жирорастворимые вещества, хуже пенетрируют в кишке, чем низкомолекулярные водо-растворимые (например, мочевины). Однако в кишечнике новорожденных млекопитающих (крысы, поросята и т.д.) отмечается резорбция даже высокомолекулярных соединений, таких как поливинилпирролидон (МВ 160000), инсулин, антитела.

3.3.4. Заряд молекулы

Всасывание ионов зависит от их строения и величины заряда. В то время как одновалентные ионы (Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , Na^+ , K^+ , TI^+) легко проникают через слизистую, для ионов с большим зарядом (Mg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , SO_4^{2-}) этот процесс затруднен. Исключение составляют ионы кальция. У человека квота резорбции иона составляет около 30% при поступлении в количестве около 1 г в сутки. Трехвалентные ионы вообще не резорбируются в кишечнике.

3.3.5. Отделы кишечника

Все отделы кишечника принимают участие в резорбции ксенобиотиков. С наивысшей скоростью всасывание происходит в тонкой кишке. В среднем период "полувсасывания" веществ у крысы составляет около 5 минут. Для веществ, поступающих через рот, время пребывания их в желудке в целом отсрочивает резорбцию, поэтому скорость перехода веществ из желудка в двенадцатиперстную кишку имеет решающее значение. Холодные растворы быстрее покидают желудок. В этой связи холодные растворы токсикантов порой оказываются более токсичными, чем теплые.

Резорбция в толстой кишке происходит сравнительно медленно. Этому способствует не только меньшая площадь поверхности слизистой этого отдела, но и, как правило, более низкая, в сравнении с вышележащими отделами, концентрация токсикантов в просвете кишки.

3.3.6. Кровоснабжение

Кишечник хорошо кровоснабжаемый орган. Вещества, проникающие через слизистую оболочку, быстро уносятся оттекающей кровью, поэтому скорость кровотока здесь не является фактором, лимитирующим процесс резорбции.

3.3.7. Содержимое кишечника

Потребленная пища модифицирует всасывание токсикантов в кишечнике. Содержимое кишки может выступать в качестве инертного наполнителя, в который включено вещество и из которого замедляется его резорбция, при этом квота всасываемого вещества в целом остается неизменной.

Желчные кислоты, обладая свойствами эмульгаторов, способствуют всасыванию жиров, однако, усиливают ли они резорбцию жирорастворимых ксенобиотиков остается неизвестным. Установлено, что проникновение в кровь из кишечника красителя фенолрот ускоряется при одновременном назначении дезоксихолевой кислоты. Не исключено, что желчные кислоты влияют и на резорбцию электролитов.

Микрофлора кишечника может вызвать химическую модификацию молекул токсикантов. Так, у человека описана способность лактобактерий, энтерококков, клостридий кишечника вызывать деметилирование метамфетамина. Некоторое токсикологическое значение может иметь инициируемый кишечной флорой процесс восстановления нитратов до нитритов особенно у грудных детей. Образующиеся ионы NO_2^- проникают в кровь и вызывают образование метгемоглобина с соответствующими пагубными последствиями.

E. coli содержит ферменты, имеющие значение для судьбы токсикантов в организме. Так, под влиянием этих энзимов, в кишечнике возможно расщепление глюкуронидов. Конъюгаты ксенобиотиков с глюкуроновой кислотой (конечные метаболиты веществ, выделяющиеся в кишечник с желчью) - плохо растворимые в жирах и хорошо растворимые в воде соединения, в связи с чем резорбция их в кишечнике затруднена. После отщепления глюкуроновой кислоты липофильность отделившихся молекул существенно возрастает, и они приобретают способность к обратной резорбции в кровоток. Это явление может лежать в основе феномена печеночно-кишечной циркуляции токсиканта.

3.4. Резорбция в легких

Легкие - орган, предназначенный для осуществления обмена веществ, в частности жизненно важными газами, между организмом и окружающей средой. Помимо вдыхаемого O_2 и другие вещества, находящиеся в форме газа или пара, могут легко проникать через легкие в кровоток. Для этого токсикант должен преодолеть лишь тонкий капиллярно-альвеолярный барьер. Благоприятным условием всасывания веществ является также большая площадь поверхности легких, составляющая у человека в среднем 70 м^2 . Процесс диффузии кислорода через альвеолярно-капиллярный барьер можно описать уравнением:

$$D_M = \alpha \cdot D_p \cdot 1/2 (S_A + S_C) \cdot \tau_n^{-1}, \text{ где}$$

D_M - скорость диффузии (мл/мин);

α - абсорбционный коэффициент Бунзена;

D_p - коэффициент диффузии кислорода;

S_A - площадь поверхности легочного эпителия;

S_C - площадь поверхности эндотелия альвеолярно-капиллярного барьера;

τ_n - средняя эффективная толщина альвеолярно-капиллярного барьера.

Для организма человека эти характеристики в среднем составляют: S_A - 77 м²; S_C - 70 м²; τ_n - 0,5 - 0,7 мкм. При подстановке в уравнение величин α и D_p для плазмы крови получаем диффузионную способность легких для кислорода $D_M = 3,9$ мл/мин.

Продвижение газов по дыхательным путям сопряжено с их частичной адсорбцией на поверхности трахеи и бронхов. Сайт депонирования ингалируемых газов определяется степенью их растворимости в тонком слое жидкости, выстилающей слизистую дыхательных путей и альвеолярный эпителий. Чем хуже растворяется вещество в воде, тем глубже проникает оно в легкие (таблица 8).

Таблица 8. Захват паров химических веществ слизистой трахеи кролика (*in vitro*). (По данным V. Fiserova-Bergerova, 1985)

Вещество	Степень захвата (%)*
Метилен хлорид	2,5
Галотан	6,7
Фреон-12	6,9
Трихлорэтилен	8,3
Толуол	10,6
Этиленоксид	13,9
Стирол	17,6
Этил ацетат	17,7
Ацетон	21,9
Амиловый спирт	41,1
Ацетил ацетон	45,8
Бутанол	48,2
Пропанол	54,0
Этанол	58,2
Диоксан	59,5
Метанол	68,6

* Степень захвата (P) рассчитывали как разницу входящей и выходящей из трахеи концентраций (C) газов:

$$P = \frac{\Delta C}{C_{\text{вх}}} 100 \%$$

Ингаляционно в организм могут поступать не только газы и пары, но и аэрозоли, которые также достаточно быстро могут всасываться в кровь. В таблице 9 представлена сравнительная способность некоторых веществ резорбироваться в легких крыс при интратрахеальном введении в форме аэрозоля.

Таблица 9. Легочная резорбция различных типов химических веществ после интратрахеального введения крысам (t_{50} - время, необходимое для резорбции 50% введенного вещества)

Соединения	Молекулярная масса	t_{50} (мин)
Нерастворимые в жирах вещества:		
-манитол	182	65
-сахароза	342	87
-инулин	5000	225
-декстран	75000	1670
Нейтральные молекулы:		
-сульфизоксазол	267	3
-мочевина	60	4
-эритритол	122	33
-этамбутол	204	38
Слабые кислоты:		
-салициловая кислота	138	1
-фенобарбитал	232	1
-р-ацетиламингиппуровая кислота	236	70
-бензилпенициллин	667	36
Слабые основания:		
-эритромицин	734	13
-сульфагуанидин	232	44
-тетраэтиламмоний	130	65

3.4.1. Резорбция газов

Если человек или экспериментальное животное в течение определенного времени вдыхает воздух, содержащий некое вещество в постоянной концентрации (например, 4% эфир), то процесс его проникновения и распределения в организме может быть представлен в виде нескольких последовательных этапов (рисунок 2).

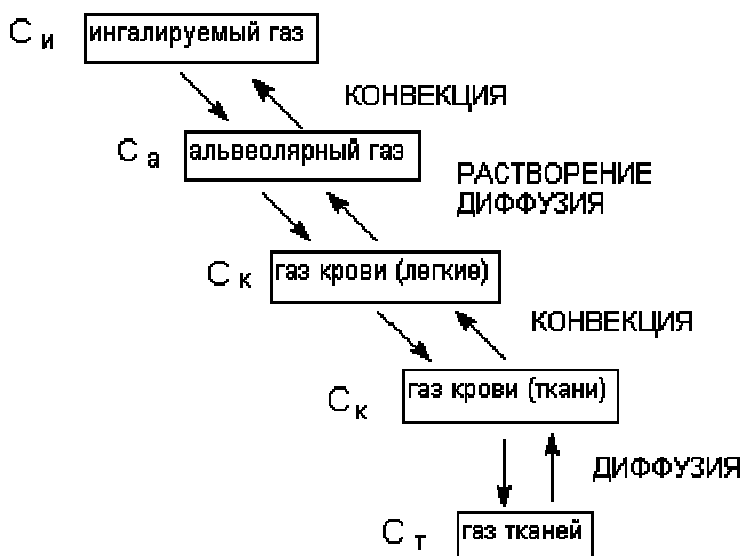


Рисунок 2. Процесс проникновения и распространения газов в организме

В конечном итоге в тканях (в частности в ЦНС) аккумулируется определенная концентрация токсиканта, при которой формируется токсический процесс соответствующей степени тяжести (оглушенность, наркоз, кома). При достижении состояния равновесия в системе продолжение ингаляции газа (пара) в прежней концентрации не приведет к увеличению содержания ксенобиотика в тканях.

3.4.1.1. Вентиляция легких

Для резорбции вдыхаемый газ должен вступить в контакт с альвеолярной поверхностью легких. Альвеолы расположены глубоко в легочной ткани, поэтому путем простой диффузии газ не сможет быстро преодолеть расстояние от полости носа или ротового отверстия до стенок альвеол. У человека и других позвоночных, дышащих легкими, имеется механизм, с помощью которого осуществляется механическое перемешивание (конвекция) газов в дыхательных путях и легких и обеспечивается постоянный обмен газами между внешней средой и организмом. Этот механизм - вентиляции легких - последовательно сменяющие друг друга акты вдоха и выдоха.

При нормальной частоте и глубине дыхания легочная вентиляция достаточна для того, чтобы альвеолярную концентрацию газа (C_a) в течение 2 минут от значения 0 довести до значения 0,95 $C_{и}$, то есть 95% от концентрации в ингалируемом воздухе.

Таким образом, вентиляция обеспечивает очень быструю доставку газа из окружающей среды к поверхности альвеолярных мембран. Посредством сознательного или бессознательного усиления или ослабления вентиляции возможно многократное уменьшение или увеличение времени "уравнивания концентраций". Одновременно с вентиляцией легких осуществляются и другие процессы: растворение газа в стенке альвеолы, диффузия газа в кровь, конвекция в кровяном русле, диффузия в ткани. Вследствие этого динамическое равновесие в системе распределения газов в воздухе, крови и тканях устанавливается лишь спустя некоторое время.

В тот момент, когда парциальное давление газа в окружающем, а затем и альвеолярном воздухе становится ниже, чем в крови (пострадавшего выносят из зоны заражения), процесс меняет направление и газ из организма устремляется в просвет альвеол и во внешнюю среду. С помощью форсированной вентиляции легких можно обеспечить быстрое снижение концентрации газообразного вещества в циркулирующей крови (и тканях). Эту возможность используют в токсикологии при оказании помощи отравленным некоторыми газообразными или летучими веществами, предлагая пострадавшим ингалировать карбоген (воздух с повышенным содержанием CO_2), стимулирующий вентиляцию.

3.4.1.2. Поступление в кровь

Переход газа из альвеолы в кровоток осуществляется посредством диффузии. При этом молекула соединения переходит из газообразной среды в жидкую фазу. В этой связи поступление вещества зависит от следующих факторов:

1. Растворимости газа в крови;
2. Градиента концентрации газа между альвеолярным воздухом и кровью;
3. Интенсивности кровотока;
4. Состояния легочной ткани.

1. Растворимость веществ в крови отличается от растворимости в воде и порой существенно. Это связано с наличием растворенных в плазме крови её составных частей (соли, липиды, углеводы, белки) и форменных элементов (лейкоциты, эритроциты). Сравнительная характеристика растворимости некоторых неэлектролитов в различных средах представлена на таблице 10.

Таблица 10. Коэффициенты распределения некоторых неэлектролитов ($t = 37^\circ C$; $P = 101,3$ кПа)

Вещество	Кровь/Газ	Вода/газ	Масло/газ
Этилен	0,140	0,081	1,28
Циклопропан	0,415	0,204	11,2
Галотан	2,35	0,74	224
Дивиниловый эфир	2,80	1,40	58
Трихлорэтилен	9,15	1,55	960

Хлороформ	10,3	3,8	265
Диэтиловый эфир	15,2	15,6	50,2

(Н. Killian, Н. Weese, 1964)

Растворимость газов в жидкостях зависит от температуры. Зависимость эта различна для различных газов и растворителей, тем не менее, как правило, растворимость понижается при повышении температуры.

Состояние равновесия между кровью и газом при прочих равных условиях устанавливается тем быстрее, чем с большей скоростью растворяется газ.

2. Количество газа, растворенного в жидкости, всегда пропорционально величине парциального давления газа (закон Генри).

В качестве примера можно привести данные, получаемые при воздействии веселящего газа (N_2O). Этот газ применяется для наркоза в смеси с кислородом (20% объемных O_2 и 80% N_2O).

При этих условиях и температуре тела складываются следующие характеристики содержания газа в организме:

Концентрация газа	(Объемные проценты)	80
Парциальное давление	кПа	81
Растворено в 1 л крови	литров	0,374
	мМоль	16,6
Концентрация в крови	грамм	0,736
	г/л	0,736

Таким образом, состояние равновесия в системе: вдыхаемая смесь/ткани, устанавливается при содержании N_2O в крови 0,736 г/л. Продолжение ингаляции газа в данной концентрации не приведет к дальнейшему росту его содержания в крови. Время, в течение которого в крови устанавливается такая концентрация токсиканта, может быть существенно уменьшено при увеличении парциального давления газа во вдыхаемом воздухе.

3. В процессе резорбции газов в кровь большую роль играет интенсивность легочного кровотока. Она идентична минутному объему сердечного выброса. Чем выше минутный объем, тем больше крови в единицу времени попадает в альвеолярные капилляры, тем больше газа уносится оттекающей от легких кровью и переносится к тканям, тем быстрее устанавливается равновесие в системе распределения газа между средой и тканями.

4. Стенка капилляра в норме не представляет собой существенного препятствия для диффундирующих газов. Только в патологически измененных легких (отек легких, клеточная инфильтрация альвеолярно-капиллярного барьера) проникновение газов в кровь затруднено. Уменьшение числа капилляров в легких (эмфизема) - другое патологическое состояние, затрудняющее поступление газа в организм.

3.4.1.3. Переход газов в ткани

Кровь, насыщенная газом в легких, распространяется по организму. Вследствие более высокого содержания в крови, молекулы газа диффундируют в ткани. Кровь, освободившаяся от газа, возвращается к легким. Этот процесс повторяется до тех пор, пока парциальное давление газа в тканях не выровняется с давлением в крови, а давление в крови не станет равным давлению в альвеолярном воздухе (состояние равновесия). В этот момент распределение вещества в организме может быть охарактеризовано значениями коэффициентов распределения (таблица 11).

Таблица 11. Коэффициенты распределения трихлорэтилена в тканях крысы и человека

	Коэффициент распределения
Крыса:	
Кровь - воздух	25,8
Легкие - кровь	1,0
Сердце - кровь	1,1
Почки - кровь	1,6
Печень - кровь	1,7
Мозг - кровь	1,3
Тестис - кровь	0,7
Селезенка - кровь	1,2
Мышцы - кровь	0,6
Жир - кровь	25,6
Человек:	
Кровь - воздух	9,5
Жир - кровь	68

Диффузия газов в ткани определяется следующими факторами:

1. Растворимостью газов в тканях;
2. Разницей концентраций газа в крови и тканях;
3. Интенсивностью кровоснабжения тканей.

3.4.2. Резорбция аэрозолей

Аэрозоль - это смесь фаз. Смесь газовой фазы и мельчайших частиц жидкости называется туманом. Смесь газовой фазы и мельчайших твердых частиц - дымом. При ингаляции аэрозолей глубина их проникновения в дыхательные пути зависит от размера частиц. Обычно размеры частиц в аэрозоли колеблются от 0,5 до 15 мкм и зависят от концентрации распыленного в воздухе вещества: чем выше

концентрация, тем крупнее частицы. С помощью специальных устройств можно создать микродисперсные аэрозоли, размеры частиц в которых не превышают 0,5 мкм. Глубокому проникновению частиц в дыхательные пути препятствует их выседание на слизистые оболочки (седиментация). Крупные частицы накапливаются на слизистой верхних отделов дыхательных путей, частицы среднего диаметра - в более глубоких отделах, и, наконец, мельчайшие частицы могут достичь поверхности альвеол. Седиментации крупных частиц способствуют анатомические особенности органов дыхания. У больших частиц скорость движения в струе воздуха и инерционность больше, чем у мелких, поэтому при каждом изгибе воздухоносных путей они сталкиваются с встречающимися на их пути поверхностями и выседают на них.

Пенетрация в кровь осуществляется в соответствии с физико-химическими законами. Эпителий дыхательного тракта и стенки капиллярного русла обладают проницаемостью пористой мембраны. Жирорастворимые вещества резорбируются быстро, растворимые преимущественно в воде - в зависимости от размеров их молекул. Состояние насыщения проникновения веществ через альвеоларно-капиллярный барьер не наступает. Следует отметить, что через барьер проникают даже крупные белковые молекулы, например инсулина, ботулотоксина и т.д.

Квота резорбции вещества в легких является функцией количества, сорбировавшегося на дыхательной поверхности легких. Количество же сорбировавшегося вещества есть функция количества частиц в единице объема ингалируемого воздуха, размера частиц, глубины и частоты дыхания. У здорового человека задержка аэрозоля в дыхательных путях составляет около 70 - 75%. При постоянной частоте дыхания 7 в минуту, увеличение глубины дыхания на 1000 мл увеличивает задержку аэрозоля до 87%, на 2000 мл - до 93%. Изменение частоты дыхания в меньшей степени сказывается на задержке аэрозоля. Особое значение имеет продолжительность пребывания аэрозоля в дыхательных путях. С увеличением этого времени увеличивается и задержка аэрозоля в легких. Большие частицы более подвержены седиментации и потому лучше задерживаются в легких, однако мелкие частицы, проникают в более глубокие отделы легких, где лучшие условия для всасывания. Аэрозоль с диаметром частиц менее 1 мкм плохо адсорбируется на альвеоларном эпителии и потому в большом количестве выводится с выдыхаемым воздухом.

3.5. Резорбция слизистыми глаз

Проникновение токсикантов через слизистую глаз подчиняется общим закономерностям (см. выше). Прежде всего скорость процесса определяется физико-химическими свойствами вещества (растворимостью в липидах и воде, зарядом молекулы, значением pK_a , размерами молекулы). Липидный барьер роговицы глаза представляет собой тонкую структуру многослойного плоского эпителия, покрытого снаружи роговым слоем. Через барьер легко проникают жирорастворимые вещества и даже растворимые преимущественно в воде соединения. При попадании токсиканта на роговицу большая его часть смывается слезой и распространяется по поверхности склеры и конъюнктивы глаз. Исследования показывают, что около 50% нанесенного на роговицу вещества удаляется в течение 30 секунд, и более 85% - в течение 3 - 6 мин. При нанесении на роговицу глаза кролика пропранолола содержание вещества в различных структурах глаза снижается в ряду: роговица; радужка; жидкость камер глаза; хрусталик.

4. Резорбция из тканей

При действии веществ на раневые поверхности или введении в ткань (например, подкожно или внутримышечно) с помощью специальных устройств, возможно их поступление либо непосредственно в кровь, либо сначала в ткани, а уже затем в кровь. При этом в ткань могут проникать высокомолекулярные (белковые), водо-растворимые и даже ионизированные молекулы. Создающийся градиент концентрации токсиканта между местом аппликации, окружающей тканью и кровью является движущей силой процесса резорбции вещества в кровь и внутренние среды организма. Скорость резорбции определяется свойствами тканей и ксенобиотиков.

4.1. Свойства тканей

4.1.1. Стенка капилляра

Стенка капилляра представляет собой пористую мембрану. Её толщина в различных тканях колеблется от 0,1 до 1,0 мкм. Для капилляров большинства тканей человека характерны поры диаметром, в среднем, около 2 нм. Площадь поверхности, занимаемая порами, составляет около 0,1% общей площади капиллярного русла. Поры представляют собой промежутки между эндотелиальными клетками. Наличие пор делает мембрану капилляра проницаемой для водо-растворимых веществ. Так, проницаемость клеточных мембран различных тканей для воды составляет 0,3 - 3,0 мкм³/(мин атм мкм²), а стенки капилляра - 370 мкм³. Полагают, что в капиллярах в очень ограниченном количестве встречаются поры и с большим диаметром (до 80 нм). Кроме того, возможен перенос веществ через стенку капилляра с помощью механизма пиноцитоза.

Стенки капилляров мышц млекопитающих имеют поры диаметром 3 - 4 нм, поэтому они не проницаемы для гемоглобина ($r = 3,2$ нм) и сывороточных альбуминов ($r = 3,5$ нм), но проницаемы для таких веществ как инулин ($r = 1,5$ нм) и миоглобин ($r = 2$ нм). В этой связи проникновение очень многих ксенобиотиков в кровь вполне возможно при их введении в мышцы.

4.1.2. Капиллярная и лимфатическая система

Сеть капилляров и лимфатических сосудов хорошо развита в подкожной клетчатке и в межмышечной соединительной ткани. Площадь поверхности капиллярного русла в определенном объеме тканей оценивается по-разному, для мышц величина составляет 7000 - 80000 см²/100 г ткани. По расчетам объем капиллярного русла в тканях не превышает 4%. Степень развития капиллярной сети лимитирует скорость резорбции ксенобиотика в ткани. Время пребывания крови в капиллярах в процессе кровообращения составляет, примерно, 25 сек, в то время как оборот объема циркулирующей крови реализуется за 1 минуту. Этим объясняют, почему степень резорбции вещества из ткани в кровь пропорциональна степени вазкуляризации тканей. Резорбция веществ из подкожной клетчатки в основном осуществляется через капилляры и в значительно меньшей степени через лимфатические сосуды.

4.1.3. Кровоснабжение

Абсолютное количество капилляров на единицу объема тканей представляет собой лишь условную меру отражающую степень их кровоснабжения. Большое значение имеет процент раскрытых, функционирующих капилляров, а также величина давления крови в тканях. Интенсивность кровотока зависит от сердечной деятельности, а в тканях регулируется вазоактивными факторами. Такие эндогенные регуляторы, как адреналин, норадреналин, ацетилхолин, серотонин, оксид азота, эндотелий-зависимые релаксирующие факторы, простагландины и т.д. существенно влияют на скорость кровотока в ткани и, следовательно, процесс резорбции ксенобиотиков.

Охлаждение конечности вызывает замедление в ней кровотока, нагревание - ускорение.

4.2. Свойства токсиканта

Как указывалось, поры капилляров имеют диаметр 3 - 4 нм. Поэтому через них могут проникать большие водорастворимые молекулы. Даже такие макромолекулы как инсулин (МВ 5733), тетанотоксин, ботулотоксин всасываются в тканях. Молекулярная масса большинства известных высокотоксичных веществ составляет около 100 - 500 Д. Поэтому их пенетрация через стенки капилляров не лимитирована диаметром пор. Подсчитано, что диффузионная возможность капилляров для низкомолекулярных веществ в 40 - 120 раз превышает их предельную концентрацию в плазме крови. В этой связи многие токсичные ксенобиотики легко всасываются в кровь при непосредственном введении их в ткани (подкожно или внутримышечно). К числу таковых относятся давно известные человеку стрелные яды, использовавшиеся еще доисторическим человеком для охоты, содержавшие курарин, строфантин, буфотоксины и т.д.

Высокомолекулярное вещество инулин (МВ 5500) используют в эксперименте для изучения закономерностей резорбции веществ в тканях. Так, установлены известные ограничения проникновения веществ через стенку капилляров мышц. При диаметре молекулы, равном 1/5 диаметра поры скорость диффузии веществ через капилляр составляет около 50% расчетной.

Жирорастворимые соединения хорошо резорбируются в тканях, поскольку клетки эндотелия не являются для них барьером и, следовательно, поверхность всасывания для них примерно в 1000 раз больше, чем для водорастворимых веществ, проникающих в кровяное русло исключительно через поры.

5. Квота резорбции

Для количественной характеристики способности веществ проникать в организм тем или иным путем, используют разные подходы. В эксперименте проблема может быть решена путем умерщвления животных в различные периоды времени после введения токсиканта тем или иным способом и определения его содержания в различных органах и тканях. Возможно определение суммарного количества вещества и его метаболитов в моче и кале за некоторый промежуток времени и соотношение полученного результата с количеством введенного исследуемым способом вещества.

Более простым и надежным является способ определения величины квоты резорбции. Для этого после нанесения веществ на кожные покровы или введения его в организм другими способами (которые и предполагается изучить), в течение определенного времени периодически определяют его концентрацию в крови. Строят график зависимости содержания ксенобиотика в крови от времени и определяют площадь под кривой (ППК - S_R). Тоже вещество вводят контрольному животному (или испытуемому) внутривенно и также определяют динамику концентрации вещества в крови и определяют ППК зависимости концентрация-время (S_{IV}). Отношение найденных площадей и даст значение искомой величины:

$$Q_R = (S_R)/(S_{IV}).$$

Чем ближе значение Q_R к 1, тем лучше резорбируется данное вещество исследуемым путем.

ГЛАВА 4.3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ В ОРГАНИЗМЕ

После резорбции в кровь вещество в соответствии с градиентом концентрации распределяется по всем органам и тканям. Распределение - динамический процесс, его направленность во многом определяется соотношением содержания ксенобиотика во внешней среде, на месте аппликации, в крови и тканях. По большей части вещества распределяются в организме неравномерно. Неодинаково и время пребывания ксенобиотиков в различных органах и тканях. Некоторые избирательно накапливаются в том или ином органе, ткани, даже клетках определенного типа. Так, ботулотоксин избирательно связывается с нервными окончаниями холинэргических нервных волокон, 6-гидроксидофамин - накапливается в катехоламинэргических нейронах ЦНС, свинец, стронций - в костях и т.д. Причем если время нахождения первых двух токсикантов в соответствующих клетках насчитывает несколько часов - суток, то последние агенты могут сохраняться в костной ткани годами. Однако строение, физические свойства и химически состав клеток во многом одинаковы, поэтому такое неравномерное распределение ксенобиотика в организме или избирательное накопление в отдельных тканях встречается не так часто.

Токсический процесс далеко не всегда характеризуется повреждением именно тех структур, в которых вещество накапливается в наибольшем количестве. Выраженность токсического эффекта пропорциональна концентрации ксенобиотика в месте действия на биологически значимую "структуру-мишень". Для того, чтобы эффект был сильным необходима высокая концентрация вещества в "биофазе" чувствительных рецепторов. Например, чтобы вызвать отравление, в основе которого лежит нарушение деятельности сердца, буфотоксин должен накопиться в сердечной мышце. Его содержание в мозге, печени, поджелудочной железе практически не имеет значение для развития острого токсического процесса. При интоксикации диэтиламидом лизергиновой кислоты (ДЛК) менее 1% вещества поступает в мозг, но именно со стороны ЦНС выявляются изменения, составляющие основу острого отравления. Свинец, накопившийся в костях, практически не обладает биологической активностью.

1. Принципы распределения

На процесс перехода токсикантов из крови в ткани (и наоборот) влияют следующие структурно-функциональные особенности органов:

- свойства стенок их капиллярного русла;
- степень вазкуляризации и интенсивность кровоснабжения органов;
- свойства клеток, формирующих орган, и особенно клеточных мембран;
- кислотно-основные свойства тканей;
- степень сродства молекулярных элементов тканей к токсикантам.

На характер распределения ксенобиотиков в организме, кроме того, оказывают влияние вид животного, его пол, возраст и др.

1.1. Проникновение веществ через стенку капилляра

Водо-растворимое вещество, циркулирующее в крови, не диффундирует в ткани, если радиус молекулы превышает радиус пор стенки капилляров. Как правило, это случается с высокомолекулярными соединениями: токсикантами белковой природы и т.д. (см. выше). Такое же исключительно внутрисосудистое распределение характерно для низкомолекулярных веществ, если в крови они образуют большие агрегаты частиц или связываются с белками плазмы крови. Как уже указывалось, в различных органах стенки капилляров имеют различные свойства, а следовательно и различную проницаемость для химических веществ.

1.2. Значение особенностей кровоснабжения органов

Распределение токсикантов в первые минуты - часы после их поступления в организм, до достижения стационарной фазы, в значительной степени определяется характером кровоснабжения органов.

Объем крови, протекающей через различные органы в единицу времени далеко не одинаков (рисунок 1).

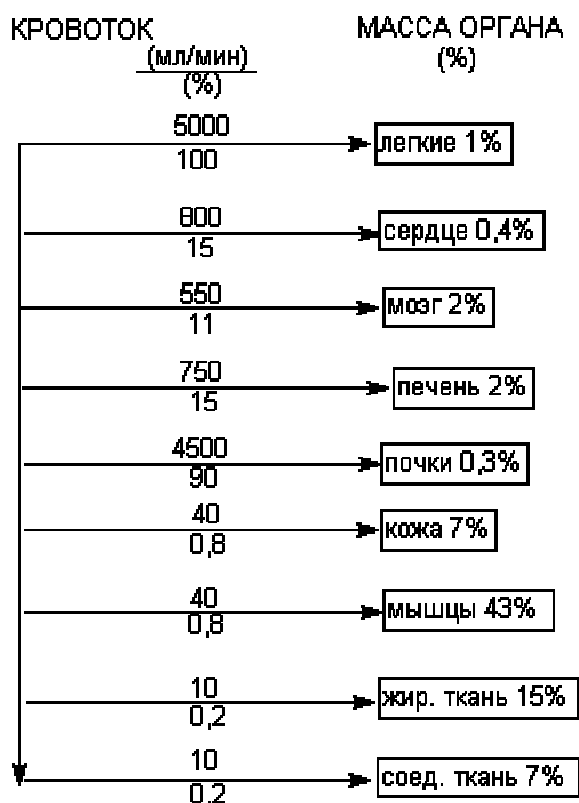


Рисунок 1. Интенсивность кровоснабжения различных органов и тканей

Количество диффундирующего из крови в ткань вещества определяется суммарной площадью капиллярного русла ткани. Для различных органов и тканей площадь капиллярного русла также не одинакова (таблица 1).

Таблица 1. Площадь капиллярного русла различных органов собаки (см²/г ткани)

Мозг	Почки	Печень	Легкие	Мышцы
240	350	250	250	70

Более того, даже внутри одного и того же органа степень васкуляризации отдельных участков может существенным образом различаться. Так, средняя длина капиллярного русла (в мкм) на 100 мкм³ сырой ткани мозга крысы составляет:

N. paraventricularis - 2023

N. supraopticus - 1960

Cortex - 1000

др. отделы гипоталамуса - 180 - 500

Сразу после введения вещества попадают в органы, богато снабжаемые кровью. Однако в дальнейшем они перераспределяются в соответствии с другими свойствами тканей, например, наличием специальных механизмов захвата веществ, высоким содержанием структур, связывающих ксенобиотики и соотношением жира и воды в органе или ткани. Так, в первые минуты после внутривенного введения собаке 25 мг/кг тиопентала, вещество в большом количестве определяется в печени (до 90%) и практически отсутствует в жировой ткани. Однако уже через 3 часа в печени и жире содержится примерно одинаковое (до 30%) количество вещества (B.V. Brodie, C.A.M. Hogben, 1957).

Конечное распределение токсикантов, длительно сохраняющихся в организме, не зависит от особенностей кровоснабжения органов.

1.3. Проникновение через клеточную мембрану

Токсиканты, хорошо растворяющиеся в липидах легко проникают не только через гистогематические барьеры, но и через клеточные мембраны и попадают внутрь клеток.

Водо-растворимые соединения могут попасть в клетки лишь через поры клеточных мембран. Размер пор клеточных мембран значительно меньше пор стенок капилляров. Поэтому среди водо-растворимых веществ можно выделить такие, которые проходят через стенки капилляров, но не проникают внутрь клеток, накапливаясь в экстрацеллюлярном пространстве тканей. К таким, в частности, относятся инулин, манит, ионы SO_4^{2-} , SCN^- и т.д. Инулин и манит могут использоваться в этой связи для экспериментального определения объема экстрацеллюлярного пространства. Он оценивается в среднем в 15 - 20% от объема тела.

На способность веществ проникать через клеточные мембраны влияет величина их pK_a (см. выше). Если в ходе патологического процесса изменяется кислотность плазмы крови, то одновременно изменяется и соотношение ионизированной и неионизированной форм молекул, циркулирующих в крови, и, следовательно, характер их распределения в организме. Так, при ацидозе количество неионизированных молекул кислот увеличивается, щелочей - уменьшается. Напротив, при алкалозе увеличивается количество неионизированной формы молекул слабых оснований. В этой связи при ацидозе в клетки поступает большее количество кислых токсикантов (щавелевая кислота при отравлении этиленгликолем, муравьиная кислота при отравлении метанолом и т.д.), а при алкалозе - слабых оснований.

1.4. Относительная растворимость в системе масло/вода

Вещества, хорошо растворимые в жирах, прежде всего, накапливаются в жировой ткани и тканях, богатых липидами (ЦНС). Эта закономерность хорошо прослеживается для многих лекарственных препаратов (например, производных барбитуровой кислоты), пестицидов и экопolutантов (полигалогенированные ароматические углеводороды и т.д.). При анализе результатов изучения токсикокинетики веществ необходимо учитывать, что у нормального человека жировая ткань составляет 15 - 20% веса тела, у тучных людей - до 50% и более.

Соединения с высоким значением коэффициента распределения в системе масло/вода плохо переходят из липидной фазы в водную. Для них жир является своеобразным депо в организме. В этом причина низкого содержания ряда токсикантов в плазме крови, и одновременно длительного сохранения их в организме. С этим можно связать накопление в организме, например, ДДТ, диоксина, галогенированных дибензофуранов и т.д. Токсикологическое значение может иметь накопление в жировой ткани малотоксичных пищевых добавок, экопolutантов и т.д. При определенных ситуациях, сопряженных с резким снижением содержания жира в организме, эти вещества могут выходить из депо и оказывать токсическое действие.

1.5. Распределение в соответствии с химическим средством

Вещества, с высоким химическим средством к определенным молекулам, молекулярным комплексам и т.д., накапливаются в тканях, содержащих такие молекулы в больших количествах. Типичным примером является угарный газ (CO), избирательно взаимодействующий с гемопотеинами, содержащими двухвалентное железо и, в частности, с гемоглобином. Вещество накапливается в силу этого преимущественно в крови отравленных.

Стронций и свинец - металлы, в известном отношении близкие кальцию. При поступлении в организм они первоначально накапливаются в паренхиматозных органах. Однако поскольку кальций подвержен постоянному обмену, Sr и Pb постепенно замещают его в тканях и в соответствии с химическим средством депонируются преимущественно в костях.

Распределение веществ модифицируется внешними условиями. Так, CN⁻ обладает высоким средством к гемопотеинам, содержащим трехвалентное железо. При ингаляции синильной кислоты CN⁻ связывается с цитохромоксидазой, каталазой, пероксидазой тканей. Однако, если с помощью метгемоглобинообразователей (азотистокислый натрий, алкиламинофенолы и т.д.) перевести железо гемоглобина в трехвалентную форму, CN⁻ будет связываться преимущественно с метгемоглобином, т.е. накапливаться в крови.

2. Объем распределения

Если вещество в дозе "Д" ввести внутривенно и оно, в соответствии со способностью преодолевать гистогематические барьеры и клеточные мембраны, распределится в жидкостях и тканях организма, то, основываясь на определении его концентрации в плазме крови "С", можно рассчитать кажущийся объем распределения (V_d).

Сравнивая V_d с объемами различных компартментов, можно ориентировочно оценить, в каком из них будет преимущественно накапливаться вещество. У взрослого человека масса воды составляет 50 - 70% от массы тела (у мужчины - 60 - 65%, у женщины - 50 - 55%) (табл. 2). Объем плазмы крови равен 4 - 4,5%, экстрацеллюлярной жидкости - 11 - 13%.

Таблица 2. Относительный объем компартментов организма

Компартмент	Объем (%)
Внутриклеточная вода	34
Межклеточная вода:	
-Плохо диффундирующая	12
-Легко диффундирующая	11
Вода плазмы крови	4
Жир	20
Прочие жидкости	19

Если вещество не растворимо в липидах, оно будет накапливаться в водной фазе: плазме крови V_k или одновременно внеклеточной V_E и внутриклеточной V_C жидкости. Если допустить, что вода этих жидкостей имеет одинаковую способность растворять химические соединения, можно ожидать, что:

$$C = D / (V_k + V_E + V_C)$$

Если вещество распределится только внутри сосудистого русла:

$$C = D / (V_k),$$

если экстрацеллюлярно:

$$C = D / (V_k + V_E).$$

В ходе токсикологических исследований принято определять абсолютный и относительный объемы распределения:

$$V_{абс} = D / C \text{ (л);}$$

$$V_{относ} = D / C \text{ М (л/кг), где}$$

Доза - "Д" выражается в граммах; концентрация - "С" в г/л; масса тела - "М" в кг.

При умножении $V_{относ}$ на 100 получаем его значение в % от массы тела.

Например, после внутривенного введения химического вещества ($D = 0,5$ г) человеку массой 60 кг при установлении состояния равновесия в организме концентрация его в плазме крови равна 0,04 г/л. В результате имеем:

$$V_{абс} = 0,5 / 0,04 = 12,5 \text{ л}$$

$$V_{относ} = 12,5 / 60 = 0,208, \text{ т.е. } 20,8\%$$

Таким образом, можно предположить, что соответствующее соединение главным образом накапливается экстрацеллюлярно.

Значения объемов распределения некоторых веществ в организме человека представлены на таблице 3.

Таблица 3. Объем распределения некоторых ксенобиотиков

Вещество	V _d (л/кг)	Вещество	V _d (л/кг)
Дигитоксин	0,5	Окспренолол	6,0
Метанол	0,6	Метаквалон	6,0
Этанол	0,6	Орнид	7,0
Изопропанол	0,6	Флекаинид	8,7
Литий	0,79	Мексилитин	7,0 - 10,0
Этиленгликоль	0,8	Амитриптилин	20,0
Пиндолол	2,0	Нортриптилин	21,0
Анаприлин	3,0 - 4,0	Галоперидол	23,0

(цит. по Марковой И.В., 1998)

Многие вещества имеют относительный объем распределения более 70 и даже более 100%. Этот на первый взгляд лишенный смысла факт, указывает на то, что соединения активно связываются со структурными элементами клеток, депонируются в тканях (преимущественно в жировой). Концентрация их в плазме крови при этом остается низкой.

Поэтому до изучения растворимости вещества в липидах, его способности связываться с белками крови и тканей и т.д., интерпретация результатов носит сугубо предварительный характер. Поскольку содержание жира у разных людей неодинаково объем распределения для липофильных веществ также подвержен существенным колебаниям.

Анализ величины объема распределения сопряжен и с другими трудностями. Так, если вещество достаточно быстро удаляется из организма, существенное значение приобретает правильность выбора времени определения его концентрации в плазме. Если это сделано слишком рано, не успевает установиться равновесие в системе распределения ксенобиотика, если слишком поздно - большая часть вещества будет элиминирована из организма.

Для преодоления трудностей необходимо использовать дополнительные методические приемы, в частности определять величину полуэлиминации токсиканта (см. ниже).

3. Связывание с белками крови

Токсикант, попавший в кровоток, может вступать во взаимодействие с белками и клетками крови, при этом изменяются его токсикокинетические характеристики. В практическом отношении особый интерес представляет взаимодействие ксенобиотиков с протеинами плазмы крови.

3.1. Белки плазмы крови

Плазма крови человека содержит около 75 мг/мл белка. Основная масса представлена альбуминами: 35 - 55 мг/мл, выполняющими, главным образом, транспортные функции. К числу других групп относятся белки свертывающей системы крови, иммуноглобулины, белки системы комплемента, ингибиторы протеолиза, липо- и гликопротеины. Взаимодействие этих белков с ксенобиотиками приводит к понижению концентрации свободно циркулирующих в плазме веществ, вследствие чего понижается фракция токсиканта, способного к диффузии в ткани. Липофильные вещества, взаимодействуют в основном с липопротеинами. Водно-растворимые токсиканты прежде всего связываются с альбуминами и кислыми α_1 -гликопротеидами. Концентрация последних в плазме крови составляет около 0,9 мг/мл. Потенциальные участки связывания заряженных молекул ксенобиотиков белками представлены в таблице 4.

Таблица 4. Потенциальные участки связывания ионизированных молекул ксенобиотиков белками

Участки связывания (аминокислота)	Строение групп	Число участков связывание на молекулу белка
Аспартат, глутамат	-COOH	101
Тирозин	-O ⁻	18
Цистеин	-S ⁻	0,7
Гистидин	-NH ⁺	17
Лизин	-NH ₃ ⁺	57
Аргинин	=NH ₂	22
Терминальные группы	-NH ₃	1
	-COO ⁻	1

Tanford et al. 1955

Альбумины плазмы крови человека хорошо растворяются в воде. Их молекулярная масса - около 66000 Д. Они состоят из 585 остатков аминокислот. Третичная структура альбуминов фиксируется 17 дисульфидными связями. При pH 7,4 эти белки находятся в форме анионов. Большинство попавших в кровь веществ фиксируются на альбуминах, не зависимо от того являются они нейтральными, кислыми или основными соединениями.

Выделяют 6 основных центров связывания ксенобиотиков на молекуле альбумина. Различные центры отличаются друг от друга неодинаковым сродством к веществам с различными значениями константы pK_a , механизмами взаимодействия с ксенобиотиками, различной кривой насыщения связи, числом на молекуле белка, величинами константы диссоциации комплекса белок-ксенобиотик. Так, центр связывания 1-го типа содержит два различных акцепторных ареала. Здесь связываются такие вещества как варфарин, бензодиазепины. На 1 молекулу альбумина приходится 1 - 3 центра связывания 1-го типа.

Физиологическая функция альбуминов состоит в связывании свободных жирных кислот и билирубина, циркулирующих в крови. Эти вещества могут влиять на процесс взаимодействия белков с ксенобиотиками. Так, жирные кислоты ослабляют связывание гликозидов или бензодиазепинов с альбуминами. Билирубин влияет на фиксацию варфарина и т.д.

Кислые α_1 -гликопротеиды состоят из одной полипептидной цепи и остатка углевода. Молекулярная масса белков - около 41000. Полисахаридный фрагмент молекулы составляет около 38% ее массы. Гликопротеиды связывают, прежде всего, молекулы, обладающие свойствами слабых оснований. Из-за невысокой концентрации этих белков в плазме процесс связывания ими химических веществ быстро насыщается.

Липопротеиды прежде всего связывают жирорастворимые вещества. Основной центр связывания - липидный фрагмент молекулы.

Кроме указанных, в плазме крови содержатся специфические транспортные белки, активно связывающие некоторые токсиканты (церулоплазмин, металлотинеины и т.д.).

3.2. Характеристики связывания ксенобиотиков

Перечень связывающихся на белках крови молекул простирается от простых неорганических до сложных макромолекулярных соединений. Достаточно хорошо это явление изучено применительно к разнообразным лекарственным препаратам (таблица 5).

Таблица 5. Связывание некоторых лекарственных препаратов белками плазмы крови

Вещество	Связывание (%)	Вещество	Связывание (%)
Трамал	5	Дезипрамин	70 - 90
Соталол	5	Доксепин	80
Метопролол	12	Оксспренолол	80
Кодеин	7 - 25	Анаприлин	90
Морфин	20 - 35	Метадон	90
Амидопирин	25 - 30	Галоперидол	90
Кофеин	35	Аминазин	90
Дигоксин	20 - 40	Дифенин	87 - 95
Теofilлин	40	Сульфадиметоксин	90 - 99
Резерпин	40	Хлорпротиксен	95 - 98
Атропин	50	Амитриптилин	91 - 97
Фенобарбитал	50	Дигитоксин	95
Клофилин	55	Бутадион	99
Димедрол	40 - 70	Пироксикам	99
Пиндолол	40 - 70	Тиоридазин	99,5
Сульфален	65 - 80		

(цит. по Марковой И.В., 1998)

Связь веществ с белками - спонтанно протекающая реакция, не требующая затрат энергии и зависящая только от их строения.

В основе процесса, как правило, лежит установление гидрофобных, реже ионных и водородных, связей между участниками взаимодействия. Установлено, что с увеличением молекулярной массы ксенобиотика, длины алкильных радикалов в молекуле вероятность его связывания белками возрастает. Включение в молекулу галогенов делает связь вещество-белок более прочной. Влияние различных заместителей возрастает в ряду: Cl < Br < J. Наличие N-ацильных радикалов в молекуле также упрочивает связь. Галогенированные углеводороды прочно связываются с альбуминами, но еще прочнее с липопротеинами. Липофильные ФОС связываются и с альбуминами и с липопротеинами (таблица 6).

Таблица 6. Связывание ксенобиотиков различного строения с альбуминами и липопротеинами

Токсикант	Количество связавшегося вещества (%)	Связано альбумином (%)	Связано ЛПНП* (%)	Связано ЛПВП** (%)
ДДТ	99,9	35	35	30
Дизлдрин	99,9	12	50	38
Линдан	98,0	37	38	25
Паратион	98,7	67	21	12
Диазинон	96,6	55	31	14
Карбарил	97,4	99	< 1	< 1
Карбофуран	73,6	97	1	2
Альдикарб	30,0	94	2	4
Никотин	25,0	94	2	4

* ЛПНП - липопротеины низкой плотности

**ЛПВП - липопротеины высокой плотности

(Malwall B.P., Guthrie F.E., 1981)

Связывание с белками - один из важных факторов, определяющих особенности токсикокинетики некоторых металлов. Ключевую роль здесь играют низкомолекулярные, содержащие SH-группы металлсвязывающие белки - металлотинеины, усиленно синтезируемые в ответ на поступление целого ряда металлов (Cd, Zn и т.д.) в организм. Эти белки активно соединяются с металлами, формируя ковалентную связь, и при острых воздействиях снижают их токсичность. Так, предварительное введение экспериментальным животным цинка, индуцирующего синтез металлотинеинов, защищает их от смертельной дозы Cd (Gunn et al., 1964). Печень и почки - органы, в которых синтез металлотинеинов проходит с наивысшей скоростью. Именно в этих органах первоначально накапливается и большая часть

металла, поступившего в организм. При длительном поступлении в организм (хорошо изучено на примере кадмия) комплекс металл-металлотионеин появляется в крови. Источником циркулирующего в крови комплекса, как полагают, является печень. Интересно отметить, что накопление связанного кадмия в почках в большом количестве приводит к развитию нефропатии. Комплекс Cd-металлотионеин при системном введении экспериментальным животным вызывает некроз клеток эпителия проксимального отдела почечных канальцев. Вероятно, в этих структурах происходит захват циркулирующего в крови Cd-металлотионеина. У грызунов, которым хронически вводили Cd, нефропатия не развивалась до тех пор, пока концентрация комплекса Cd-металлотионеин в сыворотке крови не становилась достаточно высокой.

3.3. Конкурентные отношения при взаимодействии ксенобиотиков с белками

Если в растворе белка находится несколько химических соединений, между ними могут возникнуть конкурентные отношения за образование связи с протеинами. Эту закономерность легко проследить на примере сульфониламидных препаратов и фенобарбитала. При увеличении концентрации барбитурата (с 0,85 мМ до 3, 25 мМ) количество сульфониламида, связавшегося с альбумином плазмы крови человека уменьшается. Подобные отношения отмечаются между веществами как близкого, так и совершенно разного строения, вместе с тем не являются облигатными для всех соединений. Более того, в ряде случаев выявляется усиление связи веществ с протеинами в присутствии других соединений. Так, галотан повышает способность альбумина связывать самые различные химические вещества, вероятно модифицируя его конформацию.

Известна способность веществ к взаимному вытеснению из связей с протеинами. Это особенно характерно для слабых кислот, например таких лекарственных препаратов, как фенилбутазон, сульфинпиразон и т.д. Вследствие высвобождения из связи с белком концентрация действующего соединения в плазме крови возрастает.

Значение рассматриваемого явления определяется следующими факторами:

- относительным сродством вещества и его конкурента к белкам плазмы крови с одной стороны, и тканям - с другой;
- объемами, в которых распределяются вещества;
- скоростью разрушения комплекса токсикант-белок.

Если объем распределения вещества невелик и при этом в плазме крови обнаруживается его высокая концентрация в сравнении с тканями, то вытеснение из связи с белками крови заметно изменит содержание соединения в тканях. Для веществ с большим объемом распределения вытеснение практически не скажется на характере распределения в организме.

При попадании в кровь нескольких биологически активных веществ, конкурирующих за один и тот же участок связывания на белках плазмы крови, возможна существенная модификация их токсичности и продолжительности действия. Так, при введении экспериментальным животным фенилбутазаона или его производных, на фоне предварительного введения переносимой дозы антикоагулянтов (варфарина, кумарина), отмечается вытеснение последних из связи с белками плазмы крови, что приводит к гибели животных.

При изучении явления конкуренции веществ необходимо учитывать, что ксенобиотики помимо связи с белками плазмы крови, как правило, образуют комплексы и с тканевыми протеинами (таблица 7).

Таблица 7. Связывание веществ (0,1 М) *in vitro* 50% гомогенатом мышечной ткани, 25% раствором гемоглобина и плазмой крови человека

Соединения	Связывание (%)		
	Мышцы	Гемоглобин	Плазма
Салициловая кислота	43,3	50,4	82,1
Нитрофурантион	58,4	41,0	77,1
Гексобарбитал	60,5	40,2	54,8
Сульфадиметоксин	73,2	60,3	97,5
Фенобарбитал	66,9	56,6	50,7
Тиопентал	90,0	78,2	87,2
Фенилбутазон	90,1	78,2	98,8
Фенитоин	88,3	79,4	85,8
Хлордиазепоксид	88,8	75,5	97,8
Прометазин	96,8	90,7	82,7
Дезипрамин	98,4	86,3	81,2

(Н. Kurz, 1978)

Введение в организм конкурентов связывания может привести к высвобождению соединения не только из комплекса с белками плазмы, но и тканей. В этом случае диффузионный градиент высвобождаемого вещества может измениться самым неожиданным образом (таблица 8).

Таблица 8. Изменение количества связанного веществ (0,1 мМ) при добавлении в инкубат фенилбутазаона (0,1 мМ)

Вещество/белок*	Без фенилбутазаона (%)	В присутствии фенилбутазаона (%)
Фенпрокурон		
плазма (М)**	99,0	81,0
гемоглобин (М)	87,5	85,7
мышцы (К)**	66,1	62,7
Тиопентал		
плазма (М)	86,4	83,1
гемоглобин (М)	74,4	71,4
мышцы (К)	66,0	67,0

Толбутамид		
плазма (М)	96,2	94,9
гемоглобин (М)	48,6	39,4
мышцы (К)	29,6	28,7

* 25% раствор гемоглобина; 50% гомогенат мышечной ткани

** М - человек; К - кролик. (Н. Kurz, 1978)

3.4. Биологические последствия связывания токсиканта белками плазмы крови

Связывание веществ белками крови имеет определенные токсикокинетические и токсикодинамические последствия.

1. Распределение. Простые вещества, связанные с белками крови, приобретают кинетические характеристики этих белков. Содержание таких веществ в тканях, как правило, невелико, объем распределения - мал (плазма крови). Напротив, у веществ, плохо связывающихся с белками, объем распределения и содержание в тканях высокие. Если распределение вещества в организме не подчиняется законам диффузии и осуществляется путем активной его экстракции из крови тканями (например, печенью или почками), то связывание белками может даже способствовать активному захвату такого ксенобиотика (например, захват почками комплекса кадмия с металлотионеинами).

2. Клиаренс. Клиаренс (скорость "очищения" плазмы - Cl) определяется интенсивностью кровотока (F) и скоростью экстракции вещества органами выведения (E):

$$Cl = F \cdot E;$$

$$E = (C_A - C_V) / C_A, \text{ где}$$

C_A и C_V - концентрация вещества в артериальной и венозной крови соответственно.

Если E имеет высокие значения (более 0,7 - 0,8), клиаренс в значительной степени зависит от интенсивности кровотока. При этом, соотношение между свободной и связанной фракциями токсиканта в крови играет подчиненную роль. Так, даже если в печени и почках из плазмы экстрагируются преимущественно несвязанная форма, то, вероятно, быстрая диссоциация комплекса вещество-белок приводит к практически незатрудненному выведению вещества.

Если E - менее 0,2 - 0,3, клиаренс определяется, прежде всего, концентрацией несвязанного вещества в плазме крови. Интенсивность кровотока имеет меньшее значение.

3. Выведение через почки. Если вещество не подлежит активному захвату почечной тканью, то в случае связывания с белками его экскреция будет затруднена, поскольку капиллярная мембрана почечных клубочков не проницаема для белка. В первичную мочу путем фильтрации будут поступать лишь свободные молекулы.

В этой связи если диссоциация комплекса вещество-белок проходит быстро, то связывание ксенобиотика протеинами крови мало сказывается на его выделении через почки, если же образовалась прочная связь, это может стать лимитирующим фактором почечной экскреции.

4. Биологическое действие. Биологическое действие вещества пропорционально части молекул, вступивших во взаимодействие с биологически значимыми молекулами-мишенями. Эта часть, в свою очередь является функцией концентрации свободных, не связавшихся с биосубстратом, молекул. Все структурные элементы организма, способные образовывать комплексы с ксенобиотиками, являются конкурентами специфических рецепторов для токсикантов, понижают их биологическую активность. Это в полной мере относится к белкам крови и тканей. Последние существенно превосходят белки крови по способности неспецифически связывать ксенобиотики и потому в большей степени влияют на токсикодинамические характеристики веществ.

5. Аллергизация. Некоторые ксенобиотики, образуя ковалентные связи с молекулами белков, изменяют структуру протеинов и их конформацию, белки приобретают свойства антигенов для собственного организма. С учетом этих представлений обсуждается возможность объяснения аллергизации организма низкомолекулярными соединениями, наблюдаемая при их повторном воздействии (см. раздел "Иммунотоксичность").

4. Связывание клетками крови

В крови токсикант может вступать во взаимодействие не только с белками плазмы, но и форменными элементами крови и прежде всего с эритроцитами. При этом возможно: 1. Связывание вещества клеточной мембраной эритроцитов (связывание с белками мембраны, растворение в липидах клеточной мембраны); 2. Проникновение соединения внутрь клетки, связывание с её содержимым, взаимодействие с гемоглобином.

Фиксация веществ на поверхности эритроцитов отчасти обусловлена наличием отрицательного заряда на внешней поверхности мембраны. Он формируется многочисленными связанными с мембраной молекулами мукополисахаридов. Положительно заряженные вещества, особенно содержащие четвертичный атом азота в молекуле (алкалоиды и т.д.), активно взаимодействуют с поверхностью эритроцитов.

Прохождение ксенобиотиками клеточной мембраны эритроцитов подчиняется общим закономерностям (см. выше). Из-за высокой концентрации гемоглобина в эритроците вся внутриклеточная вода связана этим белком и не принимает участие в растворении ксенобиотиков. В этой связи, возможности эритроцитов фиксировать гидрофильные молекулы в форме раствора внутри клетки, ограничены.

5. Проникновение ксенобиотиков в ЦНС

Проникновение в ЦНС целого ряда химических соединений, в основном водорастворимых и тем более заряженных, затруднено или даже невозможно. Это обусловлено особенностями строения гистогематического барьера между кровью и тканью мозга, носящего здесь название "гематоэнцефалический барьер", и барьера, отделяющего цереброспинальную жидкость от кровяного русла (гематоликворный барьер).

5.1. Гематоэнцефалический и гематоликворный барьеры.

Общая площадь поверхности капилляров мозга велика и составляет в среднем $52 \text{ см}^2/\text{г}$ ткани, причем в различных структурах этот показатель не одинаков. Так, в белом веществе мозга обезьяны площадь капилляров составляет $38 \text{ см}^2/\text{г}$ ткани, а в коре головного мозга - $192 \text{ см}^2/\text{г}$. Большая площадь контакта сосудистого русла и ткани мозга объясняет почему в мозг быстро проникают жирорастворимые ксенобиотики, для которых эндотелий сосудов, базальная мембрана и мембраны астроцитарной глии не представляют преграды. Вместе с тем перечисленные структуры образуют барьер, который не преодолит для очень многих ксенобиотиков.

Гематоэнцефалический барьер формируется благодаря уникальным особенностям анатомических структур головного мозга.

Во-первых, эндотелий капиллярного русла головного мозга отличается от эндотелия других органов чрезвычайно тесным контактом клеток друг с другом. Эффективный радиус пор капилляров мозга значительно меньше, чем в других тканях и составляет, например, у кролика $0,7 - 0,9 \text{ нм}$. Крупные молекулы не в состоянии проникать через эндотелиальный барьер. Водно-растворимые и заряженные молекулы могут проходить непосредственно через биомембраны и цитоплазму эндотелиальных клеток только в том случае, если имеют малые размеры (CN^+). В норме эндотелиальные клетки мозга лишены способности к пиноцитозу. Лишь при некоторых патологических состояниях (гипоксия) в ЦНС в эндотелии образуются пиноцитарные вакуоли, при этом возрастает проницаемость гематоэнцефалического барьера, увеличивается уязвимость мозга для действия токсикантов.

Во-вторых, капилляры мозга плотно окутаны отростками астроцитарной глии. Астроцитарная оболочка препятствует проникновению гидрофильных ксенобиотиков из крови в ткань мозга и их взаимодействию с другими клеточными элементами. В некоторых областях мозга, таких как срединное возвышение гипоталамуса, медиальная преоптическая область, область четвертого желудочка мозга, астроцитарная оболочка развита сравнительно слабо. В этих регионах возможно проникновение водно-растворимых и даже заряженных молекул токсикантов в ЦНС, но также в ограниченном количестве.

Наконец последней структурой, вносящей вклад в формирование ГЭБ, является базальная мембрана, залегающая между эндотелиальными клетками капилляров и отростками астроцитов. Эта мембрана имеет упорядоченную фибриллярную макропротеидную структуру, обеспечивающую избирательное проникновение в мозг ряда важных для обеспечения его жизнедеятельности молекул (кислород, глюкоза и др.).

Аналогичный барьер окружает периферический отдел нервной системы (гематоневральный барьер). Также как и в ЦНС здесь имеются структуры с повышенной проницаемостью для токсикантов. К числу таких структур относятся корешки дорзальных ганглиев и вегетативные (автономные) ганглии.

Особенностью капиллярного русла мозга является наличие хориоидального сплетения. Это сплетение образуется капиллярами и клетками однослойного кубического эпителия, выстилающего полости желудочков мозга. Хориоидальное сплетение - место образования ликвора, жидкости, заполняющей желудочки мозга. Переход веществ из крови в ликвор определяется проницаемостью стенки капилляра и клеточной мембраны эпителия сплетения (гематоликворный барьер) и в целом затруднен для водно-растворимых и заряженных молекул. В свою очередь обмен веществ между ликвором и тканью мозга ограничивается лишь тонким слоем хорошо проницаемой эпендимы. При объяснении закономерностей распределения веществ в мозге допускают, что жидкость межклеточного пространства и ликвор желудочков мозга представляют собой единое целое. В этой связи концентрация веществ в ликворе принимается равной концентрации в межклеточном пространстве. Это допущение в значительной степени справедливо для водно-растворимых веществ и в меньшей степени - для жирорастворимых. Многие вещества, для которых гематоэнцефалический и гематоликворный барьеры не проницаемы, оказывают действие на ЦНС при их введении в желудочки мозга.

5.1.1. Некоторые свойства гематоэнцефалического и гематоликворного барьеров

Проницаемость ГЭБ для различных веществ оценивают путем их введения в кровь, с последующим определением в динамике концентрации в плазме, ликворе и гомогенате мозга.

Свойства веществ, влияющие на их способность проникать в мозг, по сути, идентичны свойствам, регулирующим проникновение соединений через клеточные мембраны: жирорастворимые соединения легко проникают в мозг, водно-растворимые - плохо; слабые кислоты и основания диффундируют через ГЭБ и ликворный барьер только в неионизированной форме; неионизированные молекулы веществ проникают через барьеры тем лучше, чем выше их коэффициент распределения в системе масло/вода; диффундировать через барьеры может лишь фракция вещества, не связанная с белками плазмы крови. В соответствии с изложенным, жирорастворимые неэлектролиты, например хлорированные углеводороды, спирты, ароматические углеводороды и др., легко проникают через ГЭБ. Напротив, чужеродные органические электролиты, например азотсодержащие основания (алкалоиды, миорелаксанты и т.д.) не проникают в ЦНС.

Необходимые мозгу вещества: субстраты обменных процессов, биорегуляторы (аминокислоты, глюкоза, нуклеотиды и др.), переносятся через ГЭБ с помощью специальных механизмов активного транспорта и проникают в ЦНС не зависимо от химических и физико-химических свойств. Синтетические аналоги этих веществ, при поступлении в кровь, могут либо проникать в ткань мозга с помощью имеющихся механизмов активного транспорта, либо блокировать проникновение в ЦНС естественных метаболитов, конкурируя с ними за механизмы транспорта. И то и другое может стать причиной формирования токсического процесса. Примером таких веществ является α -метил- m -тирозин. Эта аминокислота активно переносится из плазмы крови в мозг. Здесь путем последовательного декарбоксилирования и гидроксирования образуется молекула вещества (метараминол), провоцирующего выброс норадреналина из пресинаптических нервных окончаний с развитием соответствующих эффектов. При внутривенном введении метараминола экспериментальным животным центральные эффекты не развиваются, так как вещество, не будучи аминокислотой, не проникает через ГЭБ.

Проницаемость ГЭБ в значительной степени изменяется с возрастом и при различных патологических состояниях (воспалительный процесс, ацидоз). У плода и новорожденных барьер проницаем для токсикантов, не проникающих в мозг взрослого (например ионы свинца при остром отравлении солями металла). При менингите в мозг проникают антибиотики, не проходящие через ГЭБ здорового. В условиях эксперимента проницаемость гематоэнцефалического барьера можно усилить, вводя в кровь гипертонический раствор арабинозы или другие соединения (алкоголь, мочевины, нортриптилин и т.д.).

Вещества, для которых ГЭБ не проницаем, при введении в ликворное пространство (желудочки мозга) проникают в мозговую ткань. Ацетилхолин, адреналин, гистамин, амфетамин, тубокурарин и т.д. при этом способе введения быстро оказывают воздействие на ЦНС. Проникновение веществ из ликвора в мозг осуществляется с ликворным током, противоположным по направлению току жидкости в венозные синусы, формируемые твердой оболочкой мозга.

6. Гематофтальмический барьер

На пути веществ из крови во внутриглазное пространство (и в обратном направлении) лежат барьеры двух типов.

Первый регулирует обмен веществ между кровью и внутриглазной жидкостью (камерами глаза). Главную роль здесь играет цилиарное тело, продуцирующее внутриглазную жидкость. Внутриглазная жидкость устремляется из задней камеры глаза в переднюю и покидает глаз через Шлемов канал. Переход веществ из крови в камеры глаза есть процесс простой диффузии через двухслойный эпителий цилиарного тела и, следовательно, определяется общими свойствами молекул, влияющими на проникновение соединений через биологические барьеры (см. выше). Также путем диффузии осуществляется распределение вещества между камерами глаза, стекловидным телом и другими структурными элементами глаза.

Вторым является гематоретинальный барьер, отделяющий кровь от сетчатки глаза. Гематоретинальный барьер по свойствам близок гематоликворному. Закономерности прохождения через него ксенобиотиков носит общий характер. Лишь небольшое количество веществ (главным образом питательные вещества) активно транспортируются из крови в сетчатку не зависимо от их физико-химических свойств.

7. Проникновение ксенобиотиков в печень

Печень - важнейший орган, принимающий участие в обмене веществ. Кровь, оттекающая от кишечника и содержащая вещества, поступившие в организм, направляются по системе портальной вены, прежде всего, в печень. Бесчисленное количество необходимых для организма и чужеродных соединений попадают в печень и подвергаются здесь метаболическим превращениям. Печень является органом выделения. В её секрет - желчь, выделяемый в просвет кишки, переходят многие вещества. Механизмы проникновения веществ из крови в печень и факторы, влияющие на этот процесс, имеют ряд особенностей.

7.1. Сосудистое русло

Орган снабжается кровью из двух источников. Система портальной вены приносит в печень венозную кровь, оттекающую от кишечника. Аортальная кровь поступает через печеночную артерию. В этой связи, ксенобиотик, проникающий в организм через желудочно-кишечный тракт, привносится в орган с портальной кровью, а проникающие через кожу и легкие - по системе артериальных сосудов. Из общего объема сердечного выброса крови, четверть (25%) поступает в печень по системе печеночной артерии, а 75% - по системе портальной вены (со сниженным содержанием кислорода).

Печеночная артерия, портальная вена и желчевыводящий проток образуют тесно связанный пучок, называемый портальной триадой. Кровь, поступающая по кровеносным сосудам, собирается в печеночные синусоиды, а затем в терминальную печеночную вену, располагающуюся в центре печеночной дольки. По печеночной вене, оттекающая от органа кровь, поступает в общий кровоток.

Именно через стенки синусоидов ксенобиотик проникает из крови в гепатоциты. Эндотелиальные клетки синусоидов имеют ядро и хорошо развитую цитоплазму. Между контактирующими клетками, как правило, имеются большие промежутки, размером 0,1 - 1,0 мкм. Это позволяет даже макромолекулам практически беспрепятственно проникать из кровеносного русла в ткань печени. В стенках печеночных капилляров залегают Купферовские звездчатые клетки. Они участвуют в захвате макромолекул и корпускулярных образований, проникших в печень, путем их пино- и фагоцитоза. Частично гепатоциты сами формируют стенку синусоида.

Между фенестрированным эндотелием синусоида и мембраной гепатоцита имеется пространство, шириной от 60 нм до 0,5 мкм (перекапиллярное пространство Диссе), куда свободно проникает плазма крови, с циркулирующими в ней веществами. Базальная поверхность гепатоцитов имеет множественные выросты, направленные в сторону этого пространства, увеличивающие площадь контакта между клетками и плазмой. Этим обеспечивается возможность усиленной абсорбции веществ из крови. Таким образом, особенность морфологии гистогематического барьера в печени состоит в том, что он представлен только клеточной мембраной гепатоцита. Кроме того, в печени выявлены многочисленные механизмы активного транспорта веществ через биологические мембраны.

7.2. Активный транспорт

Помимо жизненно необходимых веществ, печень активно захватывает многие чужеродные соединения. Прежде всего к их числу относятся различные органические кислоты и некоторые основания, выделяющиеся затем в желчь в свободной либо конъюгированной форме. Их перемещение из крови в орган и из органа в желчь порой осуществляется против градиента концентрации. Так, содержание прокаидама в желчи может быть в 80 раз выше, чем в плазме крови. Транспортные системы, обеспечивающие движение ксенобиотиков из крови в печень, как правило, характеризуются способностью к насыщению, угнетаются веществами, блокирующими обмен веществ, и субстратами-антагонистами. Захват прокаидама из крови и выделение в желчь блокируется молекулами других веществ - органических оснований. Органические кислоты, например бромсульфалеин, не влияют на процесс. Таким образом, транспортные системы переноса через печень органических кислот и оснований различны.

7.3. Мембранная диффузия

Как уже указывалось, функции гистогематического барьера в печени выполняют клеточные мембраны гепатоцитов. Мембрана печеночных клеток отличается высокой порозностью (в сравнении с другими клетками) и этим также определяются некоторые особенности поступления веществ из крови в печень. Хотя многие макромолекулы, легко преодолевающие эндотелиальный барьер печеночных синусоидов, и задерживаются в межклеточном пространстве, водо-растворимые молекулы с небольшой молекулярной массой легко проникают через клеточную мембрану гепатоцита. Так, водо-растворимые неэлектролиты манитол и сорбитол с большой скоростью переходят в клетки печени при их введении в кровь. Многие не растворимые в липидах вещества, такие как сахароза, инулин, декстран хорошо переносятся из крови в желчь.

Проницаемость биологического барьера для ксенобиотика может быть рассчитана по формуле:

$$K_p = -1/t \ln [1 - (C_t/C_{max})], \text{ где}$$

K_p - константа проницаемости барьера;

C_t и C_{max} - концентрации веществ в ткани в момент времени t (мин) и максимальная концентрация, достижимая при оптимальных условиях эксперимента.

Если графически изобразить зависимость значений K_p от коэффициента распределения веществ в системе гептан/вода, можно оценить влияние такого их свойства, как жирорастворимость, на способность преодолевать данный биологический барьер. На рисунке 2 представлены рассматриваемые зависимости для печеночного и ликворного барьеров.

константа
проницаемости

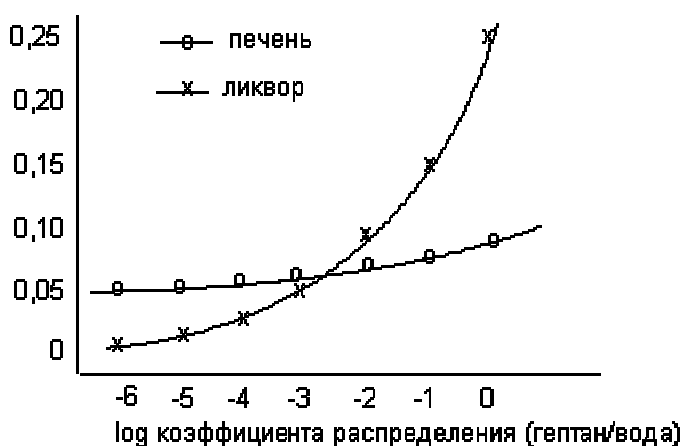


Рисунок 2. Зависимость между значениями коэффициентов распределения веществ в системе гептан/вода и их проницаемостью через гематоликворный и печеночный барьеры у кролика (Н. Kurz, 1964).

Как видно из данных, представленных на рисунке, свойства гематоликворного и печеночного барьеров различны. Основная особенность печеночного барьера - отсутствие большого отличия в способности водо- и жирорастворимых веществ преодолевать его. Это связано с высокой порозностью клеточной мембраны гепатоцитов.

7.4. Фагоцитоз

Агломераты макромолекул, микрочастицы веществ, попавшие (или образовавшиеся) в кровь могут захватываться путем фагоцитоза Купферовскими звездчатыми клетками синусоидов печени. К фагоцитозу способны также эндотелиальные и паренхиматозные клетки печени. Захват частиц и макромолекул - энергозависимый процесс, угнетаемый ингибиторами процесса окислительного фосфорилирования, в частности, цианидами. Однако захват печенью крупных частиц ксенобиотиков, циркулирующих в крови, не всегда является следствием фагоцитоза. Так, в отношении агломератов полианионов (например, полифосфатов) печень ведет себя, как ионообменная колонка, адсорбируя их на поверхности гепатоцитов.

8. Поступление ксенобиотиков в экзокринные железы

Распределение веществ между кровью и железами изучено достаточно хорошо. Методически это выполняется в опытах *in vivo* или на изолированных органах. В процессе исследования одновременно изучают скорость исчезновения вещества из плазмы крови (перфузионной жидкости) и концентрацию его в секрете железы, например молоке, слюне, поте. Для целого ряда ксенобиотиков существует прямая корреляция между содержанием их в крови и секрете желез.

Переход токсикантов из крови в клетки желез определяется уже рассматривавшимися ранее общими характеристиками: величиной коэффициента распределения в системе жир/вода, величиной pK_a , размерами молекул и т.д. Это связано с тем, что в основе перехода ксенобиотиков в клетки желез лежит процесс простой диффузии через биологические липидные пористые мембраны.

При анализе процесса распределения веществ необходимо учитывать, что секрет различных желез характеризуется неодинаковым содержанием воды и липидов (в слюне и поте преобладает вода, в молоке - большое содержание липидов). pH секрета желез не идентичен pH плазмы крови (pH слюны и молока ниже pH крови) и т.д. Слабые основания легче переходят в молоко, чем слабые кислоты. Так, для основных веществ со значением pK_a равным 8,8 соотношение содержания молоко/кровь составляет около 7,0, а для кислотных веществ (pK_a около 2,7) - только 0,2. В этой связи такие вещества, как никотин, морфин (и другие наркотические анальгетики), феназепам (и другие седативные средства), антигистаминные препараты -

легко попадают в молоко кормящих матерей. Соотношение содержания молока/кровь для этанола (незаряженной молекулы, растворимой и в неполярных растворителях и воде) равно 1,0.

9. Проникновение ксенобиотиков через плаценту

Если химическое вещество поступает в организм беременной женщины, оно может оказаться опасным не только для будущей матери, но и для плода, а иногда и исключительно для плода. Такая опасность обусловлена способностью многих чужеродных соединений проходить через плацентарный барьер. Особую опасность, в этой связи, представляют лекарственные препараты, вредные привычки (курение табака, прием алкоголя и т.д.), профессиональные вредности.

9.1. Плацентарный барьер

Плацента человека состоит из тканей матери и плода. Кровеносные сосуды матери впадают в межворсинчатое пространство, в которое проникают выросты хориона. В последних, в рыхлой ткани, находятся сосуды плода. На поверхности, омываемой материнской кровью, имеется синцитиальная ткань, так называемая трофобластная оболочка. Обмен веществом между кровью матери и плода осуществляется, таким образом, через следующие структуры: трофобластная оболочка, рыхлая ткань стромы выростов хориона, эндотелий капилляров хориона. В процессе развития плода толщина этих слоев не одинакова и в конце периода беременности составляет лишь несколько микрон. Площадь контакта между поверхностью хорионидных выростов и кровью матери также не постоянна и в предродовом периоде составляет около 14 м². В ранних периодах беременности толщина барьера существенно больше, а площадь поверхности - меньше. В этой связи и проницаемость плацентарного барьера для ксенобиотиков в различные сроки вынашивания плода не одинакова. В целом у человека, она постоянно увеличивается до 8 месяца беременности, а затем опять снижается. Последствия для плода проникновения ксенобиотиков через плаценту определяется соотношением мощности потока токсиканта через плацентарный барьер с одной стороны, размерами развивающегося плода и состоянием делящихся и дифференцирующихся клеток его тканей, с другой.

9.2. Характеристика проникновения токсикантов через плаценту и распределение их в тканях плода

Большинство чужеродных веществ преодолевает плацентарный барьер путем простой диффузии. Для некоторых субстратов, биорегуляторов и жизненно-необходимых веществ могут существовать механизмы активного транспорта через плаценту, однако это окончательно не доказано. В пользу наличия механизмов активного транспорта говорит в частности тот факт, что в тканях плода содержание не синтезируемого организмом витамина В₁₂ в 100 раз выше, чем в организме матери.

Особенностью плацентарного барьера является его способность пропускать некоторые высокомолекулярные вещества, некоторые белки и даже материнские антитела. Так, в опытах на крысах показано, что меченный ¹³¹I γ-глобулин может проходить из крови матери через плаценту в кровь плода. Более того, меченные радионуклидами эритроциты могут попасть в кровь плода, а затем выйти в кровеносное русло матери. Такое трансплацентарное движение высокомолекулярных соединений и форменных элементов крови возможно осуществляется с помощью механизма активного транцитоза (цитопемзиса) либо через крупные поры в барьерной структуре. В целом проникновение веществ через плаценту подчиняется общим закономерностям, регулирующим движение веществ через полупроницаемую биологическую мембрану (см. выше). В таблице 9 представлен перечень веществ достаточно легко проникающих через плаценту в организм плода.

Таблица 9. Примеры веществ, проникающих в кровь плода через плацентарный барьер

Группа веществ	Представители
1. Наркотические средства	Эфир, хлороформ, циклопропан, закись азота, трибромэтанол, трихлорэтилен, барбитураты, тиобарбитураты, уретан
2. Снотворные (седативные)	Барбитураты, хлоралгидрат, талидомид, этанол и другие спирты, бром
3. Аналгетики	Морфин и его аналоги
4. Антипиретики	Салицилаты, фенацетин, хинин
5. Гормоны	Эстроген, гестаген, андроген, кортикостероиды, анаболические стероиды, инсулин
6. Химеотерапевтические средства	Пенициллин, сульфониламиды, стрептомицин, эритромицин, ПАСК
7. Прочие	Иприты, триметиленмеламин, аминоптерин, свинец, мышьяк, тиоурацил, иод и т.д.

После прохождения барьера вещества оказываются в крови плода. Отсюда, в соответствии с общими закономерностями, они распределяются в его органах и тканях. Между взрослым организмом и плодом существует огромная разница в строении и свойствах тканей. Эти особенности лежат в основе иной реакции плода на многие токсиканты (см. ниже).

10. Депонирование

Под депонированием понимают особый вид распределения ксенобиотиков в организме, проявляющийся накоплением, а затем относительным постоянством их содержания в определенном органе или ткани, в течение нескольких суток - многих лет.

Депонирование имеет три основные причины: 1. Активный захват клетками ксенобиотика с последующим его удержанием; 2. Высокое химическое сродство вещества к определенным биомолекулам; 3. Значительная растворимость ксенобиотика в липидах.

Количественные характеристики процесса депонирования существенно зависят от условий, в которых они изучаются и потому носят достаточно относительный (больше/меньше) характер.

10.1. Депонирование вследствие химического сродства и растворимости в липидах

Различные токсиканты могут образовывать с биологическими молекулами ковалентные связи и таким образом накапливаться в тканях. Типичными примерами являются алкилирующие агенты типа ипритов, взаимодействующие с нуклеиновыми кислотами, многие металлы, образующие ковалентные связи с белками и другими лигандами и т.д. Мышьяк вследствие высокого сродства к кератину депонируется в ногтях и волосах. Свинец депонируется в костной ткани. Чрезмерное поступление железа в организм приводит к развитию гемосидероза, который может сохраняться на протяжении всей жизни.

Другой механизм депонирования - накопление липофильных веществ в жировой ткани. Таким образом, в организме в течение многих лет сохраняются полигалогенированные ароматические углеводороды (ПАУ), некоторые хлорорганические инсектициды (ДДТ и т.д.).

Существуют возможности влиять на процесс депонирования путем:

- прекращения поступления вещества в организм;
- усиления механизмов естественного выведения вещества. Так, кальций и свинец распределяются, депонируются и метаболизируют практически идентично. Поэтому фиксированный в костях свинец может быть мобилизован при понижении содержания кальция в крови. Усиление вентиляции легких при ингаляции карбогена усиливает выделение летучих веществ (эфир и т.д.) и высвобождение их из жировой ткани;
- введения веществ, взаимодействующих с ксенобиотиком. Вещества, имеющие высокое сродство к депонированному агенту, могут вступить с ними во взаимодействие и вывести из места депонирования. Таким способом можно удалить из организма некоторые тяжелые металлы, например свинец, с помощью комплексообразователей (ЭДТА, унитиола и т.д.).

10.2. Депонирование вследствие активного захвата ксенобиотика

Если вещество поступает в клетки против градиента концентрации, то оно может накапливаться в них. Это имеет место в определенных органах и тканях в отношении лишь очень ограниченного количества веществ. Механизм депонирования выявлен для некоторых аналогов биогенных аминов (5-ОН-триптамина, хлорфенилаланина и др.), белковых токсинов (холерного, дифтерийного, столбнячного, ботулотоксина), йода и др.

ГЛАВА 4.4. МЕТАБОЛИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ

Многие ксенобиотики, попав в организм, подвергаются биотрансформации и выделяются в виде метаболитов. В основе биотрансформации по большей части лежат ферментативные преобразования молекул. Биологический смысл явления - превращение химического вещества в форму, удобную для выведения из организма, и тем самым, сокращение времени его действия.

Метаболизм ксенобиотиков проходит в две фазы (рисунок 1).

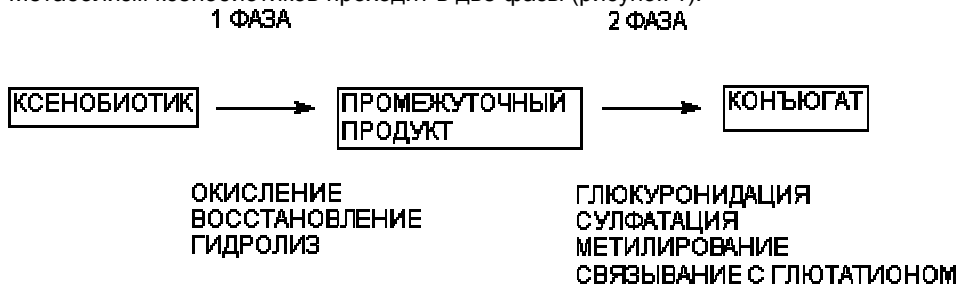


Рисунок 1. Фазы метаболизма чужеродных соединений

В ходе первой фазы окислительно-восстановительного или гидролитического превращения молекула вещества обогащается полярными функциональными группами, что делает ее реакционно-способной и более растворимой в воде. Во второй фазе проходят синтетические процессы конъюгации промежуточных продуктов метаболизма с эндогенными молекулами, в результате чего образуются полярные соединения, которые выводятся из организма с помощью специальных механизмов экскреции.

Разнообразие каталитических свойств ферментов биотрансформации и их низкая субстратная специфичность позволяет организму метаболизировать вещества самого разного строения. Вместе с тем, у животных разных видов и человека метаболизм ксенобиотиков проходит далеко не одинаково, поскольку ферменты, участвующие в превращениях чужеродных веществ, часто видоспецифичны.

Следствием химической модификации молекулы ксенобиотика могут стать:

1. Ослабление токсичности;
2. Усиление токсичности;
3. Изменение характера токсического действия;
4. Инициация токсического процесса.

Метаболизм многих ксенобиотиков сопровождается образованием продуктов существенно уступающих по токсичности исходным веществам. Так, роданиды, образующиеся в процессе биопревращения цианидов, в несколько сот раз менее токсичны, чем исходные ксенобиотики. Гидролитическое отщепление от молекул зарина, зомана, диизопропилфторфосфата иона фтора, приводит к утрате этими веществами способности угнетать активность ацетилхолинэстеразы и существенному понижению их токсичности. Процесс утраты токсиканом токсичности в результате биотрансформации обозначается как "метаболическая детоксикация".

В процессе метаболизма других веществ образуются более токсичные соединения. Примером такого рода превращений является, в частности, образование в организме фторуксусной кислоты при интоксикации фторэтанолом.

В ряде случаев в ходе биотрансформации ксенобиотиков образуются вещества, способные совершенно иначе действовать на организм, чем исходные агенты. Так, некоторые спирты (этиленгликоль), действуя целой молекулой, вызывают седативно-гипнотический эффект (опьянение, наркоз). В ходе их биопревращения образуются соответствующие альдегиды и органические кислоты (щавелевая кислота), способные повреждать паренхиматозные органы и, в частности, почки. Многие низкомолекулярные вещества, являющиеся факультативными аллергенами, подвергаются в организме метаболическим превращениям с образованием реакционноспособных промежуточных продуктов. Так, соединения, содержащие в молекуле амино- или нитрогруппу в ходе метаболизма превращаются в гидроксилamines, активно взаимодействующие с протеинами крови и тканей, формируя полные антигены. При повторном поступлении таких веществ в организм помимо специфического действия развиваются аллергические реакции.

Порой сам процесс метаболизма ксенобиотика является пусковым звеном в развитии интоксикации. Например, в ходе биологического окисления ароматических углеводородов инициируются свободно-радикальные процессы в клетках, образуются ареноксиды, формирующие ковалентные связи с нуклеофильными структурами клеток (белками, сульфгидрильными группами, нуклеиновыми кислотами и т.д.), активирующие перекисное окисление липидов биологических мембран (рисунок 2). В итоге инициируется мутагенное, канцерогенное, цитотоксическое действие токсикантов.

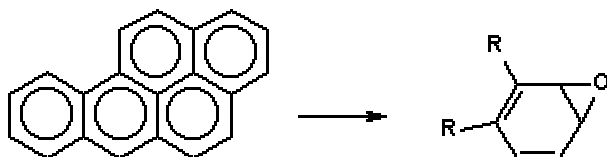


Рисунок 2. Образование ареноксидов в процессе метаболизма ароматических полициклических углеводородов при участии оксидаз смешанных функций (ОСФ)

Аналогично ареноксидам на клетки действуют N-оксиды, нитрозамины, гидроксилamines, также являющиеся канцерогенами и мутагенами. В опытах на собаках установлена прямая зависимость между

канцерогенной активностью (рак мочевого пузыря) и концентрацией в моче продуктов N-окисления веществ в ряду: 1-нафтиламин, 2-нафтиламин, 4-аминодифенил.

По такому же механизму действуют на организм галогенированный бензол, нафтанол и многие другие ксенобиотики.

Процесс образования токсичных продуктов метаболизма называется "токсификация", а продукты биотрансформации, обладающие высокой токсичностью - токсичными метаболитами. Во многих случаях токсичный метаболит является не стабильным продуктом, подвергающимся дальнейшим превращениям. В этом случае он также называется промежуточным или реактивным метаболитом. Реактивные метаболиты это как раз те вещества, которые часто и вызывают повреждение биосистем на молекулярном уровне. Общим свойством практически всех реактивных метаболитов является их электродефицитное состояние, т.е. высокая электрофильность. Эти вещества вступают во взаимодействие с богатыми электронами (нуклеофильными) молекулами, повреждая их. К числу последних относятся макромолекулы клеток, в структуру которых входят в большом количестве атомы кислорода, азота, серы. Это, прежде всего, белки и нуклеиновые кислоты. Реактивные метаболиты либо присоединяются к нуклеофильным молекулам, образуя с ними ковалентные связи, либо вызывают их окисление. В обоих случаях структура макромолекул нарушается, следовательно, нарушаются и их функции.

Биоактивация далеко не всегда сопровождается повреждением биосубстрата, поскольку одновременно в организме протекают процессы детоксикации и репарации. Интенсивность этих процессов может быть достаточной для компенсации ущерба, связанного с образованием реактивных метаболитов. Тем не менее при введении высоких доз токсиканта, повторном воздействии защитные механизмы могут оказаться несостоятельными, что и приведет к развитию токсического процесса.

1. Концепция I и II фазы метаболизма ксенобиотиков

I фаза метаболизма в широком смысле может быть определена, как этап биотрансформации, в ходе которого к молекуле соединения либо присоединяются полярные функциональные группы, либо осуществляется экспрессия таких групп, находящихся в субстрате в скрытой форме. Это достигается либо путем окисления или (значительно реже) восстановления молекул с помощью оксидо-редуктаз, либо путем их гидролиза эстеразами и амидазами.

Фаза II - этап биологической конъюгации промежуточных продуктов метаболизма с эндогенными молекулами, такими как глутатион, глюкуроновая кислота, сульфат и т.д. Специфические системы транспорта конъюгированных дериватов обеспечивают их выведение из организма.

В ходе биопревращений липофильный и, следовательно, трудновыводимый ксенобиотик становится гидрофильным продуктом, что обуславливает возможность его быстрой экскреции.

Классическим примером биотрансформации ксенобиотиков является метаболизм бензола в организме (рисунок 3)

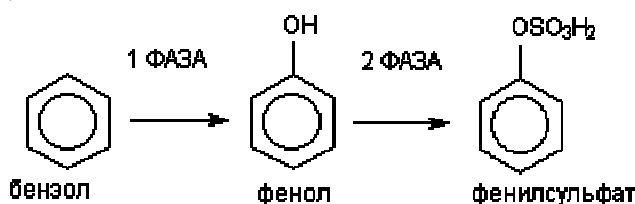


Рисунок 3. Метаболизм бензола

В ходе I фазы метаболизма обеспечивается превращение жирорастворимого субстрата в полярный продукт путем включения в молекулу гидроксильной группы. В ходе II фазы образовавшийся фенол взаимодействует с эндогенным сульфатом, в результате полярность образующегося продукта еще более возрастает. Фенилсульфат прекрасно растворяется в воде и легко выделяется из организма.

Далеко не всегда преобразование молекулы представляет собой простое чередование I и II фаз метаболизма. Возможна и более сложная последовательность реакций биопревращений (рисунок 4).

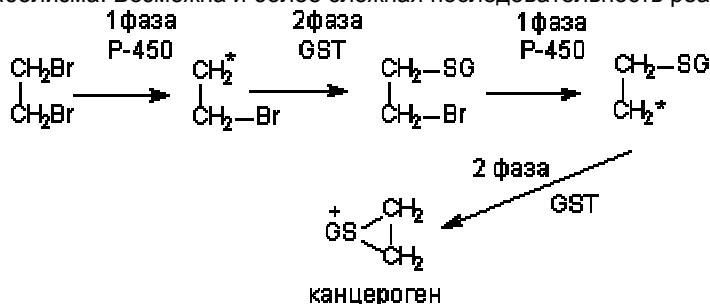


Рисунок 4. Схема последовательности метаболических превращений дибромэтана (GST - глутатион-S-трансфераза; GS- глутатион)

2. Локализация процессов биотрансформации

Основным органом метаболизма ксенобиотиков в организме человека и млекопитающих является печень, главным образом благодаря разнообразию и высокой активности здесь ферментов биотрансформации. Кроме того, портальная система обеспечивает прохождение всех веществ, поступивших в желудочно-кишечный тракт, именно через печень, до того, как они проникнут в общий кровоток. Это также определяет функциональное предназначение органа. Тончайшая сеть печеночных капилляров, огромная площадь контакта между кровью и поверхностью гепатоцитов, обеспечивающаяся

микроворсинками базальной поверхности печеночных клеток, обуславливают высокую эффективность печеночной элиминации токсиканта на клеточном уровне (рисунок 5).



Рисунок 5. Локализация этапов метаболических превращений ксенобиотиков в организме

Продукты I фазы метаболизма поступают в общий кровоток и могут оказывать действие на органы и системы. Печень выбрасывает в кровь и продукты II фазы метаболизма. Из крови продукты превращения могут захватываться почками, легкими, другими органами, повторно печенью для экскреции с желчью. С желчью метаболиты поступают в кишечник, где частично реабсорбируются и повторно поступают в печень (цикл печеночной рециркуляции).

Несмотря на доминирующую роль печени в метаболизме ксенобиотиков, другие органы также принимают участие в этом процессе. Почки и легкие содержат ферменты I и II фаз метаболизма. Особенно велика роль почек, поскольку в этом органе имеется специфическая система захвата и катаболизма продуктов конъюгации, образующихся в печени. Активность других органов, таких как кишечник, селезенка, мышечная ткань, плацента, мозг, кровь - значительно ниже, однако наличие ферментов, катализирующих процессы биотрансформации, при отравлении токсифицирующимися ксенобиотиками, имеет ключевое значение в развитии патологических процессов в этих органах. В процессе внепеченочного метаболизма могут образовываться продукты, как аналогичные продуктам печеночного происхождения, так и отличные от них. Иногда в ходе внепеченочного метаболизма может осуществляться активация метаболитов, образующихся в печени.

Ферменты, участвующие в метаболизме ксенобиотиков, локализованы в основном внутриклеточно. Небольшое их количество определяется в растворимой фракции цитозоля, митохондриях, большинство же связано с гладким эндоплазматическим ретикулом (таблица 1). Методом ультрацентрифугирования гладкий эндоплазматический ретикулум выделяется из исследуемых клеток в виде фрагментов мембранных структур, называемых микросомами. Поэтому основная группа ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, получила название "микросомальные ферменты".

Таблица 1. Ферментативные реакции метаболизма ксенобиотиков и локализация ферментов внутри гепатоцита.

1 ФАЗА

ТИП РЕАКЦИИ	ЛОКАЛИЗАЦИЯ
1. Окисление:	
Гидроксилирование	микросомы
Декарбоксилирование	микросомы
Образование оксидов	микросомы
Десульфирование	микросомы
Дегалогенирование	микросомы
Окисление спиртов	микросомы, цитозоль
Окисление альдегидов	цитозоль
2. Восстановление:	
Восстановление альдегидов	цитозоль
Азо-восстановление	микросомы
Восстановление нитросоединений	микросомы, цитозоль
3. Гидролиз:	
Расщепление эфиров	микросомы, цитозоль
Расщепление амидных связей	микросомы, цитозоль

2 ФАЗА

ТИП РЕАКЦИИ	ЛОКАЛИЗАЦИЯ
Конъюгация с глюкуроновой кислотой	микросомы
Конъюгация с сульфатом	цитозоль
Ацилирование	микросомы, цитозоль
Конъюгация с глутатионом	цитозоль
Метилирование	цитозоль

Часть ферментных систем метаболизма ксенобиотиков локализируются в жидкостях организма. Прежде всего, это эстеразы плазмы крови, участвующие в гидролизе целого ряда чужеродных веществ, таких как ФОС, некоторые алкалоиды (атропин), лекарства (суксаметоний, прокаин) и др.

3. Первая фаза метаболизма

Разнообразие чужеродных химических веществ, способных подвергаться в организме метаболическим превращениям, является следствием многообразия энзимов, участвующих в I фазе биотрансформации и их низкой субстратной специфичности. Многие из энзимов существуют в нескольких формах (изоферменты), различающихся по своим физико-химическим свойствам (молекулярная масса, электрофоретическая подвижность, абсорбцией света с разными длинами волн), отношению к индукторам и ингибиторам (см. ниже) и активностью в отношении субстратов различного строения.

Энзимы I фазы, участвующие в процессе биотрансформации ксенобиотиков, можно классифицировать в соответствии с типом активируемой ими реакции:

1. Оксидазы смешанной функции: цитохромР-450 (Р-450) и флавинодержащие монооксигеназы (ФМО);
2. Простогландинсинтетазы - гидропероксидазы (ПГС) и другие пероксидазы;
3. Алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы;
4. Флавопротеинредуктазы;
5. Эпоксидгидролазы;
6. Эстеразы и амидазы.

Примеры веществ, подвергающихся метаболизму при участии указанных энзимов, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Примеры веществ, подвергающихся биотрансформации при участии энзимов I фазы

Энзимы и реакции	Вещества
1. ЦитохромР-450 -эпоксид/гидроксилирование -N,O,S-деалкилирование -N,S,P-окисление -десульфурация -дегалогенирование -нитро-восстановление -азо-восстановление	Алдрин, афлатоксины Этилморфин, метилмеркаптан Тиобензамид, 2-ацетиламинофторид Паратион, сероуглерод CCl ₄ , хлороформ Нитробензол О-аминоазотолуол
2. ФМО -N,S,P-окисление -десульфурация	Никотин, тиомочевина
3. Простогландинсинтетаза -дегидрирование -N-деалкилирование -эпоксид/гидроксилирование -окисление	Ацетаминофен Диметиланилин Бенз(а)пирен Билирубин
4. Алкогольдегидрогеназа -окисление -восстановление	Метанол, этанол, гликоли Альдегиды, кетоны
5. Альдегиддегидрогеназа -окисление	Альдегиды
6. Эстеразы, амидазы -гидролиз	Параоксон, зарин
7. Эпоксидгидролазы -гидролиз	Ареноксины

Особое значение для биотрансформации ксенобиотиков имеют микросомальные энзимы. Как уже указывалось, морфологическим эквивалентом микросом в интактных клетках является гладкий эндоплазматический ретикулум. Ферменты микросом не принимают участие в окислении большинства эндогенных соединений, таких как аминокислоты, нуклеотиды, сахара и т.д., для которых существуют специфические пути превращения. Однако в метаболизме некоторых эндогенных соединений (например, стероидов) микросомальные оксидазы принимают участие наряду со специфическими ферментными комплексами. Под влиянием этих энзимов могут метаболизировать некоторые жирные кислоты, простогландины и т.д. Кофакторы микросомальных монооксигеназ, принимающих участие в метаболических превращениях ксенобиотиков, представлены на рисунке 6.

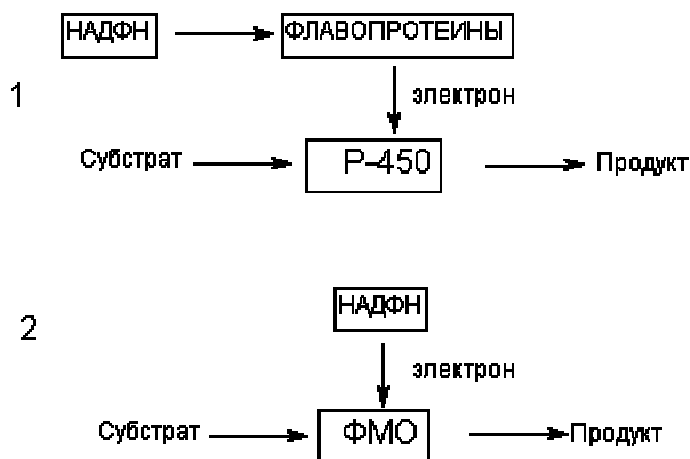
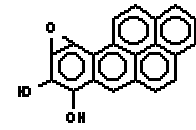


Рисунок 6. Кофакторы энзимов I фазы метаболизма ксенобиотиков: (1) цитохром P-450 зависимые оксидазы (P-450); (2) флавинсодержащие монооксигеназы (ФМО)

В ходе микросомального окисления часто образуются реакционноспособные промежуточные продукты. Некоторые из них нестабильны и подвергаются дальнейшему превращению, другие достаточно устойчивы.

В таблице 3 представлены некоторые примеры биопревращений, приводящих к образованию реактивных продуктов.

Таблица 3. Примеры биотрансформации ксенобиотиков с образованием активных промежуточных продуктов в ходе I фазы метаболизма

Исходное вещество	Продукт реакции	Класс соединения	Энзимы
CHCl_3 хлороформ	ClC(=O)Cl фосген	ацилгалоген	P-450
$\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{OH}$ аллиловый спирт	CH_2CHCHO акролеин	ненасыщенный альдегид	алкоголь дегидрогеназа
$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ дихлорэтан	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ хлорацетальдегид	альдегид	P-450
$(\text{CH}_3)_2\text{NNO}$ диметил нитрозамин	CH_3N_2^+ ион метилдiazония	алкил diaзониум	P-450
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ гексан	$\text{CH}_3\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ гександион	дикетон	P-450 алкоголь дегидрогеназа
ClCH=CH_2 винилхлорид	$\text{ClCH}(\text{O})\text{CH}_2$ хлорэтиленэпоксид	эпоксид	P-450
 бенз(а)пирен	 бензпирендиолэпоксид	диол эпоксид	P-450 эпоксидгидролаза пероксидаза
 бензол	 бензохинол	хинол	P-450 пероксидаза
CCl_4 тетрахлор метан	CCl_3^* тетрахлорметил-радикал	алкильный радикал	P-450
 p-аминофенол	 p-бензохинонимин	хинонимин	пероксидаза

3.1. Окислительно-восстановительные превращения

3.1.1. Оксидазы смешанной функции

3.1.1.1. Цитохром P-450-зависимая монооксигеназная система

Энзимы рассматриваемой группы, цитохромР-450 зависимые оксидазы (Р-450), как правило, обладают низкой субстратной специфичностью, вызывая превращения веществ самого разного строения, и потому часто называются оксидазами смешенной функции (ОСФ). Р-450 относятся к группе гемопротеинов типа цитохромов b - пигментов, активно связывающих монооксид углерода. Название "цитохромР-450" энзимы получили в силу того, что максимум поглощения света пигментом, связанным с СО, осуществляется при длине волны 450 нм.

Р-450 представляют собой семейство энзимов, локализующихся в эндоплазматическом ретикулуме, которые могут быть разделены с помощью иммунологических и иных методов на несколько подсемейств. Отдельные ткани содержат несколько различных изоформ Р-450. Встречаются тканеспецифичные формы энзимов. Изоферменты Р-450 часто проявляют перекрестную субстратную специфичность, таким образом, как правило, более чем один изофермент принимает участие в метаболизме ксенобиотика. Наличие специфических форм энзимов обусловлено генетическими механизмами, а повышение содержания в тканях различных изоферментов индуцируется действием на организм различных ксенобиотиков: лекарств, ядов, экотоксикантов. Р-450 подвержены не только активации, но и инактивации, как исходными ксенобиотиками, так и их реактивными метаболитами.

Реакции микросомального окисления, протекающие при участии Р-450, как правило, зависят от содержания O_2 и НАДФН в среде. Молекулярный кислород активируется цитохромомР-450 (или другими цитохромами, например, Р-448). Активация осуществляется с помощью НАДФН при участии флавин-содержащего энзима НАДФН-цитохромР-450 редуктазы. Поскольку донором электронов в превращениях субстратов, катализируемых этими энзимами, является НАДФН, суммарное уравнение реакции может быть записано следующим образом:



ЦитохромР-450, НАДФН-цитохромР-450 редуктаза и фосфолипиды биологических мембран, в которые встроены оба энзима, образуют микросомальный монооксигеназный комплекс. Несмотря на то, что энзимы комплекса связаны с биологическими мембранами, их свойства могут быть изучены *in vitro*.

Установлены основные закономерности протекания ферментативных процессов с участием микросомального монооксигеназного комплекса (рисунок 7).

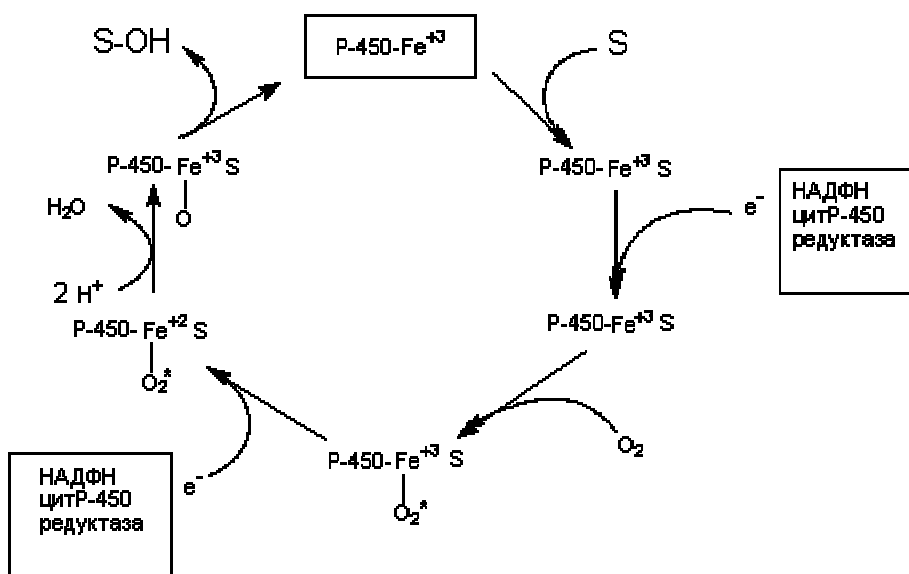


Рисунок 7. Упрощенная схема превращения субстрата при участии Р-450

Как видно из рисунка на начальном этапе ксенобиотик (S) вступает во взаимодействие с окисленной формой цитохромаР-450. Затем к этому комплексу с помощью НАДФН-зависимой цитохромР-450 редуктазы присоединяется электрон, донором которого является восстановленный НАДФН. После этого комплекс взаимодействует с кислородом. После взаимодействия со вторым электроном (донор - НАДФН) происходит активация связанного с цитохромом кислорода, который приобретает способность связывать протоны и образовывать воду. Образовавшаяся при этом форма цитохромаР-450 гидроксилирует субстрат.

Метаболизируемое вещество не связывается непосредственно с геминной группой цитохромаР-450. Оно присоединяется к белковой части цитохрома. Процесс превращения ксенобиотиков чувствителен к СО, поскольку это вещество вытесняет кислород из связи с железом геминной группы цитохромаР-450. Некоторые оксидазы резистентны к СО (образование N-оксидов).

Поскольку Р-450 - гемопротеины, их активность отчасти регулируется процессами синтеза гема, т.е. связана с метаболизмом железа. Нарушение метаболизма, голодание, понижение соотношения НАДФН/НАДФ⁺ могут приводить к снижению активности Р-450.

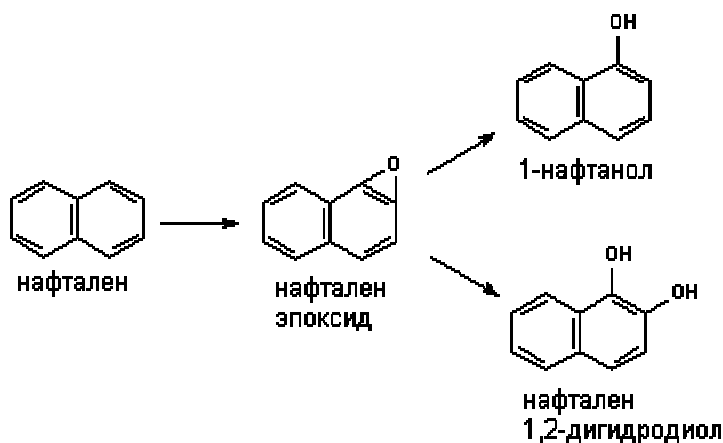
3.1.1.1.1. Реакции, катализируемые цитохромомР-450

Окисление ксенобиотиков при участии Р-450 - основной механизм их биотрансформации в I фазе метаболизма. Р-450 катализирует окисление практически всех классов органических молекул. Субстратом для энзимов являются и простые молекулы типа хлороформа и стероиды и сложные гетероциклические соединения, например антибиотик циклоспорин. Р-450 могут катализировать не только окисление, но и восстановление некоторых биосубстратов, например четыреххлористого углерода, галотана, некоторых

других галогенированных углеводородов с образованием свободных радикалов. Такое необычное превращение реализуется в условия пониженного парциального давления кислорода в тканях.

Эпоксидирование и гидроксилирование ароматических соединений.

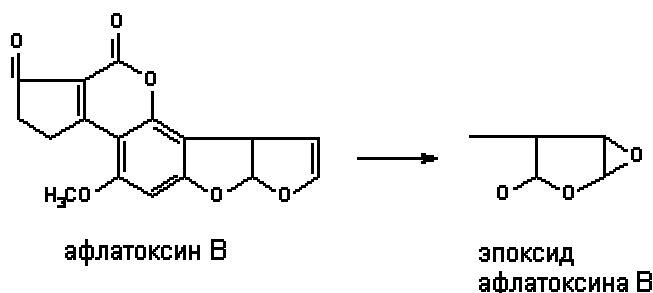
Метаболизм полициклических и ароматических углеводородов сопровождается образованием реакционно-способных промежуточных продуктов метаболизма, в частности ареноксидов, способных вызывать некроз клеток и являющихся канцерогенами. Таким образом осуществляется, в частности, превращение бенз(а)пирена (см. выше) или нафталина:



Эпоксид, возникающий в процессе метаболизма, может подвергаться неэнзиматическому гидролизу с образованием нафтанола, либо, взаимодействуя с эпексидгидролазой, превращаться в дигидродиол, а также образовывать конъюгаты с глутатионом, которые выделяются из организма в виде производных меркаптуровой кислоты.

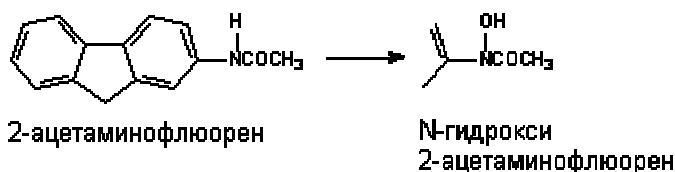
Эпоксидирование алифатических и алициклических соединений.

Многие алифатические и алициклические соединения, содержащие в молекуле непредельные связи метаболизируют с образованием чрезвычайно стабильных эпексидов (превращение алдрина в диалдрин). Это же превращение лежит в основе образования канцерогенных продуктов метаболизма афлатоксинов:

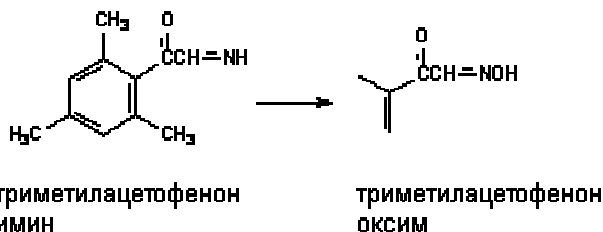


N-окисление.

Превращению могут подвергаться такие вещества, как анилин и его производные, ацетаминфлюорен и др. В результате окисления атома азота могут образовываться гидроксилламины, оксими и N-оксиды:

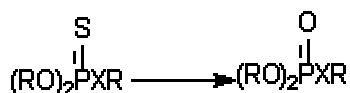


Оксимы образуются в процессе гидроксилирования иминов или первичных аминов:



Десульфуривание и расщепление эфиров.

Фосфоротиоаты (1) и фосфородитиоаты (2), являющиеся представителями большой группы инсектицидов, приобретают способность угнетать активность ацетилхолинэстеразы (за счет этого реализуется их биологическая активность) в результате ферментативного преобразования соединений:

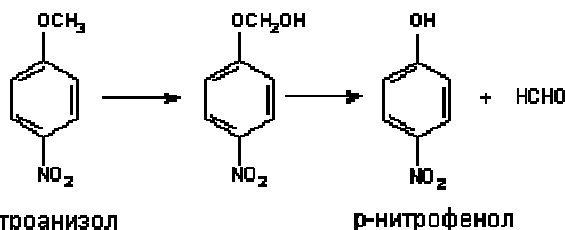


X = O (1); X = S (2).

Процесс разрушения эфирных связей при атоме фосфора ФОС также во многом обусловлен действием Р-450, хотя процесс может идти и при участии гидролитических энзимов.

Оксилительное деалкилирование.

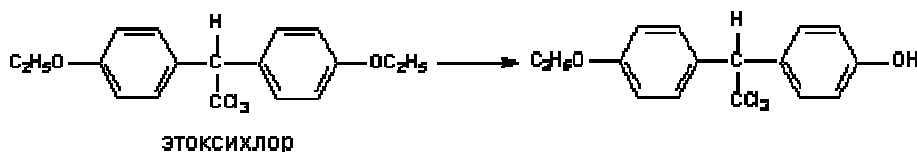
Классическим примером превращения данного типа является О-деалкилирование р-нитроанизола. Поскольку продукт превращения легко определяется, реакцию нередко используют для оценки активности Р-450:



р-нитроанизол

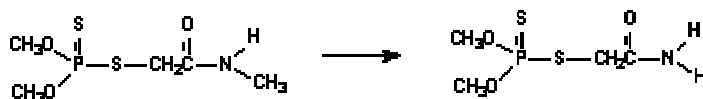
р-нитрофенол

Другим примером может служить метаболизм инсектицида этоксихлора:



этоксихлор

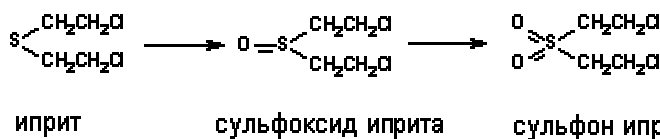
В результате деятельности монооксигеназ возможно и N-деалкилирование ксенобиотиков:



диметоат

Окисление тиозэфиров.

При участии цитохрома Р-450 и других монооксигеназ происходит окисление тиозэфирных связей, в молекулах таких ксенобиотиков как хлорпромазин, альдикарб, метиокарб и др. Этот вид превращения характерен также для метаболизма сернистого иприта:



иприт

сульфоксид иприта

сульфон иприта

Установлено, что при этом токсичность вещества возрастает (сульфон иприта токсичнее исходного вещества).

3.1.1.2. Флавиносодержащие монооксигеназы (ФМО)

Флавиносодержащие монооксигеназы (ФМО) также локализируются в эндоплазматическом ретикулуме. В отличие от Р-450, ФМО встречается в тканях в форме одного, собственного виду, энзима, не подвергающегося индукции. ФМО, получая электрон непосредственно от НАДФН, окисляет ксенобиотики лишь определенного строения, главным образом азотсодержащие вещества основного характера (гидразины, ариламины) и тиокарбамильные соединения (тиоацетамид и т.д.). Примеры некоторых превращений представлены на рисунке 8. Многие из субстратов ФМО одновременно являются субстратами и Р-450.

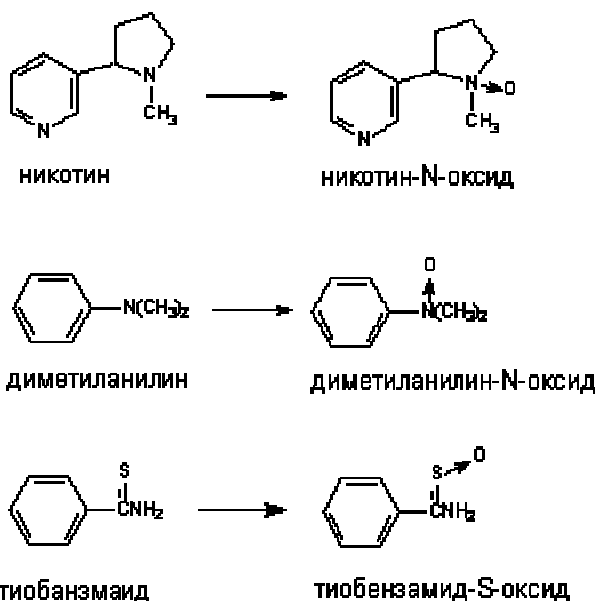


Рисунок 8. Превращение ксенобиотиков при участии флавиномоноксигеназы

3.1.2. Простогландинсинтетаза-гидропероксидаза и другие пероксидазы

Обширная группа пероксидаз участвует в разрушении перекиси водорода и других перекисей, превращая их в воду и спирты. В ходе этих реакций возникают побочные продукты, обладающие окислительными свойствами, способные взаимодействовать с различными химическими веществами, такими как ароматические амины, фенолы, гидрохиноны, алкены, полициклические ароматические углеводороды:



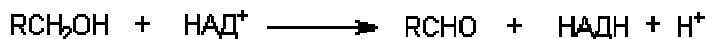
Например, лейкоцитарная пероксидаза, пероксидаза эозинофилов разрушают перекись водорода, продуцируемую в легких клетками крови при их контакте с кислородом. Поэтому эти ферменты могут участвовать в биопревращении чужеродных веществ в легких.

Простогландинсинтетаза активирует образование простогландинов (гидроперекисей жирных кислот) из арахидоновой кислоты. В ходе последующего восстановления гидроперекисей окисляются другие субстраты и среди них ксенобиотики, содержащиеся в тканях. Такой механизм окисления веществ называется коокислацией. В ходе процесса потребляется арахидоновая кислота и ксенобиотики, а продуцируются простогландины и окисленные формы этих ксенобиотиков. Широкое распространение ПГС в тканях млекопитающих позволяет предположить, что этот механизм может лежать в основе целого ряда реакций биопревращения чужеродных соединений, особенно в тканях с низкой активностью Р-450, например, мозговом слое почек, эндотелии мочевого пузыря и т.д.

3.1.3. Дегидрогеназы

Помимо микросом, ферменты, участвующие в окислении ксенобиотиков, выявляются также в митохондриях и растворимой фазе цитозоля. Процесс дегидрирования ксенобиотиков проходит в организме чаще в форме гидроксирования. Среди прочих веществ такому превращению подвергаются многочисленные спирты и альдегиды при участии алкоголь- и альдегиддегидрогеназ. Благодаря высокой активности этих ферментов, печень - основной орган метаболизма спиртов. Ферменты идентифицированы также в почках и легких.

НАД-зависимая алкогольдегидрогеназа печени обладает невысокой субстратной специфичностью. Так, под влиянием этого фермента метаболизируют не только первичные и вторичные алифатические спирты, но и ароматические спирты, а также такие соединения, как р-нитробензиловый спирт и т.д. В результате окисления образуются соответствующие альдегиды:



Алькогольдегидрогеназа существует в множественной форме с перекрестной субстратной специфичностью. Ее активность индуцируется этанолом и угнетается альдегидами.

В превращении альдегидов в соответствующие кислоты принимает участие НАД-зависимые альдегиддегидрогеназы. Специфическая формальдегиддегидрогеназа в качестве кофактора использует еще и восстановленный глутатион. В организме грызунов (мыши, крысы, кролики) метаболизм некоторых альдегидов (например, превращение хлоралгидрата в трихлоруксусную кислоту) проходит при участии альдегиддегидрогеназы с иными свойствами.

Среди веществ, метаболизируемых при участии рассматриваемых ферментов наибольшее токсикологическое значение имеют метанол, этиленгликоль, аллиловый спирт. В процессе метаболизма этих веществ образуются высоко токсичные промежуточные (формальдегид, гликолиевый альдегид) и конечные (муравьиная кислота, оксалат) продукты.

Процесс дегидрирования лежит в основе превращений целого ряда ароматических соединений. Так, в ходе метаболизма бензойной кислоты образуется гиппуровая кислота. Участвующие в превращении ферменты локализованы в митохондриях.

3.1.4. Флавопротеинредуктазы

Флавопротеинредуктазы участвуют в метаболизме некоторых ксенобиотиков, причем превращение в частности хинонов приводит к генерации свободных радикалов в клетках. Продукты превращения хинонов могут переносить электроны на молекулярный кислород, что сопровождается регенерацией исходного субстрата и инициацией образования каскада кислородных радикалов. Образование свободных радикалов – один из общих механизмов цитотоксичности (рисунок 9).

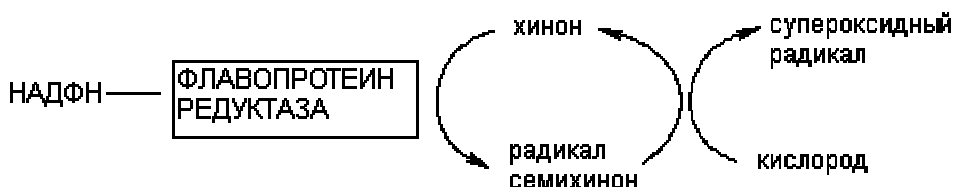


Рисунок 9. Образование кислородных радикалов в результате окислительно-восстановительного цикла хинона, катализируемого флавопротеинредуктазой

Активируемое таким образом превращение субстратов, дающее начало образованию кислородных радикалов, обозначается как "окислительно-восстановительный цикл". Помимо хинона по такому механизму метаболизируют нитроароматические соединения, биспиридины и т.д. К числу токсикантов, активирующих свободнорадикальные процессы в клетке в процессе метаболизма при участии флавопротеинредуктаз, относятся в частности пестицид паракват, противоопухолевое средство адриамицин, антибиотик нитрофурантион, комплексные соединения железа и меди (см. раздел "Механизмы цитотоксичности").

3.1.5. Восстановление

В тканях человека и других млекопитающих содержатся ферменты, восстанавливающие молекулы некоторых ксенобиотиков. К их числу относятся, в частности, нитрозоредуктазы (превращают группы NO_2^- в NH_2^-), нитроредуктазы (восстанавливают нитраты до нитритов), азоредуктазы (активируют восстановительное расщепление азогрупп с образованием первичных аминогрупп), дегалогеназы (контролируют восстановительное дегалогенирование таких веществ как гексахлоран, ДДТ и др.).

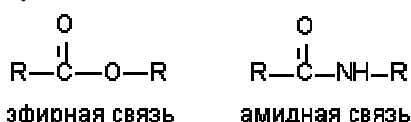
3.2. Гидролитические превращения

3.2.1. Расщепление эфиров

В тканях человека и животных, а также в жидкостях организма, например крови, содержатся ферменты, обладающие эстеразной активностью. Их низкая специфичность обеспечивает гидролиз эфиров различного строения. Так, в плазме крови содержатся эстеразы, разрушающие эфиры холина, прокаина, производных прокаина и др. Среди наиболее изученных: карбоксилэстераза и арилэстераза. Эфиры фосфорной кислоты в крови и тканях также расщепляются эстеразами. Гидролиз эфиров изменяет биологическую активность веществ.

3.2.2. Расщепление амидов кислот

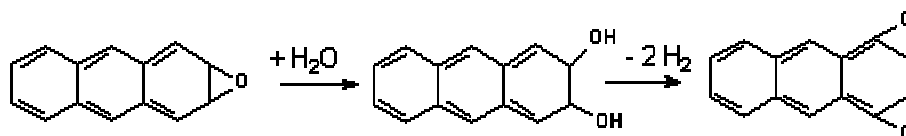
Токсиканты, содержащие эфирные связи расщепляются в организме с большой скоростью (см. выше). Результатом такого расщепления является изменение токсичности ксенобиотиков. При синтезе новых токсикантов (пестицидов) для повышения их стабильности в организме в молекулу вместо эфирной, вводят амидную связь.



Некоторые ткани содержат ферменты, разрушающие и амидные группировки (печень: дезаминидазы). Однако активность ферментов, разрушающих амидные связи в тканях млекопитающих, низка и потому процесс метаболизма таких соединений проходит медленно.

3.2.3. Эпоксидгидролазы

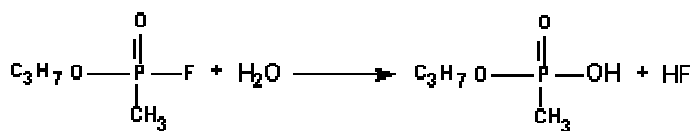
Эпоксидгидролазы активируют превращение эпоксидов в трансдигидродиолы. Описаны микросомальная и цитозольная фракции фермента. Для осуществления превращения ксенобиотиков не требуется присутствие в среде кофакторов. Под влиянием фермента осуществляется гидролиз моноэпоксидов полициклических ароматических углеводородов. Образующиеся при этом дигидродиолы являются субстратами Р-450, которые превращают их в диэпоксиды:



Диэпоксиды являются более активными канцерогенами, чем исходные моноэпоксиды.

3.2.4. Другие гидролазы

В 1955 году Mounter et al. обнаружили в разных тканях и крови млекопитающих фермент (флюорогидролаза), активирующий отщепление от атома фосфора высокотоксичных фосфорорганических соединений (ДФФ, зарин, зоман и т.д.) атом фтора. Токсичность веществ, в процессе такого превращения, резко снижается (рисунок 10).



зарин

Рисунок 10. Гидролиз зарина при участии флюорогидролазы

Наивысшая активность энзима определяется в печени, наименьшая в мозге. Ионы Mg^{+2} , производные пиридина и имидазола повышают активность флюорогидролазы. Соли ртути, меди угнетают активность.

4. Вторая фаза метаболизма. Конъюгация

Превращение молекул в первой фазе биотрансформации усиливает их полярность, уменьшает способность растворяться в липидах. Уже только благодаря этому целый ряд чужеродных соединений лучше выделяется с мочой. Эффект еще более усиливается, когда к образовавшимся в ходе 1 фазы метаболизма продуктам присоединяются такие эндогенные вещества, как ацетат, сульфат, глюкуроновая кислота, глутатион и т.д. Как и энзимы I фазы метаболизма ксенобиотиков, энзимы II фазы обладают слабой субстратной специфичностью и участвуют в превращениях большой группы химических веществ.

Рассматриваемую группу энзимов можно классифицировать следующим образом:

1. Энзимы, формирующие эфирные или амидные связи с промежуточными метаболитами:

- ацетил КоА: амин N-ацетилтрансфераза;
- сульфотрансфераза;
- УДФ-глюкуронозилтрансфераза.

2. Энзимы, активирующие конъюгацию веществ с глутатионом:

- глутатион S-трансферазы.

3. Энзимы, активирующие конъюгацию веществ с цистеином:

- цистеин-конъюгирующие β -лиазы.

Общая характеристика реакций конъюгации ксенобиотиков представлена в таблице 4.

Таблица 4. Характеристика основных реакций конъюгации ксенобиотиков

Реакция	Присоединяемый агент	Функциональная группа ксенобиотика
А. Реакции, протекающие при участии активированных форм присоединяемых агентов		
Конъюгация с глюкуроновой кислотой	УДФ-глюкуроновая кислота	-OH; -COOH; NH_2 ; $-\text{NR}_2$; -SH; -CH
Конъюгация с глюкозой	УДФ-глюкоза	-OH; -SH; COOH; =NH
Сульфатация	ФАФС	-OH; - NH_2 ; -SH
Метилирование	S-аденозилметионин	-OH; - NH_2
Ацетилирование	Ацети КоА	-OH; - NH_2
Детоксикация цианида	Сульфон-сульфид	-CN
Б. Реакции, протекающие при участии активированных форм ксенобиотиков		
Конъюгация с глутатионом	Глутатион	Ареноксины; эпоксины; галогенированные алкильные и арильные углеводороды
Конъюгация с аминокислотами	Глицин; глутамин; орнитин; таурин; цистеин	-COOH

(J. Caldwell, 1979)

В ряде случаев, в ходе метаболизма ксенобиотиков во II фазе также образуются токсичные продукты (токсификация).

4.1. Ацетилирование

Аминогруппы ароматических соединений часто подвергаются ацетилированию. Уксусная кислота переносится на аминогруппу в форме ацетил-КоА с помощью соответствующих трансфераз, в частности - ацетил-КоА:амин-N-ацетилтрансферазы.



Ацетилированию могут подвергаться ариламингруппы, сульфамидные группы, алифатические амины, группы гидразина. У людей выражены генетически обусловленные различия в способности к реакции N-ацетилирования. Замедленное ацетилирование отмечается у гомозиготных по рецессивному аллелю индивидов. Высокая активность ацетилирования отмечается у гетерозиготных индивидов или людей, гомозиготных по доминантному аллелю.

4.2. Другие реакции ацилирования

Не только уксусная кислота, но и другие органические кислоты способны превращаться в организме в активную форму, вступая во взаимодействие с КоА (жирные кислоты, карбоновая кислота, бензойная кислота, фенилуксусная кислота и др.). В этой форме вещества вступают в реакцию взаимодействия с соединениями, содержащими аминогруппу (глицином, глутаматом), с образованием конъюгатов. Так, известно, что при поступлении в организм бензойной кислоты с мочой выделяется гиппуровая кислота. Гиппуровая кислота представляет собой конъюгат бензойной кислоты с глицином. В данном случае эндогенная молекула глицина выступает в качестве акцептора, с которым связывается бензойная кислота, активированная КоА. В организме человека активированная форма фенилуксусной кислоты связывается с глутаматом.

4.3. Конъюгация с глюкуроновой кислотой

Глюкуроновая кислота (рисунок 11) имеет большое значение в механизме биотрансформации ксенобиотиков.

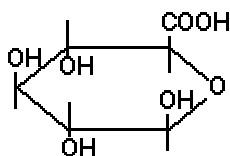


Рисунок 11. Глюкуроновая кислота

Она активно присоединяется к молекулам алифатических и ароматических спиртов, органических кислот, серосодержащих соединений. Процесс конъюгации приводит к образованию эфиров глюкуроновой кислоты - глюкуронидов.

В реакцию конъюгации глюкуроновая кислота вступает в активной форме уридиндифосфоглюкуроновой кислоты (УДФГК) и переносится на молекулу-акцептор с помощью соответствующей трансферазы: УДФ-глюкуронозилтрансферазы (УДФ-ГТ). Энзим идентифицирован в микросомальной фракции клеток печени, почек, других органов. УДФГК образуется в процессе взаимодействия глюкозо-1-фосфата с уридинтрифосфорной кислотой (УТФ) в растворимой фракции цитозоля клеток. УДФ-ГТ индуцируется при поступлении в организм таких веществ, как фенобарбитал, ПАУ, диоксины, полигалогенированные бифенилы.

Примеры типов реакции глюкуронидирования представлены на рисунке 12.

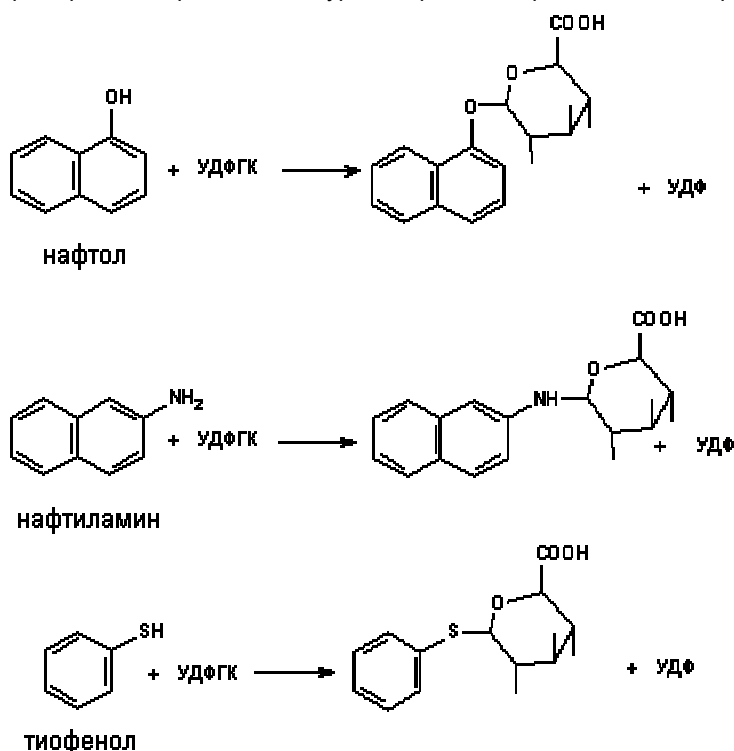


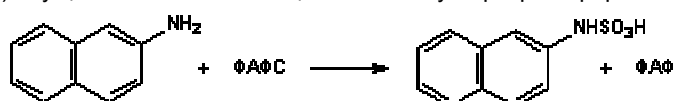
Рисунок 12. Некоторые реакции глюкуронидирования ксенобиотиков

С помощью конъюгации с глюкуроновой кислотой метаболизируют и некоторые эндогенные вещества, например стероиды и билирубин.

В кишечнике под влиянием глюкуронидазы, энзима кишечной микрофлоры, глюкурониды могут расщепляться с образованием веществ, способных к реабсорбции и обратному поступлению в кровь (явление кишечно-печеночной циркуляции ксенобиотика).

4.4. Конъюгация с сульфатом

Различные соединения, содержащие фенольные группы выделяются из организма в виде конъюгатов с сульфатом. Эндогенные сульфаты могут взаимодействовать также с ароматическими аминами. Процесс взаимодействия проходит в несколько этапов. На первом этапе образуется активная форма сульфата - 3-фосфоаденазин-S-фосфосульфат (ФАФС). Перенос сульфогруппы на молекулу-акцептор (фенол, стероиды и др.) осуществляется с помощью энзима сульфотрансферазы:

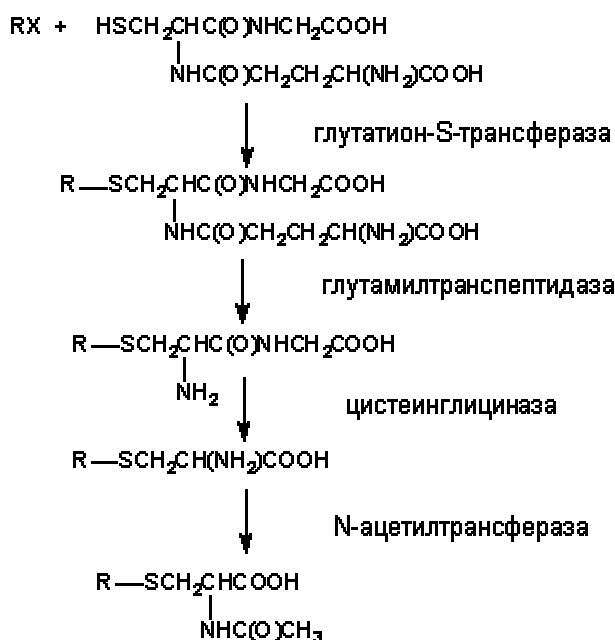


В зависимости от строения молекулы-акцептора в процесс вовлекаются различные сульфотрансферазы. Энзимы не индуцируются ксенобиотиками. Их активность может быть угнетена пентахлорфенолом, 2,6-дихлор-4-нитрофенолом. Сульфотрансферазы обладают относительно высокой субстратной специфичностью. Система конъюгации сульфата локализуется главным образом в цитозольной фракции гепатоцитов. Запасы ФАФС в печени незначительны, легко истощаются, что при высоких

Органические вещества, содержащие в молекуле лабильные атомы водорода, галогенов и др., в организме могут взаимодействовать с SH-содержащими эндогенными соединениями: цистеином, ацетилцистеином, глутатионом и т.д.

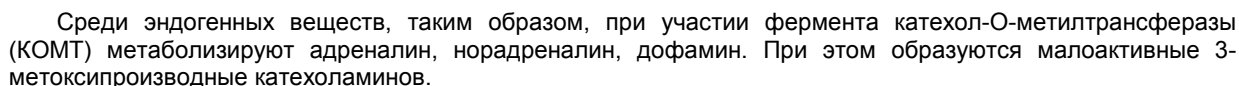
$$\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{Br} + \text{GSH} \xrightarrow{\text{GST}} \text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{SG} \xrightarrow{-\text{Br}} \text{GS}^+ \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ | \\ \text{C}^+ \\ | \\ \text{CH}_2 \end{array}$$

Глутатион, вступивший в реакцию конъюгации с веществом подвергается расщеплению (рисунк 14). В результате из организма выделяется метаболит в связанной с N-ацетилцистеином форме (меркаптуровые кислоты).


$$\begin{array}{c} \text{NHCOCH}_3 \\ | \\ \text{HOOCCHCH}_2\text{SH} \end{array} + \text{ClCH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \longrightarrow \begin{array}{c} \text{NHCOCH}_3 \\ | \\ \text{HOOCCHCH}_2\text{S}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$$

N-ацетилцистеин бензоилхлорид бензилмеркаптуровая кислота

Метилированию могут подвергаться молекулы, содержащие гидроксильные, сульфгидрильные и аминогруппы в структуре. В качестве донора метильной группы выступает метионин в форме S-аденозилметионина (SAM). Перенос радикала осуществляют соответствующие O-, S-, N-метилтрансферазы:



5. Энзимы кишечной флоры

При участии кишечной флоры также возможен метаболизм химических соединений. Действие бактериальных энзимов сопровождается расщеплением продуктов II фазы метаболизма, поступающих в кишечник с желчью, и образованием исходных метаболитов. Этот процесс проходит при участии гидролаз, разрушающих глюкурониды и сульфаты. Реабсорбция образовавшихся веществ замыкает цикл внутрипеченочной рециркуляции ксенобиотиков. Кроме того, анаэробная среда кишечника обеспечивает возможность восстановления некоторых химических веществ бактериями. Например, восстановление нитроароматических соединений сопровождается образованием аминов, которые, поступая в печень, вновь подвергается метаболизму. Бактериальная β -глюкуронидаза и нитроредуктаза играют исключительно важную роль в процессе многоэтапной биоактивации 2,6-динитротолуола (рисунок 15).

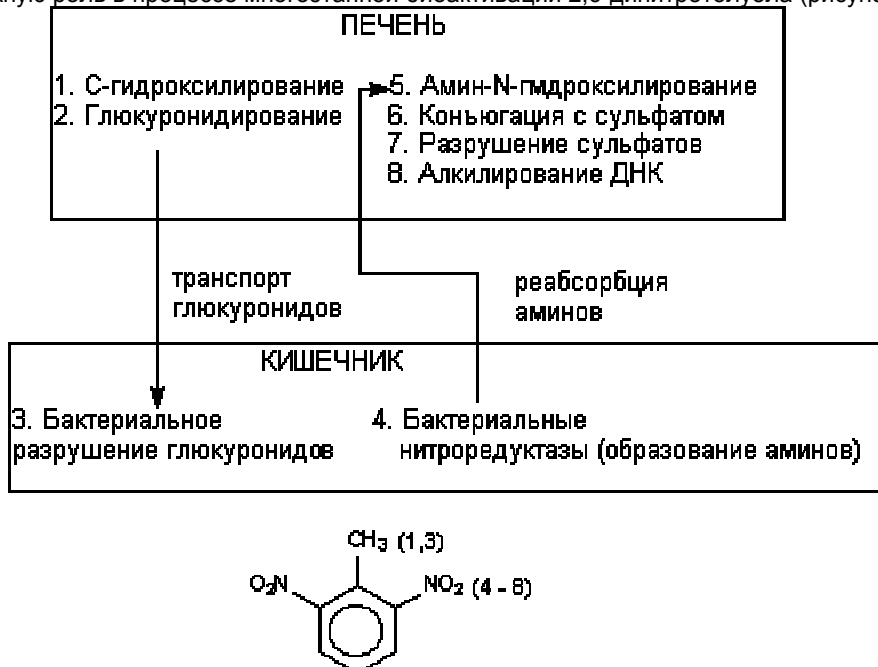


Рисунок 15. Взаимодействие печеночных энзимов и энзимов флоры кишечника в процессе биоактивации канцерогена 2,4-динитротолуола

6. Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков

Способность органов и тканей метаболизировать ксенобиотики зависит от набора и активности энзимов, участвующих в процессе. В значительной степени активность энзимов является внутренней характеристикой конкретной ткани, определяется генетическими особенностями организма и зависит от пола и возраста. Дополнительными факторами, порой существенным образом влияющими на содержание и активность энзимов, являются условия окружающей среды. Это прежде всего химические вещества, выступающие в качестве индукторов или ингибиторов энзимов, питание и действие патогенных факторов (таблица 5).

Таблица 5. Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков

ЕСТЕСТВЕННЫЕ:

вид, пол, возраст, питание

ИНДУКТОРЫ ФЕРМЕНТОВ:

Барбитураты, полициклические углеводороды, андрогенные стероиды, анаболические стероиды, глюкокортикоиды и др.

ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ:

Метирапон, 7,8-бензофлаван, кобальт, SKF-525 и др.

ПОВРЕЖДЕНИЯ СТРУКТУРЫ ОРГАНА:

Хлорированные углеводороды, тироксин, аллоксан, морфин, гепатотомия, адреналэктомия, кастрация самцов, голод

6.1. Генетические факторы

Особи одного и того же вида живых существ порой значительно различаются по способности метаболизировать ксенобиотики. Это во многом детерминировано генетически. Так, в популяции людей выявляются лица, обладающие пониженной активностью цитохромР-450 зависимых оксидаз. "Слабые метаболиты" могут отличаться отсутствием некоторых изоэнзимов, необходимых для катализа ряда превращений ксенобиотиков.

Полиморфизм метаболизма ксенобиотиков отмечен для процессов ацетилирования ароматических веществ, содержащих amino-, сульфо-, амидную группу. Лица со слабым напряжением процессов ацетилирования более подвержены некоторым аллергическим реакциям, вызываемым химическими веществами. С другой стороны, излишне напряженный процесс ацетилирования ксенобиотиков может иметь пагубные последствия в результате биоактивации арилгидразинов.

6.2. Пол и возраст

В опытах на лабораторных животных, в основном грызунах, показано, что половые гормоны принимают участие в регуляции активности энзимов метаболизма ксенобиотиков и прежде всего монооксигеназ. Так, взрослые самцы крыс быстрее метаболизируют такие вещества, как гексабарбитал, аминопирин, аминафенон и т.д. Вместе с тем анилин и его аналоги подвергаются биопревращению в организме самцов и самок с одинаковой скоростью. Кастрация нередко сопровождается снижением скорости метаболизма ксенобиотиков. У человека половые различия выражены не столь существенно.

Отличия метаболизма ксенобиотиков, обусловленные возрастом, наиболее отчетливо проявляются у новорожденных и лиц пожилого возраста. Хорошо известно, что недостаточно развитая система метаболизма ксенобиотиков у новорожденных делает их особенно чувствительными к ряду токсикантов. Токсический процесс может стать следствием как накапливающихся в организме исходных продуктов, так и промежуточных метаболитов, не подвергающихся дальнейшей биотрансформации.

В старческом возрасте наблюдается снижение клиаренса ксенобиотиков отчасти обусловленное понижением интенсивности метаболизма. Нарушение метаболизма ксенобиотиков печенью в старческом возрасте может являться следствием уменьшения интенсивности печеночного кровотока, хронических патологических процессов в печени, связанного с возрастом снижения активности ферментов.

6.3. Влияние химических веществ

Ксенобиотики, поступающие в организм, могут оказывать влияние на процессы метаболизма как самих этих веществ, так и других соединений, поступающих в организм одновременно или вслед за ними. Теоретически можно выделить три группы химических соединений, по-разному влияющих на метаболизм чужеродных веществ:

1. Практически не влияющие на активность энзимов метаболизма;
2. Повышающие активность энзимов - индукторы;
3. Угнетающие активность энзимов - ингибиторы.

Важно иметь в виду, что одно и то же вещество может выступать и как индуктор и как ингибитор метаболизма другого вещества, в зависимости от того в каком порядке ксенобиотики поступают в организм - сукцессии или комбинации (см. ниже).

6.3.1. Индукция энзимов

Многие химические вещества, как эндогенные, так и поступающие из окружающей среды, обладают способностью усиливать синтез в организме энзимов биотрансформации ксенобиотиков. Этот феномен, получивший название индукции энзимов, существенно образом определяет чувствительность живых существ к действию токсикантов. Несколько сот химических веществ совершенно разного строения, как установлено, являются индукторами монооксигеназ и других ферментативных систем. К числу сильных индукторов микросомальных ферментов принадлежат многие лекарства и промышленные токсиканты. Все индукторы - жирорастворимые органические вещества. Их действие, как правило, неспецифично, то есть индуктор вызывает повышение активности более чем одного энзима. Индукция возможна, как правило, при повторном введении соединения.

6.3.1.1. Индукторы метаболизма

Многочисленные индукторы монооксигеназных систем можно отнести к одному из двух классов. Представителем первого класса является фенотербитал, другие барбитураты, некоторые лекарства и инсектициды. Ко второму классу индукторов относятся в основном полициклические углеводороды: ТХДД, 3-метилхолантрен, бенз(а)пирен и т.д. Самым сильным из известных индукторов монооксигеназ является 2,3,7,8-тетрахлордибензо-р-диоксин (ТХДД). Его эффективная доза составляет 1 мкг/кг массы. В подавляющем большинстве случаев ксенобиотики проявляют свойства индукторов, действуя в значительно больших дозах (более 10 мг/кг).

Фенотербитал вызывает выраженную пролиферацию гладкого эндоплазматического ретикула в гепатоцитах и увеличение активности Р-450. В результате возрастает мощность таких процессов, как деметилирование ксенобиотиков (нитроанизол), гидроксигирование (барбитураты), эпоксидирование (альдрин).

Индукция, вызываемая полициклическими углеводородами не сопровождается пролиферацией гладкого эндоплазматического ретикула, но при этом существенно возрастает активность Р-450, УДФ-Г-трансферазы, гидроксилазы.

Некоторые индукторы способны специфично активировать отдельные изоформы Р-450. К числу таковых относятся, в частности, прегненолол-16 α -карбонитрил (ПКН), активирующий 3А1 изоформу Р-450, этанол, индуцирующий 1А2 изоформу Р-450, клофибрат - 4А изоформу.

Поскольку ксенобиотики, как правило, вызывают индукцию более чем одной ферментативной системы (барбитураты, полигалогенированные бифенилы одновременно вызывают индукцию Р-450, УДФ-ГТ, GST и др.), предсказать влияние индукторов на токсикокинетику и токсикодинамику ксенобиотика практически не возможно. Эффект может быть определен только экспериментально. Задача усложняется еще и тем, что индукция того или иного энзима, вызванная разными индукторами, не одинаково сказывается на скорости метаболизма разных ксенобиотиков (таблица 6).

Таблица 6. Влияние некоторых индукторов метаболизма на активность УДФ-глюкуронилтрансферазы печени крыс (при использовании α -нафтола, морфина и хлорамфеникола в качестве субстратов)

Индукторы	Активность УДФ-ГТ (нмол/мин/мг белка)		
	α -нафтол	морфин	хлорамфеникол
Контроль	75 +/- 15	7,9 +/- 0,6	0,36 +/- 0,1
Фенотербитал (100 мг/кг/сут)	84 +/- 20	18,0 +/- 2,8	1,78 +/- 0,3
3-метилхолантрен (40 мг/кг)	212 +/- 49	9,9 +/- 1,7	0,39 +/- 0,1
Арохлор 1254 (80 мг/кг)	143 +/- 25	13,0 +/- 2,1	0,76 +/- 0,2

(K.W. Bock, 1977)

6.3.1.2. Механизмы индукции

Индукция предполагает синтез дополнительного количества того или иного фермента в органах и тканях *de novo*. Ингибиторы синтеза белка (пурамицин, эритроин, циклогексимида), а также ингибиторы синтеза РНК (актиномицин Д) блокируют индукцию микросомальных ферментов. Поскольку блокаторы синтеза ДНК (гидроксимочевина) не эффективны, можно сделать вывод, что феномен индукции ферментов биотрансформации ксенобиотиков реализуется на уровне транскрипции генетической информации.

Механизм феномена полностью не изучен. Одна из первых гипотез была предложена S. Granick в 1966 году для объяснения индукторных свойств стероидов. Автор полагал, что индукция эндоплазматического ретикула гепатоцитов, содержащего цитохромы, регулируется концентрацией в клетке свободного гема, высвобождающегося в ходе обменных процессов в эндоплазматическом ретикулуме. Гем взаимодействует с внутриядерным апорепрессором. При этом образуется репрессор, который в свою очередь угнетает ген-оператор. В тот момент, когда ген-оператор находится в неактивной форме, на соответствующем участке ДНК не осуществляется синтез мРНК, необходимой для синтеза ферментативных белков, входящих в структуру эндоплазматического ретикула. При отсутствии свободного гема или в тех случаях, когда гем не может присоединиться к апорепрессору, происходит активация синтеза мРНК и выраженная пролиферация эндоплазматического ретикула. Естественными ингибиторами образования репрессора и являются стероиды, активно взаимодействующие с апорепрессором. В соответствии с этой моделью около 300 ксенобиотиков (далеко не все структурные аналоги стероидов) способны избирательно взаимодействовать с апорепрессором и блокировать тем самым образование репрессора. Эти вещества проявляют свойства индукторов микросомальных ферментов. Кроме того, так как большинство индукторов являются, как и стероиды, жирорастворимыми веществами они активно захватываются мембранными структурами цитоплазмы гепатоцитов, вытесняя при этом из соответствующих сайтов связывания "депонированные" стероиды. Концентрация последних повышается в цитоплазме, а затем и в ядре клеток. Связывание с апорепрессором усиливается, активируется процесс синтеза ферментов метаболизма ксенобиотиков.

В соответствии с более поздними представлениями механизм действия стероидных гормонов, полициклических ароматических углеводородов, 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксина, состоит во взаимодействии с цитозольными рецепторными белками. Образующиеся комплексы мигрируют в ядро клетки, где вызывают дерепрессию регуляторных генов и, тем самым, активируют синтез того или иного фермента. В случае ТХДД такой рецепторный цитоплазматический протеин идентифицирован, по крайней мере, в гепатоцитах линии мышей, чувствительных к ароматическим углеводородам. Установлено, что синтез гидроксифазы ароматических углеводородов (aryl hydrocarbon hydroxylase) регулируется локусом единственного доминантного гена, Ah, и может быть усилен при введении ТХДД. Цитозольный белок-регулятор гена получил название Ah-рецепторный протеин.

Другие индукторы, такие как барбитураты, вероятно действуют с помощью иного механизма. Хотя известно, что в основе процесса также лежит индукция синтеза белка, до конца не выяснено каким образом клетка распознает индуктор и как осуществляется воздействие на процесс транскрипции. Индукторы класса фенобарбитала относятся к числу малоактивных соединений. Для реализации эффекта нужны дозы препаратов на несколько порядков превышающие эффективные дозы ТХДД. Рецепторный белок для фенобарбитала пока не идентифицирован.

Помимо усиления синтеза ферментов дополнительным механизмом индукции является стабилизация информационной РНК и белковых молекул в клетке.

6.3.1.3. Влияние индукторов на токсичность ксенобиотиков

Достаточно часто усиление метаболизма ксенобиотиков приводит к снижению их токсичности. Так, повторное введение фенобарбитала белым крысам самцам приводит к увеличению резистентности животных примерно в полтора раза к таким высоко токсичным ФОС, как зарин, зоман,ДФФ и др. Понижается чувствительность экспериментальных животных к цианидам. Вместе с тем токсичность других веществ, при этом, существенно возрастает. Например, усиливается гепатотоксическое действие алкалоида монокроталина и циклофосфамида, канцерогенная активность 2-нафтиламина. Вследствие индукции усиливается также токсичность четыреххлористого углерода, бромбензола, иприта и др.

Другим последствием индукции может быть изменение соотношения интенсивности метаболизма ксенобиотиков в разных органах и тканях, в результате чего основным органом биопревращения ксенобиотика у экспериментального животного, получавшего индукторы, становится иной орган, чем у интактных животных. Так, после введения крысам 3-метилхолантрена (индуктор) основным органом метаболизма 4-ипомеанола (токсичный дериват фурана) становятся не легкие (как в норме), а печень.

Индукторы из группы производных барбитуровой кислоты способны одновременно активировать синтез одних изоферментов (например, цитохром Р-450 зависимых оксидаз) и угнетать активность других. В этой связи а priori трудно предсказать последствия влияния индукторов на токсичность ксенобиотиков.

У человека индукция микросомальных ферментов нередко становится следствием различных привычек (курение, прием алкоголя и т.д.), профессионального и экологического контакта с веществами (ПАУ, органические растворители, диоксины, галогенированные инсектициды и т.д.), длительного приема некоторых лекарств (барбитураты, антибиотики типа рифампицина и т.д.).

6.3.2. Угнетение активности ферментов

Многие вещества способны угнетать активность ферментов, катализирующих метаболизм ксенобиотиков.

Группа ингибиторов метаболизма включает:

- конкурентные ингибиторы ферментов (альтернативные субстраты). Например, этиловый спирт - ингибитор метаболизма метанола или этиленгликоля; никотинамид - угнетает N-деметилирование аминопирена и т.д.;

- неконкурентные ингибиторы. Это, как правило, алкилирующие агенты, угнетающие активность энзима, но не конкурирующие с субстратом. Например, метирапон является хорошо известным ингибитором монооксигеназных реакций биопревращения. К этой же группе относится вещество SKF-525 - известный ингибитор Р-450;

- "суицидные ингибиторы" - вещества, образующиеся в процессе метаболизма ксенобиотика при участии данного фермента и одновременно являющиеся его ингибиторами. Например, ингибиторами Р-450 такого рода являются дигидропиридины; метаболиты пиперонилбутоксид угнетают микросомальное окисление многих ксенобиотиков в печени, таких как альдрин, анилин, аминопирен, карбарил и др;

- реакционноспособные промежуточные метаболиты, ингибирующие активность энзимов нескольких типов в месте их образования: метаболиты четыреххлористого углерода, дихлорэтана и т.д.;

- ингибиторы синтеза кофакторов и простетических групп энзимов. К числу таких относятся, например, Со, блокирующий синтез гема, являющегося простетической группой цитохромР-450 зависимых оксидаз; вещества истощающие запасы глутатиона в клетках.

Ингибиторы ферментов метаболизма не нашли в настоящее время практического применения. Однако в условиях лаборатории для исследовательских целей некоторые из них используются достаточно часто (рисунок 16).

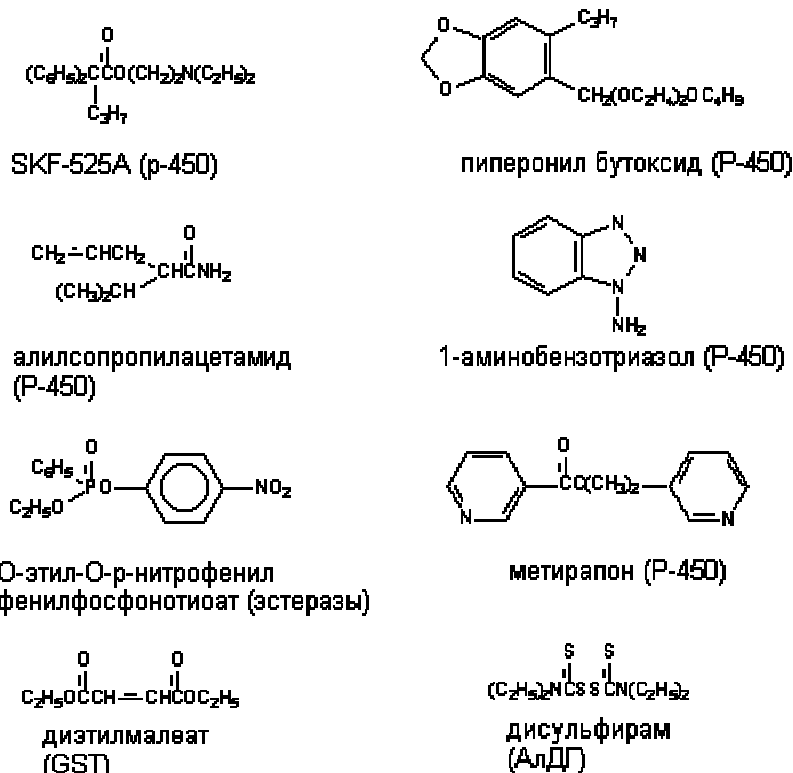


Рисунок 16. Некоторые ингибиторы метаболизма ксенобиотиков. В скобках указаны ингибируемые энзимы

Если ксенобиотик подвергается в организме детоксикации, угнетение его метаболизма приведет к повышению токсичности, если происходит биоактивация, токсичность вещества понижается. Например, дисульфирам (антабус), являясь ингибитором альдегиддегидрогеназы, вызывает резкое повышение содержания уксусного альдегида в крови и тканях человека принявшего этанол. Это сопровождается тошнотой, рвотой и другими симптомами, тягостно воспринимающимися пострадавшим. На этом эффекте основано практическое использование вещества для борьбы с алкоголизмом. Угнетение энзима необратимо и его активность восстанавливается в результате синтеза de novo. Идентичная ситуация складывается при отравлении грибами рода *Coprinus*. Через 3 - 6 часов после их приема развивается повышенная чувствительность к алкоголю, продолжающаяся до 3 суток. После приема алкоголя в течение 20 минут - 2 часов появляются тошнота, рвота, покраснение кожных покровов, резкая головная боль, тахикардия, снижение артериального давления. В тяжелых случаях возможна потеря сознания. Явления обусловлены тем, что в грибах содержится термостабильный токсин - протокоприн. В организме вещество превращается в коприн - мощный ингибитор альдегиддегидрогеназы.

Коканцерогенное действие некоторых соединений обусловлена их способностью угнетать процессы детоксикации канцерогенов. Так, пиперонилбутоксид (ингибитор Р-450) является коканцерогеном фреонов 112 и 113.

Наиболее простым методом выявления способности веществ влиять на метаболизм ксенобиотиков является опыт с определением продолжительности сна лабораторных животных, вызванного гексобарбиталом. Это вещество довольно быстро разрушается печеночными микросомальными энзимами и поэтому эффект может быть оценен в течение относительно короткого промежутка времени. Ингибиторы метаболизма, введенные до наркотического препарата, удлиняют продолжительность сна. Так, хлорамфеникол в дозах 5 - 200 мг/кг, при введении за 0,5 -1,0 ч до гексобарбитала дозо-зависимо увеличивает продолжительности сна мыши (в высоких дозах - десятикратно).

6.3.3. Двухфазный эффект: угнетение и индукция

Многие ингибиторы микросомальных ферментов одновременно вызывают и их индукцию. Ингибирование, как правило, процесс быстрый, состоящий в прямом взаимодействии ксенобиотика с ферментом. Индукция - пролонгированный во времени процесс. В этой связи нередко после действия вещества наблюдается период кратковременного снижения активности монооксигеназ, сменяющийся периодом относительно стойкого повышения их активности. Наиболее известным веществом, действующим подобным образом, является пиперонилбутоксид.

7. Активные метаболиты и их роль в инициации токсического процесса

Многие ткани являются мишенью для повреждающего действия продуктов метаболизма некоторых ксенобиотиков. Как правило, чем менее токсично вещество, то есть, чем большее его количество вызывает интоксикацию, тем выше вероятность того, что в основе инициации различных форм токсического процесса может лежать действие реактивных промежуточных продуктов метаболизма (рисунок 17).



Рисунок 17. Роль метаболитических превращений ксенобиотика в развитии различных форм токсического процесса

Некоторые вещества активируются уже в ходе однократного превращения, другие в результате многоступенчатых превращений, локализуя порой в разных органах и тканях. Одни метаболиты проявляют свое пагубное действие непосредственно в месте образования, другие способны мигрировать, производя эффект в других органах. Обычно рассматривают три модели механизмов, связывающих явление метаболизма ксенобиотиков и процессы формирования повреждения органов и систем.

Модель N1. Эта модель является наиболее простой (рисунок 18). Орган - мишень действия токсиканта содержит весь набор ферментов, необходимых для биоактивации ксенобиотика. В результате действия этих ферментов образуется реактивный метаболит, который и вызывает повреждение органа. Как правило, таким образом действуют чрезвычайно активные метаболиты, не способные к диффузии за пределы клеток, в которых они образовались (таблица 7).

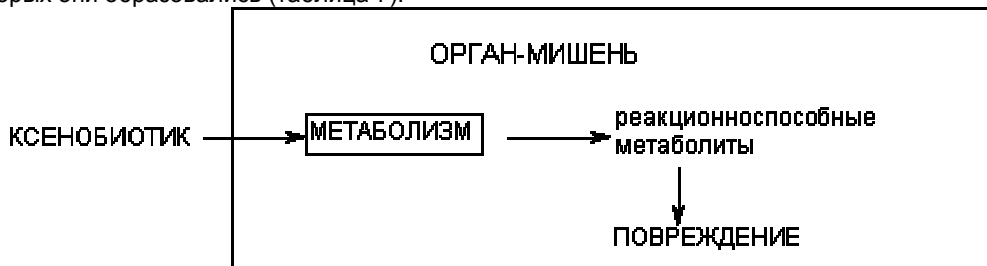


Рисунок 18. Модель N1

Таблица 7. Классификация ксенобиотиков по способу их биотрансформации (модель N1)

Соединения	Орган-мишень	Энзимы	Метаболиты	Эффект
Ароматические амины: Бензидин α -нафтиламин	мочевой пузырь печень	ПО ⁺ , НАТ ⁺ , СТ ⁺ , P-450	диимины свободные радикалы	канцерогенез
Арилгидроксамовые кислоты: Ацетаминофлюорен	печень	СТ ⁺ , P-450,	N,O- сульфэфиры	канцерогенез
Биспиридины: Паракват Дикват	легкие печень	ФПР ⁺	свободные радикалы	повреждение органа
Фураны: 3-метилфуран	легкие печень почки	P-450	эпоксиды	повреждение органа
Галогеналканы: а) галотан, CCl ₄	легкие печень почки	P-450	радикалы	повреждение органа
б) CHCl ₃	печень	P-450	ацил-галогены	повреждение

трихлорэтан	почки			органа
в) дихлорэтан дибромэтан	легкие кишечник яички	GST	ионы эписульфониума	канцерогенез
Галогеналкены: Дихлорэтилен Трихлорэтилен	легкие печень почки	P-450	ацилгалогены альдегиды эпоксиды	повреждение органа канцерогенез
Галогенсодержащие Ароматические соединения: Бромбензол Хлорбензол ПГБФ	легкие печень почки	P-450	ареноксиды хиноны	повреждение органа
Гидразины: Диметилгидразин	печень кишечник	P-450, ФМО	диазометан метил-радикал ионы диметил- дiazониума	канцерогенез
Нитрозамины: Диметилнитрозамин	печень желудок легкие	P-450	ион- метилдiazониум	канцерогенез
ПАУ: Бенз(а)пирен	легкие кожа молочная жлеза	P-450 ПО*, ЭГ*	ареноксид хиноны	канцерогенез повреждение органа
Пирролины: Монокроталин	печень	P-450	пирролы	канцерогенез
Сульф-тионовые соединения: Тиоацетамид Сероуглерод	печень легкие	P-450 ФМО	S-оксиды S,S-диоксиды атомарная сера	канцерогенез повреждение органа
Нитроароматические соединения: Нитрофурантион	легкие печень	ФПР	радикалы	повреждение органа

*ПО - пероксидаза

NAT - амин-N-ацетилтрансфераза

СТ - сульфотрансфераза

ФПР - флавопротеинредуктаза

ЭГ - эпоксигидраза

Модель N2. Орган мишень не в состоянии биотрансформировать исходный токсикант в реакционноспособный метаболит, но может участвовать в биоактивации промежуточных продуктов, образовавшихся в других органах (рисунок 19). Эта модель применима к веществам, первично метаболизируемым в печени. Однако обязательным этапом их метаболизма является превращение в других органах, например кишечнике и т.д. Орган-мишень содержит ферменты, отсутствующие в печени, например, ферменты катаболизма конъюгатов глутатиона (почки), пероксидазы (почки, лейкоциты, костный мозг), некоторые подтипы цитохромP-450. Первичные метаболиты - химически инертные вещества, вторичные - обладают высокой реакционной способностью, достаточной для того, что бы вызывать повреждение органа в котором они образуются (таблица 8).

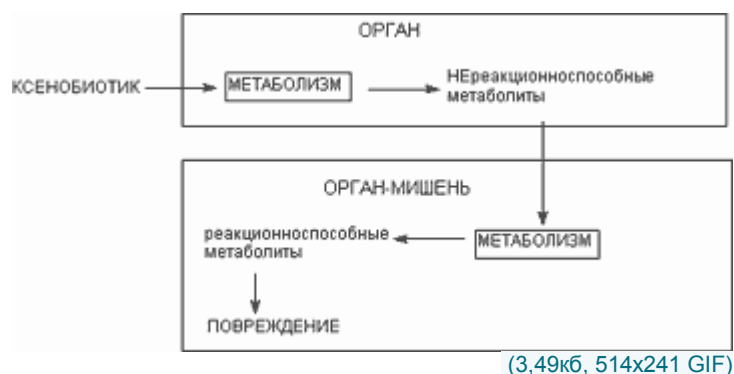


Рисунок 19. Модель N2

Таблица 8 Классификация ксенобиотиков по способу их биотрансформации (модель N2)

Соединения	Первичн. метаболит	токс.	Орган-мишень	Токсичный метаболит	Эффект

		(энзимы)		
Ароматические углеводороды: Бензол	фенол гидрохиноны катехолы	клетки костного мозга (МП ⁺)	хиноны	повреждение клеток
Галогеналканы: Гексахлорбутадиен	конъюгат глутатиона	почки (ГТП ⁺ , ДП ⁺ , Л ⁺)	тионацил- галоиды тиокетоны	повреждение органа
Нитроароматические соединения: 2,6-динитротолуол	динитробензиловый спирт глюкурониды	печень (Р-450, СТ)	гидроксиламины S-эфиры	канцерогенез

*ГТП - γ -глутамилтранспептидаза

ДП - дипептидаза

Л - β -лиаза

МП - миелопероксидаза

Модель N3. Орган-мишень может вообще не участвовать в процессе биоактивации токсиканта, но обладает при этом высокой чувствительностью к образующемуся в других органах метаболиту (рисунок 20). Эта модель приложима к химическим соединениям, вызывающим повреждение органов и тканей либо вообще не участвующих, либо участвующих в минимальной степени, в биоактивации ксенобиотиков (таблица 9). Органами-мишенями могут быть и периферические нервные стволы, практически не содержащими энзимов метаболизма ксенобиотиков, и легкие, отличающиеся достаточно высокой метаболической активностью, и др. Общим между ними является то, что они не в состоянии метаболизировать конкретное химическое вещество, вызывающее их повреждение. Основой для развития токсического процесса являются: поступление большого количества метаболита с притекающей кровью, активный захват метаболитов, недостаточность механизмов детоксикации, высокая чувствительность клеток органа к метаболиту, недостаточность механизмов репарации повреждений. Установление такого механизма действия токсикантов требует проведения глубоких исследований.

Рисунок 20. Модель N3

Таблица 9. Классификация ксенобиотиков по способу их биотрансформации (модель N3)

Соединения	Орган биоактивации (энзимы)	Метаболиты	Орган-мишень	Эффект
Алканы: Гексан	печень (Р-450, АДГ ⁺)	2,5-дикетоны	нервные стволы	повреждение органа
Ароматические амины: α -нафтиламин	печень (Р-450, ФМО, УДФГТ)	N-глюкурониды	эпителий мочевого пузыря	канцерогенез
Гликоли: Этиленгликоль	печень (АДГ, АлДГ ⁺)	оксалат	почечные каналы	повреждение органа
Галогеналкены: Винилхлорид	гепатоциты (Р-450)	эпоксид	эндотелий сосудов печени	канцерогенез
Гидразины: Диметилгидразин	гепатоциты (Р-450)	диазометан	эндотелий сосудов печени	канцерогенез
N-нитрозамины: Диметилнитрозамин	гепатоциты (Р-450)	α -гидрокси-N-нитрозамины	эндотелий сосудов печени	канцерогенез
Пирролины: Пирролизидиновые алкалоиды	печень (Р-450)	пирролы	эндотелий сосудов легких	повреждение органа

*АДГ - алкогольдегидрогеназа

ДлДГ - альдегиддегидрогеназа

ГЛАВА 4.5. ВЫДЕЛЕНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ ИЗ ОРГАНИЗМА (ЭКСКРЕЦИЯ)

Биологические эффекты, вызываемые химическими веществами, как правило, ограничены во времени. Одной из основных причин этого является элиминация их из организма. **Под элиминацией понимают процесс, приводящий к снижению концентрации веществ в крови, органах и тканях.** Элиминация осуществляется путем:

1. Экскреции - выведения вещества из организма в окружающую среду;
2. Биотрансформации - химических превращений молекул ксенобиотика, его метаболизма. Метаболиты ксенобиотика удаляются из организма путем экскреции.

Биотрансформация сопровождается либо усилением, либо потерей веществом биологической активности. Если токсичность метаболита ниже токсичности исходного агента, говорят о детоксикации или инактивации вещества, если токсичность повышается - токсификации или активации токсиканта. В любом случае исходный действующий агент элиминируется.

При выделении веществ в окружающую среду, организм использует те же механизмы, что и при резорбции. Поэтому общие закономерности, определяющие качественные и количественные характеристики экскреции, не отличаются от закономерностей, управляющих резорбцией и распределением токсикантов в организме. Однако ведущим процессом здесь часто является не диффузия или активный транспорт, а фильтрация чужеродных веществ через биологические барьеры. Местом фильтрации ксенобиотиков, а следовательно и основным органом выделения являются почки. Другие органы, через которые экскретируются вещества - это легкие, печень и в значительно меньшей степени - железы кишечника и кожи. Способ выделения вещества во многом зависит от строения выделяющего органа.

1. Выделение через легкие

Через легкие выделяются летучие (при температуре тела) вещества и летучие метаболиты нелетучих веществ. Выведение осуществляется в соответствии с теми же закономерностями, что и резорбция. Основным механизмом процесса является диффузия ксенобиотика, циркулирующего в крови, через альвеолярно-капиллярный барьер. Переход летучего вещества из крови в воздух альвеол определяется градиентом концентрации или парциального давления между средами. Решающими факторами, влияющими на элиминацию, являются:

- объем распределения ксенобиотика;
- растворимость в крови;
- эффективность легочной вентиляции;
- величина легочного кровотока.

Выведение вещества через легкие может быть описано следующим уравнением:

$$t_{1/2} = \ln 2 [V_d(\lambda_p + \lambda_c)/\lambda_p C_p], \text{ где}$$

$t_{1/2}$ - время полувыведения химического вещества;

V_d - абсолютный объем распределения ксенобиотика в литрах (доза вещества в г, концентрация в крови в г/л);

λ_p - эффективность легочной вентиляции в л/мин;

C_p - скорость легочного кровотока в л/мин;

λ - коэффициент распределения соединения между кровью и воздухом (определяется растворимостью газа в крови).

У живых существ одного и того же вида величины V_d и λ полностью определяются свойствами вещества. С увеличением значений объема распределения и растворимости вещества в крови увеличивается и период полувыведения ксенобиотика из организма.

Определяющим показателем скорости диффузии газообразных и летучих соединений через альвеолярно-капиллярный барьер является разница их парциальных давлений в крови и альвеолярном воздухе. Давление пара пропорционально концентрации в крови и обратно пропорционально растворимости. В силу этого у различных веществ с различной растворимостью, не смотря на одинаковую концентрацию, парциальное давление различно. Это может быть выражено уравнением:

$$P_D = C_B V_M P_{атм} / \lambda, \text{ где}$$

C_B - концентрация веществ в крови (в молях);

V_M - молярный объем идеального газа (22,4 л);

$P_{атм}$ - атмосферное давление (в паскалях);

λ - коэффициент распределения в системе кровь/газ.

Растворимость газов и летучих веществ в значительной степени влияет на легочную элиминацию. Чем меньше растворимость, тем быстрее выделяется вещество. При растворимости летучего ксенобиотика в крови человека близкой к 0 в нормальных физиологических условиях $t_{1/2}$ равно примерно 13 минутам.

Легочная элиминация также зависит от величины эффективности вентиляции легких и интенсивности кровотока (минутного сердечного выброса). На таблице 1 представлены данные, иллюстрирующие эту зависимость.

Таблица 1. Период полувыведения веществ через легкие (мин) при различных значениях эффективности легочной вентиляции (λ_p - л/мин) и сердечного выброса (C_p - л/мин)

Показатель	Этилен ($\lambda = 0,140$)	Закись азота ($\lambda = 0,468$)	Галотан ($\lambda = 2,35$)	Эфир ($\lambda = 15,2$)
$C_p = 4$				
$\lambda_p = 4$	14,8	19	43	210
6	14,2	17	33	144
10	13,7	15,4	25	92

$\Delta p = 6$				
$C_p = 3$	18,5	21,4	38	149
4	14,2	17	33	144
6	9,8	12,7	29	140

Как следует из приведенных данных, значение величины объема вентиляции существенно сказывается на выведении веществ хорошо растворимых в крови (эфир), интенсивность кровотока в легких прежде всего влияет на скорость элиминации плохо растворимых в крови веществ (этилен, закись азота). Основываясь на представленных данных, можно решить, с помощью каких препаратов (дыхательных analeптиков или стимуляторов сердечной деятельности) можно ускорить выведение летучих и газообразных веществ из организма.

Через легкие из организма выделяются летучие анестетики, летучие органические растворители, фумиганты. Метаболизм некоторых органических соединений проходит с образованием CO_2 . Порой до 50% меченого радиоактивным изотопом соединения выделяется в форме $^{14}\text{CO}_2$.

Другой способ легочной экскреции реализуется с помощью альвеолярно-бронхиальных транспортных механизмов. В просвет дыхательных путей секретируется жидкость, сурфактант, макрофаги, содержащие ксенобиотики. Секрет, а также адсорбированные на поверхности эпителия частицы аэрозоля, выводятся затем из дыхательных путей благодаря мукоцилиарному восходящему току. Более 90% частиц выводится таким образом из дыхательных путей в гортань в течение часа после ингаляции. Из гортани вещества поступают в желудочно-кишечный тракт.

2. Почечная экскреция

Почки - важнейший орган выделения в организме. Через почки выводятся продукты обмена веществ, многие ксенобиотики и продукты их метаболизма. Масса почек чуть менее 0,3% массы тела, однако, через орган протекает более 25% минутного объема крови. Благодаря хорошему кровоснабжению, находящиеся в крови вещества, подлежащие выведению, быстро переходят в орган, а затем и выделяются с мочой. В основе процесса выделения через почки лежат три механизма (рисунок 1):

- фильтрация через гломерулярно-капиллярный барьер;
- секреция эпителием почечных канальцев;
- реабсорбция клетками эпителия.

Через почки прокачивается около 700 мл плазмы крови в минуту, из которых 20% (125 - 130 мл/мин) отфильтровывается через гломерулярно-капиллярный барьер. Более 99% отфильтрованной жидкости реабсорбируется в почечных канальцах.

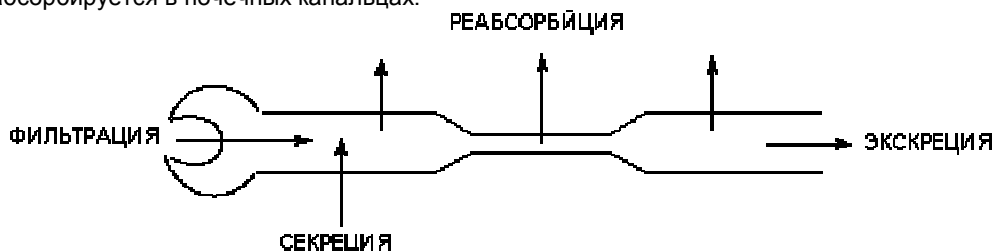


Рисунок 1. Механизмы, регулирующие процесс экскреции ксенобиотиков через почки.

Фильтрация:

- все низкомолекулярные вещества, находящиеся в растворенном состоянии в плазме крови.

Секреция:

- органические кислоты, мочевая кислота и т.д.;
- сильные органические основания, тетраэтиламмоний, метилникотинамид и т.д.;

Реабсорбция:

- пассивная обратная диффузия всех жирорастворимых веществ;
- неионизированные молекулы органических кислот;
- активная реабсорбция глюкозы, лактата, аминокислот, мочевой кислоты, электролитов.

2.1. Фильтрация

Фильтрация осуществляется в почечных клубочках, при этом фильтрат преодолевает барьер, образованный эндотелием капилляров, формирующих клубочек, базальной мембраной и эпителием капсулы клубочка. Общая площадь поверхности более чем 1,7 - 2,5 миллионов клубочков обеих почек составляет около 2 - 3 м².

Диаметр пор базальной мембраны составляет у разных видов млекопитающих 2 - 4 нм; общая площадь пор: 4 - 10% от общей фильтрационной поверхности (для сравнения в мышцах - 0,1%). Поры между эндотелиальными и эпителиальными клетками почечного клубочка равны 25 - 50 и 10 - 25 нм соответственно. Таким образом, почки работают как мощный ультрафильтр, задерживающий высокомолекулярные вещества и пропускающий все молекулы с малой и средней массой. Фильтрат содержит все составные части плазмы крови, имеющие размеры меньше, чем размеры фильтрующих пор базальной мембраны. Для молекул с молекулярной массой более 15000 возможности фильтрации существенно снижаются. Протеины плазмы крови (и связанные с ними низкомолекулярные вещества) не подлежат фильтрации. Для фильтрации через клубочковый аппарат почки жир- и водо-растворимость веществ не является определяющим фактором.

Движущая сила фильтрации складывается из артериального давления в гломерулярных капиллярах, минус гидростатическое давление в боуеновой капсуле, минус коллоидно-осмотическое давление плазмы крови. Давление крови в гломерулярных капиллярах с помощью различных механизмов поддерживается на уровне 50 - 80 мм Нг. Эффективное фильтрационное давление в почках составляет около 8 мм Нг.

Скорость фильтрации зависит от ряда факторов и может увеличиваться при:

- повышении давления крови в гломерулярных капиллярах;
- уменьшении содержания белка, особенно альбумина, в плазме крови;
- понижении гидростатического давления в боуеновой капсуле;
- увеличении числа функционирующих гломерул.

В норме, благодаря наличию прегломерулярных анастомозов, существенная часть клубочков находится в неактивном состоянии. Их включение в процесс выделения существенно увеличивает интенсивность процесса фильтрации.

Поскольку белки плазмы крови не подлежат фильтрации, через почки выделяются лишь вещества, не связанные с белками. Поскольку свободная и связанная фракция ксенобиотика в крови находится в состоянии динамического равновесия, как только свободная часть отфильтровывается, связанная освобождается из связи с белками. Если связь прочная и высвобождение веществ затруднено процесс выделения вещества растягивается во времени.

Некоторые вещества практически полностью отфильтровываются в клубочках почек в течение нескольких часов. Так как в течение минуты фильтрации подвергается около 130 мл плазмы, скорость почечной элиминации веществ, выделяющихся исключительно посредством фильтрации можно рассчитать по формуле:

$$t_{1/2} = \ln 2 (V_D / FR)$$

$t_{1/2}$ - период полувыведения;

FR - скорость фильтрации (130 мл/мин);

V_D - объем распределения.

При различных объемах распределения период выведения фильтрующихся веществ будет существенно различен:

V_D (л)	4	15	55	200
$t_{1/2}$ (мин)	20	80	290	1060

Если объем распределения вещества известен, то на основе величины периода полувыведения можно также судить, быстрее или медленнее элиминируется вещество, чем можно было бы ожидать, исходя из расчета скорости фильтрации плазмы. Если отличия существенны, следует думать о дополнительных механизмах выведения вещества через почки.

2.2. Канальцевая реабсорбция

Гломерулярный фильтрат с растворенными в нем ксенобиотиками переходит из боуеновой капсулы по извитым канальцам, петле Генле, дистальному отделу канальцев в собирательные трубки. Длина каждого из 2 млн канальцев равна 3 - 5 см. Общая площадь поверхности канальцев равна примерно 7 - 8 м² (таблица 2).

Таблица 2. Площади поверхности различных отделов нефрона.

Часть нефрона	Площадь (м ²)
Гломерулы	0,5 - 1,5
Канальцы 1 порядка (основной отдел)	4,25
Петля Генле (тонкая часть)	0,48
(толстая часть)	1,55
Канальцы 2 порядка (дополнительный отдел)	0,98

Первичная моча (фильтрат плазмы крови) в значительной части распространяется по этой поверхности в виде тонкой пленки. Благодаря этому удается достичь высокой эффективности процесса диффузии через клеточный слой канальца. По своим свойствам первичная моча ни чем не отличается от сыворотки крови. Она содержит такую же концентрацию ксенобиотика, как и плазма. Следовательно, между жидкостями не существует градиента концентрации веществ. В различных отделах почечных канальцев (и уже в проксимальном их отделе) происходит активная обратная резорбция из первичной мочи отфильтрованной воды, а также многочисленных химических веществ. Из 130 мл первичной мочи в канальцах реабсорбируется 129 мл воды (99%). Это приводит к очень значительному повышению концентрации растворенных в моче веществ и среди них ксенобиотиков. Таким образом, формируется высокий градиент концентрации веществ между содержимым канальцев и плазмой крови. Именно он является движущей силой обратной диффузии веществ из первичной мочи в кровь. Процессу свободной диффузии препятствует барьер, формируемый эпителием канальцев, межклеточным веществом и эндотелием капилляров, оплетающих стенку канальцев. В целом свойства этого барьера аналогичны свойствам гистогематических барьеров других тканей. Определяющей является проницаемость эпителия канальцев. Закономерности, определяющие процесс диффузии ксенобиотиков и их метаболитов через стенку канальцев, полностью идентичны описанным ранее. Реабсорбции, прежде всего, подвергаются: а) жирорастворимые вещества; б) неионизированные молекулы водо-растворимых веществ; в) вещества с низкой молекулярной массой.

Проницаемость канальцевого барьера почти тождественна проницаемости слизистой кишечника, поэтому вещества, легко всасывающиеся при приеме через рот, затем трудно выводятся через почки, так как легко реабсорбируются из первичной мочи обратно в кровоток, а затем обратно - из кровотока в первичную мочу. Такая длительная тубуло-гломерулярная рециркуляция веществ (как правило, хорошо растворимых в липидах) приводит к существенному замедлению процесса их элиминации. Метаболизм ксенобиотиков (см. выше) во многом и предназначен для превращения жирорастворимых (плохо выводящихся из организма) веществ в водо-растворимые, способные к выведению из организма, соединения.

Выделение через почки слабых кислот и оснований существенно зависит от pH мочи. Как уже указывалось, вещества могут подвергаться реабсорбции в том случае, если молекула их не ионизирована. Из этого следует, что при подкислении мочи (путем назначения хлористого аммония) слабые основания (например алкалоиды) будут переходить в ионизированную форму, хуже реабсорбируются и лучше выводятся из организма. При подщелачивании мочи (например, путем приема соды), по той же причине, из организма лучше будут выводиться слабые кислоты (например, барбитураты).

Помимо пассивной диффузии некоторые вещества в канальцах подвергаются активной реабсорбции. К числу таких веществ относятся естественные метаболиты: лактат, глюкоза, мочевая кислота, которые после их фильтрации в первичную мочу, попадают обратно в кровь. Для ксенобиотиков этот механизм не имеет существенного значения.

2.3. Канальцевая секреция

Многие органические кислоты (пробеницид, глюкуроны, салициловая кислота, пенициллин и т.д.) быстро переходят из крови в мочу. В основе быстрого переноса таких соединений в просвет почечных канальцев лежит активный транспорт. Транспортные системы находятся в проксимальном отделе почечных канальцев. Этот процесс направлен против градиента концентрации вещества, является насыщаемым, зависит от интенсивности обмена веществ, конкурентно ингибируется веществами с близким строением. Так, пробеницид блокирует экскрецию пенициллина или р-аминсалициловой кислоты. Специфичность транспортных механизмов невелика. Условием переноса является наличие в молекуле групп COOH- или SO_3^- и гидрофобного участка. Переносу подлежат соединения как простого, так и сложного строения. Связывание субстрата с молекулами-переносчиками осуществляется за счет ионных и водородных связей.

Иногда процессу активной секреции из крови в просвет канальцев противодействует простая диффузия вещества в противоположном направлении. Например, мочевая кислота с одной стороны активно секретируется, а с другой - пассивно диффундирует обратно в кровоток. Пробеницид в большей степени угнетает реабсорбцию вещества и поэтому при его введении наблюдается усиленная экскреция мочевой кислоты из организма.

В почечных канальцах существует система активного выведения и веществ со свойствами слабых оснований: тетраэтиламмония, алкалоидов (морфина, хинина), имипрамина, мекамиламина и др. Эта система не блокируется пробеницидом.

Механизмы активной секреции обнаруживаются у большинства позвоночных.

2.4. Совместное действие механизмов почечной экскреции

Количество отфильтрованного вещества в единицу времени можно рассчитать по формуле:

$$\text{GFR } C_p = V C_n, \text{ где}$$

GFR - скорость гломерулярной фильтрации (мл/мин)

C_p - концентрация вещества в плазме крови

C_n - концентрация вещества в моче

V - объем мочи (мл)

Формула справедлива для веществ, не подвергающихся реабсорбции (например, для инулина с $\text{MB} = 5500$). С помощью инулина можно оценить характеристики гломерулярной фильтрации. При достижении равновесного состояния концентрации веществ в плазме (C_p) имеем:

$$\text{GFR} = V C_n / C_p = \text{Cl}_{\text{ин}}$$

Получаемая величина называется клиаренсом. Клиаренс (Cl) - это объем плазмы крови, очищаемой от токсиканта в единицу времени. В условиях клиники исследуют легко определяемый клиаренс инулина, по значению которого (129 мл/мин) можно судить о состоянии гломерулярной фильтрации.

При сравнении клиаренса инулина с клиаренсом других веществ могут быть получены три вида результатов (см. рисунок 2):

1. $\text{Cl}_{\text{вещества}} / \text{Cl}_{\text{ин}} = 1$. Почечное выделение вещества осуществляется только путем гломерулярной фильтрации.

2. $\text{Cl}_{\text{вещества}} / \text{Cl}_{\text{ин}} < 1$. Выделяется меньше вещества, чем отфильтровывается, т.е. возможна канальцевая реабсорбция.

3. $\text{Cl}_{\text{вещества}} / \text{Cl}_{\text{ин}} > 1$. Выделяется больше вещества, чем отфильтровывается, т.е. возможна активная канальцевая секреция вещества.

ФИЛЬТРАЦИЯ

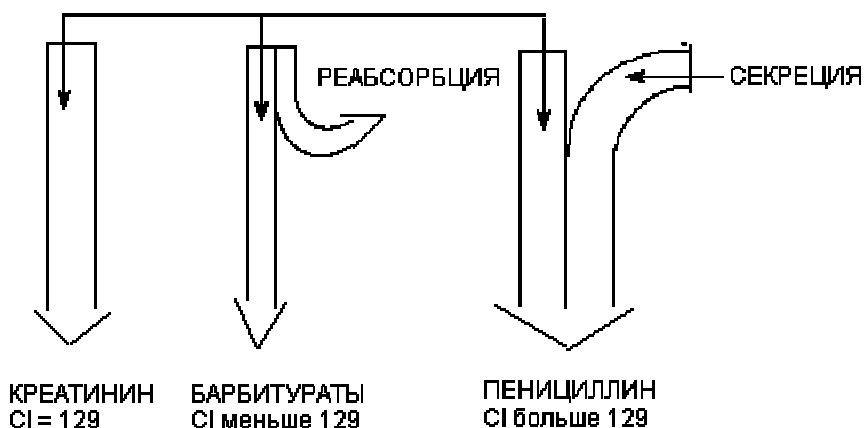


Рисунок 2. Схема, иллюстрирующая совместное действие механизмов, влияющих на почечную экскрецию

О механизмах, лежащих в основе выведения ксенобиотиков через почки, можно судить и по соотношению их концентраций в моче и плазме крови. Если это соотношение близко 100 - в основе процесса лежит фильтрация; если существенно меньше 100 - фильтрации сопутствует реабсорбция значительной части токсиканта; если больше 100 - преобладают механизмы секреции ксенобиотика (таблица 3).

Таблица 3. Соотношение концентраций в моче и плазме крови (моча/плазма) некоторых органических соединений

Вещество	Моча/плазма
Алифатические углеводороды	0,07 - 0,09
Хлорированные углеводороды	0,1 - 1,0
Кетоны	1,0 - 1,3
Алифатические спирты	1,0 - 1,3
Гликоли	3,0 - 5,0
Эфиры полигликолей	40 - 70
Динитро-о-крезол	0,2
Трихлоруксусная кислота	3,0
Конъюгированные фенолы	300

3. Выделение печенью

В отношении ксенобиотиков, попавших в кровоток, печень выступает и как орган экскреции и как основной орган их метаболизма. Печень выделяет химические вещества в желчь, причем не только экзогенные, но и эндогенные, такие как желчные кислоты, желчные пигменты, электролиты.

Выделяющиеся вещества должны проходить через барьер, образуемый эндотелием печеночных синусов, базальной мембраной и гепатоцитами. Структура барьера более подробно рассмотрена ранее.

В процессе экскреции ксенобиотиков осуществляется в два этапа:

- захват гепатоцитами;
- выделение в желчь.

Оба этапа могут проходить либо в форме простой диффузии, либо активного транспорта. Механизм выделения определяется строением вещества:

1. Захват гепатоцитами.

А. Диффузия:

- липофильные молекулы.

Б. Система активного транспорта:

- желчные кислоты и соединения с близким строением (фаллотоксин);
- билирубин;
- органические анионы (варфарин, оротовая кислота, рифампицин);
- органические катионы (четвертичные соединения азота, прокаинамид);
- нейтральные органические молекулы (оубаин, стероидные гормоны);
- металлы (железо, кадмий).

В. Пиноцитоз:

- макромолекулы, протеины;

2. Билиарная экскреция.

А. Диффузия:

- неорганические ионы.

Б. Система активного транспорта:

- желчные кислоты;
- органические анионы;
- а) без биотрансформации:
 - хлортиозид и др.
- б) после конъюгации:
 - билирубин, стероиды, гексахлорфенол и др.
 - органические анионы (тубокурарин);
 - нейтральные органические соединения (оубаин, моносахариды).

3. Пиноцитоз:

- макромолекулы, белки.

Свободная диффузия веществ, связанных с белками плазмы крови, практически не возможна. Напротив, путем активного захвата (пиноцитоза) из плазмы могут удаляться и связанные с белками вещества.

Ксенобиотики, попавшие в гепатоциты, отчасти определяются в цитозоле, отчасти - в отдельных субклеточных фракциях. Как известно в печени осуществляется метаболизм многих веществ. Именно они, прежде всего, и фиксируются различными протоплазматическими структурами. Часть соединений, в том числе и эндогенных (билирубин), находится в связанной с белками форме, что также имеет значение для их элиминации и детоксикации. Гепатоциты синтезируют специальные белки, ответственные за выведение ксенобиотиков из клеток, это так называемые мультиспецифичные переносчики органических анионов (MRP) и р-гликопротеины (P-gp). Оба типа белков первоначально были обнаружены в клетках резистентных к токсическому действию противоопухолевых препаратов. Позже было установлено, что их функция - активный транспорт ксенобиотиков через клеточные мембраны. MRP способны переносить

лиганды, конъюгированные с глутатионом, глюкуроновой кислотой, сульфатом. Таким образом, II фаза метаболизма не только превращает вещества в более растворимые в воде, но и "подготавливает" к активному транспорту за пределы клетки. Р-гр транспортируют в основном жирорастворимые ароматические соединения с молекулярной массой 300 - 500 дальтон и амфифильные молекулы, содержащие катионную аминогруппу.

В желчи в том или ином количестве обнаруживаются вещества, относящиеся практически ко всем классам химических соединений. В соответствии со значением коэффициента $C_{ж}/C_{п}$ ($C_{ж}$ - концентрация в желчи; $C_{п}$ - концентрация в плазме крови) ксенобиотики могут быть разделены на три группы.

Вещества, выделяющиеся печенью путем простой диффузии, могут оказаться в желчи лишь в концентрации, равной его концентрации в плазме крови ($C_{ж} = C_{п}$). Так, для ионов Na^+ , K^+ , Cl^- коэффициент $C_{ж}/C_{п}$ приблизительно равен 1,0.

Для веществ, попадающих в гепатоцит, а затем и в желчь, с помощью механизмов активного транспорта, коэффициент может быть существенно выше 1,0. Как правило, активно выделяются печенью амфифильные вещества, содержащие в молекуле как полярные, так и неполярные группы. У некоторых соединений, нашедших применение в клинической практике, значение коэффициента очень велико (прокаинамид-этобромид - 118, хинин - 19,7). Из веществ, активно секретируемых в желчь, наиболее изученным является бромсульфолеин. У крыс при введении в дозе 5 мг/кг лишь 10% сохраняется в плазме крови, а 90% переходит в ткани, из них 80% - в печень, с последующим выделением в желчь.

Наконец, некоторые химические вещества плохо проникают в гепатоциты и желчь. Для них коэффициент $C_{ж}/C_{п}$ меньше 1,0. Среди таковых - макромолекулы, например, инсулин, фосфолипиды, белки.

Молекулярная масса соединения является важнейшим фактором, определяющим путь его элиминации. Существует порог, ниже которого располагаются вещества, выделяющиеся преимущественно через почки, выше - через печень. Значение порога достаточно условно, поскольку неодинаково у представителей различных видов: у крыс - 325 дальтон, у морских свинок - 400, у кроликов - 475, 500 - 700 - у человека. Кроме того, преимущественно через почки выделяются вещества, хорошо растворяющиеся в воде, даже с молекулярной массой выше "пороговых" значений (таблица 4).

Таблица 4. Экскреция производных бифенила у крыс

Ксенобиотик	Мол. масса	Моча (%)	Кал (%)
Бифенил	154	80	20
4-моноклорбифенил	188	50	50
4,4-дихлорбифенил	223	34	66
2,4,5,2,5-петахлорбифенил	326	11	89
2,3,6,2,3,6-гексахлорбифенил	361	1	99

(Hodgson E., Guthrie F.E., 1980)

Попавшие в желчь вещества увеличивают ее осмотическое давление, что вторично способствует переходу в этот секрет воды и растворенных в ней ионов. Вследствие этого ксенобиотики, активно выделяющиеся в желчь, в той или иной степени обладают желчегонным действием.

Печеночный клиаренс определяется как:

$$Cl = F_{\text{печ}} (C_a - C_v) / C_a, \text{ где}$$

C_a - концентрация веществ в крови печеночной артерии и портальной вены;

C_v - концентрация веществ в крови печеночной вены;

$F_{\text{печ}}$ - интенсивность печеночного кровотока (мл/мин).

Если захват вещества гепатоцитами осуществляется с большой скоростью, то клиаренс пропорционален скорости печеночного кровотока. Эта величина в норме у человека составляет около 1 мл/мин на г печеночной ткани.

Скорость выведения некоторых веществ в желчь весьма велика. Например период полувыведения бенз(а)пирена печенью крыс после внутривенного введения составляет около 1,7 минуты, т.е. в течение 5 минут выделяется около 60% от введенной дозы. Однако это совсем не означает, что с такой же скоростью вещество выводится из организма. Дело в том, что если с желчью выделяется липофильное соединение, то в просвете кишечника, оно подвергается быстрой обратной резорбции и по системе портальной вены вновь поступает в печень - развивается "внутрипеченочная циркуляция" ксенобиотика. Поэтому жирорастворимые вещества (в том числе и бенз(а)пирен) надолго задерживаются в организме. Их элиминация возможна лишь в результате биотрансформации в той же печени и/или других органах (см. выше). Таким образом, путем билиарной экскреции из организма с калом могут выделяться только плохо растворимые в жирах соединения.

4. Выделение через кишечник

С экскрементами вещество или его метаболит выделяются в следующих случаях:

- а) в результате неполного всасывания в желудочно-кишечном тракте;
- б) в результате билиарной экскреции без последующей реабсорбции в кишечнике;
- в) в результате выделения слизистой желудочно-кишечного тракта.

Упомянутые обстоятельства могут складываться изолированно, либо действовать в комплексе.

Под интестинальной экскрецией понимают процесс перехода вещества или его метаболитов из крови в просвет кишечника с последующим выделением с фекалиями.

Некоторые вещества выделяются в значительном количестве уже в желудке (морфин, некоторые другие алкалоиды). Это наблюдается даже при парентеральном способе введения указанных соединений и является следствием значительного различия pH крови и содержимого желудка (см. выше). Токсиканты, способные выделяться в просвет желудка, в кислой среде находятся исключительно в протонированной форме и потому не всасываются обратно в кровь. Однако если при переходе в кишечник (щелочная среда),

выделившееся вещество вновь превращается в неионизированную форму, оно всасывается обратно в кровь и не выделяется из организма. Промывание желудка в подобных ситуациях может оказаться весьма полезной процедурой, позволяющей существенно ускорить удаление токсиканта из организма.

Жирорастворимые вещества могут выделяться в просвет кишечника путем простой диффузии, однако вследствие реабсорбции, их концентрация при этом не будет превышать концентрацию в плазме крови. Тем не менее, сравнение в эксперименте интенсивности выделения жирорастворимых веществ почками и кишечником показывает, что преобладает кишечная экскреция.

Некоторые соединения, например моночетвертичные азотсодержащие вещества (N-метилскополамин, N-метилникотинамид, тетраэтиламмоний и т.д.) после внутривенного введения экспериментальному животному обнаруживаются в просвете кишечника.

Выделение с калом характерно для тяжелых металлов. Особенности и механизмы процесса до конца не изучены. Не исключено, что экскретируются элементы в связанной с белками форме. Выведение свинца, например, существенно увеличивается при увеличении в рационе белковых продуктов.

5. Другие пути выведения

Некоторое практическое значение имеет выведение веществ с молоком кормящих матерей и секретом потовых, сальных, слюнных желез. Как правило, в основе появления токсиканта в секрете желез лежит механизм простой диффузии. Эти способы экскреции практически не сказываются на продолжительности нахождения веществ в организме, но могут лежать в основе появления отдельных признаков интоксикации (угреобразная сыпь при отравлении полигалогенированными полициклическими углеводородами; свинцовая кайма на деснах). Возможно отравление новорожденных, питающихся молоком матери, кантаминированным такими веществами как кофеин, алкоголь, витамины, гормональные препараты, галогенсодержащие инсектициды, металлы и т.д.

Элиминация ксенобиотиков в молоко зависит от степени их персистентности в организме. Быстро элиминируемые, хорошо растворимые в воде ксенобиотики таким путем практически не выделяются. Жирорастворимые соединения с большим периодом полувыведения определяются в молоке порой в значительных количествах. Так в эксперименте установлено, что элиминация хлорсодержащих инсектицидов в коровье молоко может составлять до 25% от введенного количества.

ГЛАВА 4.6. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТОКСИКОКИНЕТИКИ

Важнейшим этапом изучения токсикокинетики ксенобиотика является определение количественных характеристик процессов резорбции, распределения, элиминации. Методология определения токсикокинетических констант постоянно совершенствуется. Её развитие сопряжено с внедрением в практику исследований новых методов количественного определения веществ в биосредах и развитием математического аппарата анализа данных. Ниже будет представлена характеристика некоторых, наиболее часто встречающихся, методических приемов.

1. Скорость элиминации. Константа скорости элиминации. Время полуэлиминации

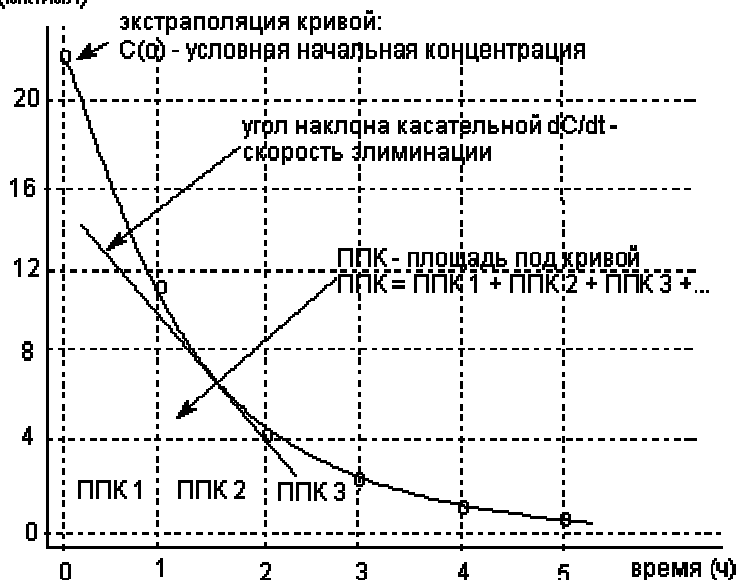
Как указывалось ранее, в понятие элиминации включаются все процессы, приводящие к снижению содержания чужеродного вещества в организме. Для количественной характеристики элиминации прибегают к проведению основного (базисного) токсикокинетического эксперимента. В ходе эксперимента внутривенно вводят исследуемое вещество в дозе "Д", а затем определяют в динамике концентрацию вещества "С" в плазме крови. Полученные результаты представляют в графической форме зависимости "С" от времени после введения "t" (рисунок 1). В большинстве случаев зависимость имеет вид экспоненты: временная зависимость 1-го порядка. В соответствии с кинетическим уравнением 1-го порядка имеем:

$$dC/dt = -K_E C,$$

т.е. скорость процесса в каждый момент времени пропорциональна концентрации вещества.

Мерой скорости элиминации вещества является величина угла наклона касательной к кривой, проведенной в интересующей исследователя точке, или величина дифференциала dC/dt . Скорость элиминации уменьшается с течением времени, поскольку уменьшается величина С. Однако неизменной характеристикой процесса остается коэффициент пропорциональности K_E .

концентрация
в плазме
(мкг/мл)



уровни действия
концентраций

токсическая

"полезная"

условно
действующая

недействующая

Рисунок 1. Зависимость концентрации вещества в плазме крови от времени после внутривенного введения

Интегрируя уравнение, имеем:

$$\ln C_0/C_t = K_E t, \text{ где}$$

C_0 - исходная концентрация вещества;

C_t - концентрация вещества в момент времени t;

t - время после введения вещества;

K_E - константа скорости процесса элиминации;

Для определения K_E необходимо представить зависимость концентрации вещества в плазме от времени в полулогарифмической системе координат (рисунок 2). При этом зависимость приобретает линейный характер. Константа элиминации определяется как честное от деления $\Delta \ln C / \Delta t$. После определения величины K_E легко определить еще один важный токсикокинетический параметр, а именно величину времени полуэлиминации ($t_{1/2}$), т.е. время в течение которого из организма элиминируется половина введенного вещества. Время полуэлиминации связано простой зависимостью с величиной константы скорости элиминации:

$$t_{1/2} = \ln 2 / K_E = 0,693 / K_E$$

Ln концентрации
в плазме

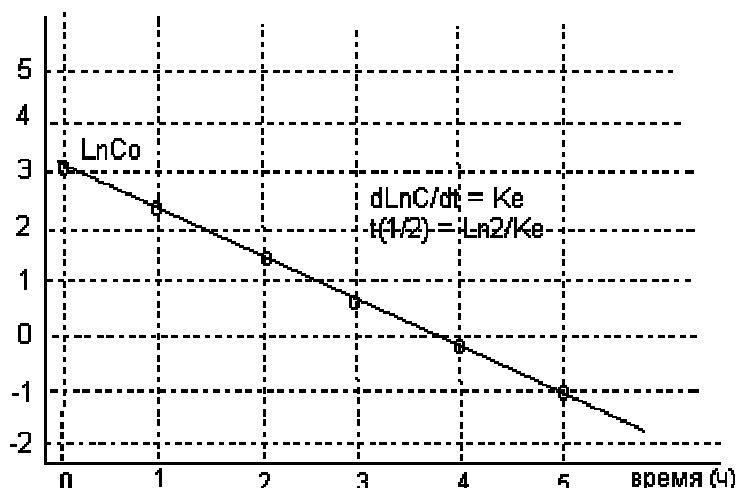


Рисунок 2. Зависимость концентрации вещества в плазме крови от времени после внутривенного введения в системе полулогарифмических координат

2. Объем распределения.

Представление зависимости концентрации вещества в крови от времени в полулогарифмических координатах (рисунок 2) позволяет расширить информацию об особенностях токсикокинетики вещества, введенного внутривенно.

Начальная концентрация вещества C_0 в плазме крови не доступна для непосредственного измерения, поскольку необходимо время перемешивания ксенобиотика в крови (этап конвекции). Однако как условная величина C_0 имеет токсикокинетическое значение. Она может быть определена путем экстраполяции прямой зависимости $\ln C$ от времени к моменту $t = 0$. Значение C_0 и величина введенной дозы D позволяют рассчитать объем распределения вещества V_d до того, как начался процесс элиминации ксенобиотика:

$$V_d = D/C_0$$

Отнеся полученную величину к массе тела (M) получаем значение (V_R):

$$V_R = V_d/M$$

Значения относительного объема распределения и времени полуэлиминации некоторых ксенобиотиков представлены в таблице 1.

Таблица 1. Токсикокинетические характеристики некоторых веществ

Вещества	V_K (л/кг)	$t_{1/2}$ (ч)
Ацетилсалициловая кислота	0,14	0,25
Пенициллин G	0,30	0,5
Нитроглицерол	0,35	6,5
Дигитоксин	0,50	180
Этанол	0,55	-
Фенобарбитал	0,80	80
Морфин	3,0	2,5
Дигоксин	10,0	36
Хлорпромазин	20,0	40

3. Клиаренс

Под клиаренсом понимают условный объем плазмы крови (мл), который полностью освобождается от находящегося в ней ксенобиотика в единицу времени. По Досту (Dost) все процессы, участвующие в элиминации вещества в конечном итоге суммируются и определяют так называемый "общий клиаренс" вещества (Cl_{tot}). При этом можно выделить элементы общего клиаренса, обеспечиваемые деятельностью основных органов выведения: почек, печени, легких, и метаболизмом ксенобиотиков, и рассматривать их отдельно как почечный (Cl_R), печеночный (Cl_H) и т.д. клиаренс:

$$Cl_{tot} = Cl_R + Cl_H + Cl \dots$$

Определение общего клиаренса осуществляется на основе данных, полученных в ходе базисного токсикокинетического эксперимента (см. выше). Для этого по данным, представленным на рисунке 1, определяют величину площади под кривой зависимости "концентрация-время" (ППК). Клиаренс рассчитывают как:

$$Cl_{tot} = D/ППК$$

Чем больше площадь под кривой при введенной дозе ксенобиотика, тем ниже значение клиаренса, т.е. тем дольше вещество выводится из организма. Клиаренс через отдельные органы рассчитывают с учетом количества вещества, выделяемого через эти органы. Значения клиаренса некоторых летучих токсикантов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Респираторный и метаболический клиаренс некоторых летучих органических растворителей у человека

Растворители	Респираторный клиаренс	Метаболический клиаренс

	л/ч	%	л/ч	%
Бензол	43	36	75	64
Толуол	22	18	100	82
Ксилол	13	10	116	90
Стирол	6	4	157	96
Дихлорметан	35	18	157	96
Хлороформ	33	23	108	77
Четыреххлористый углерод	140	93	11	7
1,1-дихлорэтан	72	41	105	59
1,2-дихлорэтан	17	12	130	88
1,1,1-трихлорэтан	102	97	3	3
1,1,2-трихлорэтан	9	7	116	93
1,1,1,2-тетрахлорэтан	11	20	45	80
1,1,2,2-тетрахлорэтан	3	4	73	96
Трихлорэтилен	36	25	104	75
Тетрахлорэтилен	26	90	3	10

(A. Sato, T. Nakajima, 1987)

На принципе определения величины ППК основывается расчет и другой токсикокинетической характеристики вещества - биодоступности.

4. Биодоступность

Под биодоступностью понимают способность вещества, находящегося в определенном агрегатном состоянии и связи с инертными носителями (почва, пища, растворитель и т.д.), абсорбироваться во внутренние среды организма и достигать места взаимодействия с системами-мишенями.

Поскольку место действия для подавляющего большинства токсикантов не определено, или недоступно для экспериментального анализа, принято допущение, согласно которому содержание вещества в крови линейно связано с величиной его биодоступности.

В соответствии с принципом Доста мерой биодоступности вещества в водимой дозе может являться величина ППК, которая не зависит от временных характеристик процесса резорбции. Чем больше ППК вещества при различных способах введения, тем выше его биодоступность, тем более выражено действие данного ксенобиотика на организм. Сравнение ППК при внутривенном способе и иных способах аппликации (например, ингаляционном, трансдермальном и т.д.) позволяет определить квоту резорбции токсиканта через различные "входные ворота" - частный случай характеристики биодоступности:

$$Q_R = \text{ППК}_{\text{инт}} / \text{ППК}_{\text{в/в}} \text{ и т.д.}$$

Фракция (F) апплицированной дозы вещества (в конкретном примере равна Q_R) определяет то количество действующего агента, которое достигло общего кровотока. При иных, кроме внутривенного, способах введения ксенобиотиков $F < 1$. В основе этого лежат неполная абсорбция вещества или/и его метаболизм в органах поступления (коже, легких, кишечнике, печени).

При поступлении вещества через рот следует выделять несколько фракций токсиканта в крови:

F_G - фракция токсиканта в крови портальной системы;

F_L - фракция токсиканта экстрагируемая печенью;

F - фракция токсиканта, попавшая в общий кровоток. Причем:

$$F = F_G (1 - F_L)$$

Так, если 80% вещества достигает портальной системы, а 30% при этом еще и экстрагируется печенью, то общего кровотока достигает: $F = 0,8 \cdot 0,7 = 0,56$, т.е. 56% от введенного количества.

Однако в таком прочтении величина биодоступности не может в полной мере отражать последствия действия токсиканта на организм. Дело в том, что ППК при разных способах воздействия может быть одинаковой, но различная скорость поступления и одновременно протекающая элиминация соединения могут привести к совершенно разным эффектам одного и того же вещества. Пример такой ситуации приведен на рисунке 3.

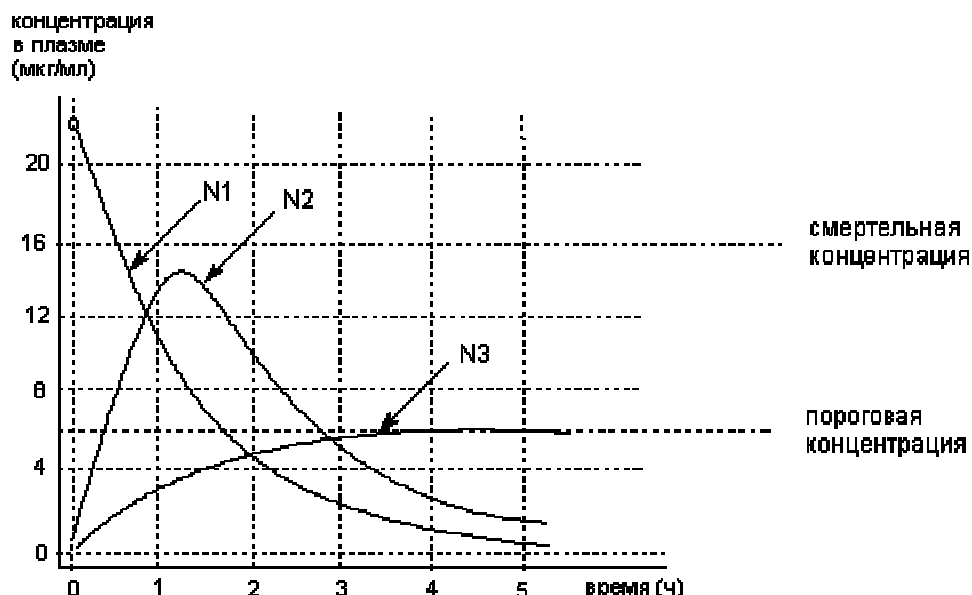


Рисунок 3. Кривые динамики концентрации вещества Д в плазме крови экспериментального животного при различных способах воздействия:

N1 - внутривенное введение

N2 - введение через желудочно-кишечный тракт

N3 - введение через желудочно-кишечный тракт в форме, адсорбированной на ионно-обменной смоле

Как показано на рисунке, площадь под кривыми 1, 2, 3 после воздействия вещества в дозе Д различными способами практически одинакова, однако формирующиеся эффекты различны.

5. Соотношение между значениями клиаренса, объема распределения и времени полувыведения вещества

Клиаренс - характеристика скорости элиминации ксенобиотика. Независимой от клиаренса является величина объема распределения. Она определяется способностью веществ растворяться в воде, липидах, связываться с биосубстратом. Сильное связывание молекул токсиканта тканями приводит, при расчетах, к большим значениям V_d . Период полувыведения является функцией объема распределения и скорости элиминации:

$$t_{1/2} = \ln 2 \cdot V_d / Cl_{tot}$$

Из уравнения следует, что чем больше объем распределения при одном и том же значении клиаренса, тем дольше выводится вещество из организма. Усиление клиаренса сокращает период полувыведения.

Клиаренс может быть определен, как произведение константы элиминации на объем распределения:

$$Cl_{tot} = K_E \cdot V_d = \ln 2 \cdot V_d / t_{1/2}$$

При оценке полученных результатов необходимо иметь в виду, что в реальных условиях ни константа элиминации ни объем распределения не являются в полной мере величинами независимыми от времени после введения препарата.

6. Компартменты

Под компартментом в количественной токсикокинетике понимают некий гипотетический объем жидкости организма, в котором, в соответствии с едиными количественными характеристиками, "растворяется" вещество, поступившее во внутренние среды. Токсикокинетические компартменты не имеют ни анатомических, ни физиологических эквивалентов. В зависимости от желания исследователя можно представить организм в виде одного, двух, нескольких, многих компартментов и на основе этого представления произвести расчет интересующих токсикокинетических констант.

При определении и расчетах упомянутых в предыдущих разделах характеристик исходили из представления о наличии в организме лишь одного компартмента равного по величине V_d . Реально в организме существует множество сред с различными свойствами и неодинаковой способностью связывать вещества. Желание экспериментаторов учесть эти особенности привели к созданию многокомпарментных математических моделей описания токсикокинетики соединений (рисунок 4). Однако в настоящее время нет возможности доказать, что двух-, трех-, наконец многокомпарментные модели более корректны, чем однокомпарментная, так как с биологических позиций они все же не физиологичны. Поэтому полагают, что любая математическая модель в принципе без большого ущерба может быть редуцирована до двухкомпарментной (водная фаза - липидная фаза) модели, а на практике по-прежнему наиболее часто используемой является однокомпарментная модель описания поведения вещества в организме.

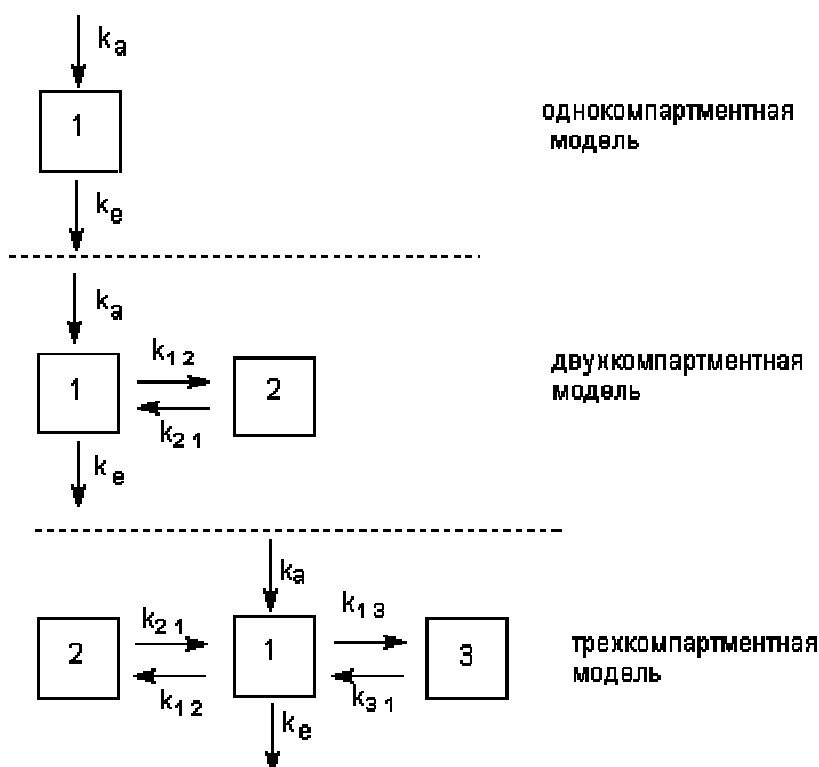


Рисунок 4. Токсикокинетические модели:

 k_a - константа скорости абсорбции; k_e - константа скорости элиминации; k_{12} - константы скорости движения веществ между компартаментами**6.1. Однокомпарментная модель**

При описании токсикокинетических процессов с помощью этой модели исходят из допущения, что вещество, попав в организм, полностью распределяется в едином пространстве, равном по величине объему распределения (V_d). Хотя такая модель достаточно груба для реальных процессов, происходящих в организме, она позволяет дать количественные характеристики, необходимые для описания свойств токсиканта. Эта модель получила самое широкое распространение в практике токсикологических исследований и используется значительно чаще, чем любая другая. Ниже приведены примеры её использования для описания нескольких ситуаций.

6.1.1. Моделирование поведения ксенобиотика при однократном внутривенном введении

В этой модели делается допущение, что вещество, быстро введенное внутривенно, мгновенно и равномерно распределяется в жидкостях и тканях организма. Под "организмом" понимают некий компармент с определенным объемом. При этом в единице объема крови содержится количество ксенобиотика, которое отражает его содержание во всем "организме" (объеме). Метаболизм вещества не учитывается, а выведение рассматривается, как процесс, подчиняющийся закону кинетики 1-го порядка (скорость выведения определяется концентрацией вещества в крови: $v = f(C)$). Это позволяет предположить:

$$-b^* = K_E b \text{ и } b_t = b_0 e^{-K_E t}, \text{ где}$$

 b^* - изменение содержания вещества в крови; b_0 - содержание вещества в крови в момент времени $t = 0$ (т.е. величина, равная дозе вещества D , введенной внутривенно); b_t - содержание вещества в крови в любое другое время после введения.

Если в качестве органа элиминации выступает только какой-то один орган, например почки, то количество вещества, ушедшего из крови, должно быть равно количеству, выделившегося с мочой: $u_t = b_0 - b_t$, или иначе: $u_t = b_0 (1 - e^{-K_E t})$.

Течение этих процессов (выделения и снижения содержания в крови) графически представлено на рисунке 5.

концентрация
в плазме (% от
введенной дозы)

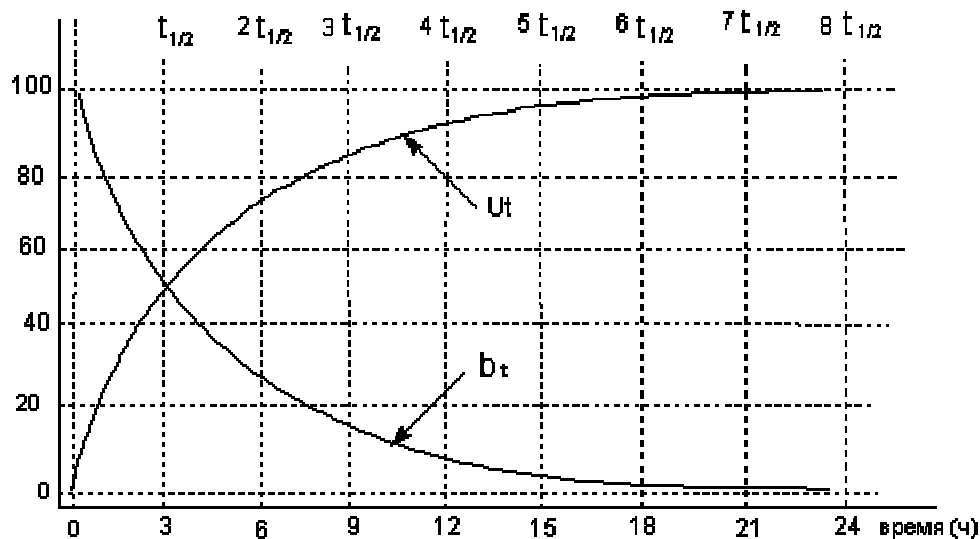


Рисунок 5. Однокомpartmentная модель: кривая элиминации из крови (b_t) и поступления в мочу (U_t) вещества с периодом полувыведения 3 часа ($K_E = 0,23 \text{ ч}^{-1}$)

Для характеристики концентрации вещества в крови справедливо выражения:

$$C_t = b_t / V_d$$

При переводе данных в систему полулогарифмических координат можно легко определить значение K_E и C_0 (см. выше).

Исходя из дозы, введенного в организм вещества, и его концентрации C_0 рассчитывают объем распределения V_d . В связи с тем, что процесс подчиняется кинетике 1-го порядка можно записать:

$$t_{1/2} = 0,693 / K_E$$

По прошествии времени, равного $5t_{1/2}$ в "организме" остается около 3% введенного количества вещества.

Почечный клиаренс рассчитывается как:

$$Cl_R = K_E V_d$$

Поскольку $u = K_E b$, а $b = C V_d$, имеем: $u = Cl_R C$, т.е. клиаренс есть константа пропорциональности между величинами скорости выведения вещества через почки и концентрацией его в плазме крови. Иными словами клиаренс можно представить, как угол наклона прямой зависимости между количеством вещества, выделившегося в мочу за единицу времени Δt (u^*) и концентрацией вещества в плазме.

6.1.2. Моделирование поведения ксенобиотика с параллельными путями выведения

Помимо выведения вещества через почки (u) возможно выведение и другими органами, например печенью (G), что приводит к более быстрому снижению его содержания в крови. Полагают, что оба процесса выведения подчиняются закону кинетики 1-го порядка. При этом $K_E = K_1 + K_2$, где:

$$b^* = -(K_1 + K_2)b; u^* = K_1 b; G^* = K_2 b.$$

При этом для характеристики количества вещества, выделяющегося с мочой или желчью, имеем:

$$u_0/D = K_1/K_2; G_0/D = K_2/K_1, \text{ где}$$

u_0/D - часть введенной дозы вещества, выведенная за исследуемое время через почки;

G_0/D - часть введенной дозы вещества, выведенная за исследуемое время через печень.

Т.е. соотношение количества вещества, выделяющегося различными путями пропорционально константам скоростей элиминации через эти органы:

$$Cl_{tot} = Cl_H + Cl_R$$

6.1.3. Моделирование поведения ксенобиотика полностью резорбирующегося из места введения

Как правило, токсикант поступает в организм не путем внутривенного введения, а в результате резорбции через легкие, кожу, желудочно-кишечный тракт, из подкожного или внутримышечного депо. При моделировании поведения ксенобиотика полагают, что резорбция также есть кинетический процесс первого порядка.

Предположим в момент времени $t = 0$ вещество в дозе D быстро попало в депо M и начался процесс его резорбции в кровь с одновременной элиминацией через почки (u).

Все процессы, приводящие к повышению содержания вещества в крови, вследствие выхода его из места депонирования (поступления в организм) можно обозначить как инвазивные и условно объединить их в единый процесс с константой скорости инвазии K_A . Напротив, все процессы, приводящие к уменьшению содержания вещества в организме, обозначаются как элиминационные (см. выше) с константой K_E . Как правило, при воздействии вещества наблюдаются оба процесса.

Динамика концентрации вещества в плазме крови при этом может быть описана функцией Батемана (Bateman):

$$C_t = D/V_d K_A (K_A - K_E) (e^{-K_E t} - e^{-K_A t}).$$

Типичная кривая Батемана представлена на рисунке 6 (для вещества с соотношением K_A/K_E равным 2)

концентрация в плазме
(частей от введенной
дозы)

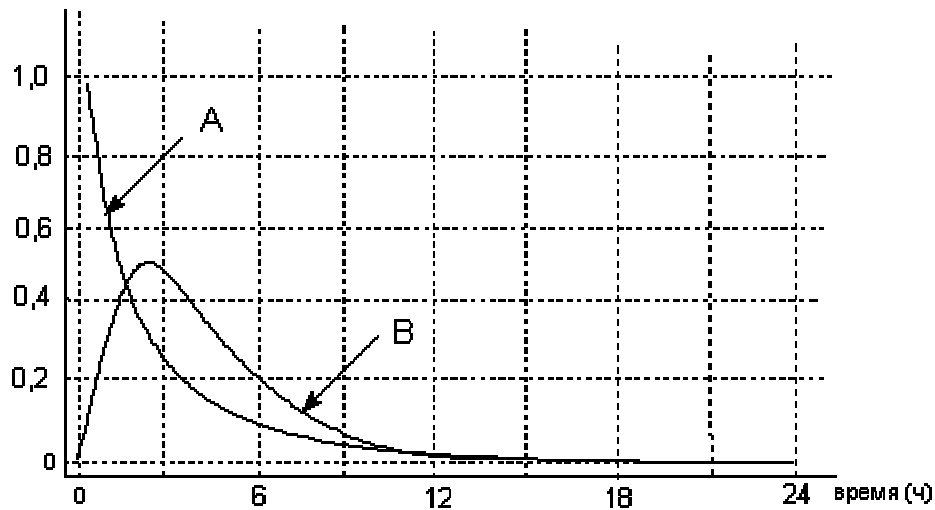


Рисунок 6. Динамика концентрации вещества в крови (кривая В) при одновременном течении процессов резорбции и элиминации. Соотношение K_A/K_E равно 2. Кривая А - концентрация вещества в месте аппликации.

На рисунке 7 представлены кривые Батемана для веществ с различными значениями констант скорости инвазивного процесса и одинаковым значением константы скорости элиминации. Все максимумы функций лежат выше кривой, отражающей динамику содержания веществ в крови при их внутривенном введении.

концентрация в плазме
(частей от введенной
дозы)

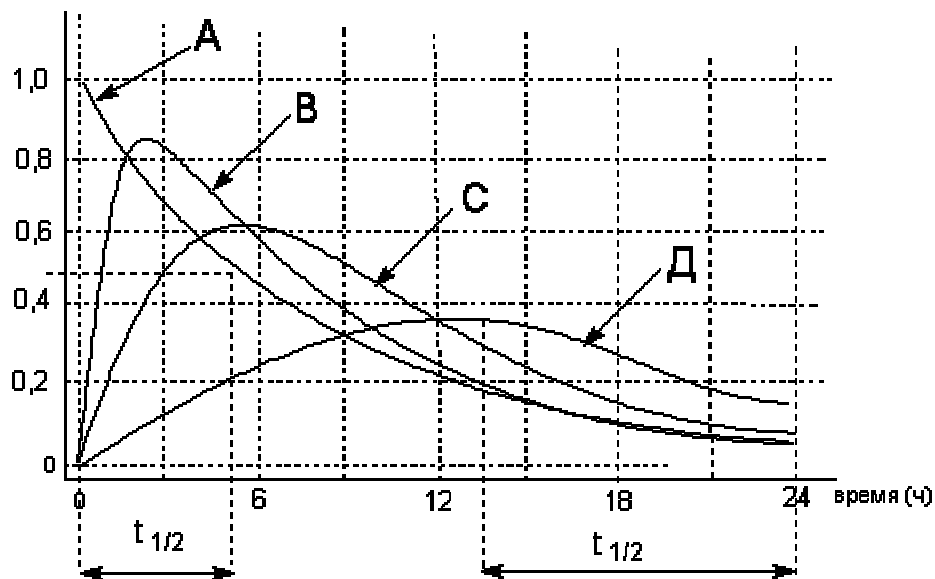


Рисунок 7. Функции Батемана для веществ В, С, Д с различными значениями константы скорости процесса инвазии ($B = 2,0$; $C = 0,5$; $D = 0,125 \text{ ч}^{-1}$) при одинаковом значении константы скорости элиминации ($0,125 \text{ ч}^{-1}$). Кривая А отражает динамику содержания веществ В, С, Д при их внутривенном введении.

На рисунке также видно, что при одинаковом значении $t_{1/2}$ элиминации рассматриваемых веществ (кривая А, $t_{1/2} = 5 \text{ ч}$), кажущееся время полувыведения, наблюдаемое при постепенной резорбции токсикантов, существенно отличается от истинного значения и зависит от скорости процесса резорбции. Чем меньше скорость резорбции, тем более выражены различия истинного и кажущегося значений периода полувыведения (для вещества Д $t_{1/2} = 10$ часам).

Таким образом, при анализе кривой динамики концентрации вещества в "организме", достаточно корректные данные о скорости элиминации можно получить лишь в тех случаях, когда скорость инвазии вещества значительно превышает скорость элиминации, и лишь в том временном интервале, когда процесс резорбции токсиканта полностью завершен.

6.2. Многокомпарментные модели

Однокомпарментная модель не учитывает физиологические особенности организма, поэтому предположили, что с увеличением числа компарментов, принятых в математической модели кинетики токсиканта, можно улучшить качество описания поведения вещества в организме. Таким образом, в модели

были включены компартменты, учитывающие процесс метаболизма ксенобиотиков, его связывание с тканями, внутрипеченочную циркуляцию и т.д. Однако для проверки правильности этих моделей требуется выполнение очень большого числа сложных экспериментов по определению содержания веществ и его метаболитов в различных органах и тканях. Часто получаемая информация не оправдывает затраты. Наконец, рассчитываемые константы справедливы только для принятой исследователем модели и не сопоставимы с константами, полученными в других моделях. В этой связи в практической токсикологии все чаще используют характеристики не зависящие от моделирования (метод определения ППК), получаемые при однокомпарментном моделировании или с помощью физиологических гемодинамических моделей (см. ниже).

6.3. Нелинейные токсикокинетические процессы

Модели, рассматривавшиеся выше, основаны на представлении, согласно которому скорость процессов, зависит только от концентрации веществ в объеме распределения (крови) $V = f(c)$, а динамика концентрации вещества в объеме распределения подчиняется кинетике 1-го порядка. В соответствии с этим представлением токсикокинетика вещества может быть описана рядом линейных уравнений (см. выше). Однако такое представление справедливо лишь для системы, находящейся в состоянии динамического равновесия. На практике в биологии чаще имеют дело с неравновесными состояниями. В этой связи экспериментальные данные существенно отклоняются от полученных с помощью математического моделирования. Особенно часто это имеет место в тех случаях, когда вещество само влияет на процессы собственной резорбции, распределения, метаболизма, элиминации.

К числу нелинейных токсикокинетических процессов могут быть отнесены так называемые "насыщающиеся процессы": канальцевая секреция ксенобиотиков в почках, метаболизм веществ в печени, связывание веществ белками плазмы крови и т.д. С насыщающимися процессами сталкиваются при исследовании механизмов активного транспорта веществ через барьеры. Так, элиминация этилового спирта из организма не подчиняется кинетике 1-го порядка, носит все признаки насыщаемого процесса (0 порядок). В этом случае скорость эвакуации вещества не зависит от его концентрации в объеме распределения и является величиной постоянной во времени, а следовательно не может быть отнесен к линейным процессам. Элиминация спирта из организма - пример нелинейной токсикокинетике.

Основные последствия кинетики насыщающихся процессов следующие:

- увеличение дозы вводимого вещества не приводит к пропорциональному увеличению его концентрации в объеме распределения;
- более высокая концентрация вещества в объеме распределения не сопровождается увеличением скорости выведения вещества из организма;
- повторное введение вещества не дает такого эффекта, который можно было бы ожидать, исходя из расчетов, основанных на данных, полученных при однократном введении;
- повторное введение не приводит к накоплению в организме вещества в концентрации, которую можно было бы ожидать, исходя из расчетов, основанных на данных, полученных при однократном введении.

К нелинейности кинетических процессов приводит также взаимодействие нескольких веществ друг с другом: влияние на процессы связывания, прохождения через биологические мембраны, изменение объемов распределения, индукция энзимов и т.д. Влияние нелинейности может быть математически учтено в процессе создания как однокомпарментной, так и многокомпарментных кинетических моделей.

При нелинейности процессов изменяются значения многих характеристик токсикокинетике веществ (период полувыведения, клиренс и т.д.).

6.3.1. Нелинейная однокомпарментная модель распределения с ограниченным характером процесса элиминации

Если установлено, что процесс элиминации ксенобиотика подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен, это свидетельствует о его насыщаемости:

$$C^* = -V_{\max} C / (K_M + C) = -K_E K_M C / (K_M + C), \text{ где}$$

C^* - изменение концентрации вещества в системе;

C - концентрация вещества в системе;

$V_{\max}$ - максимальная скорость процесса (например выведения);

K_M - константа Михаэлиса или константа полунасыщения системы;

K_E - константа элиминации:

$$K_E = V_{\max} / K_M$$

Как видно из уравнения при низких концентрациях вещества в плазме ($C \ll K_M$) скорость элиминации прямо пропорциональна C :

$$C^* = -(V_{\max} / K_M) C$$

Напротив, в случаях, когда $C \gg K_M$ процесс элиминации не зависит от концентрации вещества:

$$C^* = -V_{\max}$$

В этом случае имеем:

$$C(t) = C(0) - V_{\max} t$$

Это уравнение описывает, например, снижение содержания алкоголя в крови человека при его концентрации выше 0,1 мг/л. Если содержание вещества ниже этого значения процесс подчиняется кинетике 1-го порядка, то есть становится линейным.

Уравнение, описывающее процесс, может быть представлено в иной форме:

$$\ln C(t) = \ln C(0) - K_E t + [(C(0) - C(t)) / K_M]$$

Представление в полулогарифмической шкале координат дает график прямой в диапазоне малых концентраций, где процесс линеен и подчиняется кинетике 1-го порядка (при $C(0) \gg 0$, $(C(0) - C(t)) / K_M \gg 0$).

В областях высоких концентраций зависимость носит более сложный характер, но выпрямляется в системе обычных координат (рисунок 8)

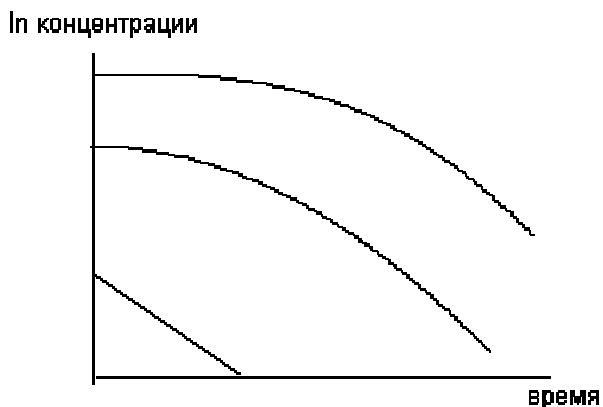


Рисунок 8. Зависимость содержания вещества в плазме крови от времени при насыщающемся характере элиминации ксенобиотика

7. Физиологические токсикокинетические модели

Для конкретизации токсикокинетических исследований и оценки состояния организма после контакта с токсикантом порой важно представлять реальные характеристики движения веществ в органах и тканях. Но эти характеристики зависят от параметров резорбции, распределения, метаболизма, выведения веществ через эти органы и ткани. Если их определять с помощью методов компартментного моделирования, то получаемые значения будут условны, т.к. зависят от особенностей выбранной модели. Кроме того при математическом моделировании невозможно, например, представить почему при введении в организм противоопухолевого средства адриамицина развивается именно кардиотоксический эффект.

Эти трудности удастся отчасти преодолеть, используя физиологические модели, разрабатываемые с учетом анатомо-физиологических особенностей органов и тканей у различных биологических видов (на которых изучается токсикокинетика), таких как объем, масса органа, кровотоки через органы, связывание с белками, проницаемость гистогематических и клеточных барьеров, интенсивность и характер метаболизма в органах и т.д. (таблица 3).

Таблица 3. Сравнительная характеристика некоторых биометрических параметров организма человека и крысы (самцы)

Параметр	Крыса	Человек	Человек/ крыса
Масса тела, г	300	70000	233
Масса (% от массы тела):			
-печени	5,22	2,28	0,44
-почек	0,42	0,43	1,0
-сердца	0,32	0,41	1,28
-легких	0,43	1,50	3,49
-надпочечников	0,0084	0,02	2,38
Площадь поверхности, м ²	0,048	1,88	39
Продолжительность жизни, дни	10 ³	26 10 ³	26
Основной метаболизм:			
-ккал/кг сут	109	25,6	0,23
-ккал/м ² сут	908	953	1,05
Потребление пищи, г/кг сут	50	10	0,20
Время вынашивания плода, сут	22	280	12,72
Общий белок крови, г/дл	8,01	6,71	0,84
Альбумины/глобулины крови	0,95	1,66	1,75

(По Oser B.L., 1981)

С помощью такого подхода можно достаточно хорошо представить токсикокинетiku веществ, осмыслить влияние биометрических параметров на особенности токсикокинетических характеристик. Поскольку биометрические параметры органов видоспецифичны, видоспицефичны и токсикокинетические параметры ксенобиотиков, а поскольку между биометрическими параметрами и параметрами кинетики существует количественная связь, данные полученные на животных можно с достаточной точностью переносить на человека, подставляя в полученные на лабораторных животных эмпирические уравнения, соответствующие биометрические параметры органов и тканей человека.

При разработке физиологических моделей распределения веществ между органами и тканями обычно исходят из схемы кровоснабжения организма, которая для всех млекопитающих, по сути, одинакова.

Обычно выбирают для исследования интересующий орган (например, сердце при изучении кинетики гликозидов, или мозг при изучении психодислептиков), а для нерастворимых в жирах веществ из рассмотрения вообще убирают жировую ткань. Для каждого органа может быть построена либо упрощенная, либо полная, основанная на учете всех особенностей его кровоснабжения, метаболизма, функций, модель (рисунок 9).



Рисунок 9. Схематическое представление органа в физиологической токсикокинетической модели

В упрощенном виде обычно рассматривают две возможности:

а) преимущественное влияние на характер распределения вещества особенностей кровоснабжения органа;

б) преимущественное влияние на распределение вещества свойств гистогематического барьера.

Если переход веществ из одного компартмента в другой (например, из крови в ткань) осуществляется значительно быстрее, чем прохождение крови через исследуемый орган, говорят о преимущественной зависимости распределения вещества от особенностей гемодинамики, если значительно медленнее - о преимущественной зависимости от свойств барьера.

Следующий этап исследования состоит в составлении уравнения баланса масс распределения для каждого органа или ткани. Например, такое уравнение для органа "i" с лимитирующим фактором распределения "особенности кровоснабжения" можно представить следующим образом:

$$V_i \frac{dC_i}{dt} = Q_i [C_a - (C_i/R_i)] , \text{ где}$$

V_i - объем органа;

Q_i - скорость кровотока через орган;

C_a - концентрация токсиканта в артериальной крови;

R_i - коэффициент распределения вещества в системе кровь/орган;

dC_i/dt - скорость изменения концентрации токсиканта в органе.

Таким образом, скорость накопления вещества в органе ($V_i dC_i/dt$) зависит от:

- концентрации вещества в крови;
- скорости кровотока в органе;
- скорости диффузии вещества из других органов в кровь и наоборот;
- скорости биотрансформации веществ.

Практическое значение подобного подхода зависит от физической возможности исследователя получить большое количество экспериментальных данных, необходимых для насыщения физиологической модели конкретной информацией. Поскольку большая часть информации может быть получена только в ходе экспериментальных исследований на лабораторных животных, необходим следующий этап работы, а именно: получение данных о влиянии биометрических характеристик органов и систем на параметры токсикокинетики ксенобиотиков.

Установлению этого влияния были посвящены многочисленные исследования. При этом для математического описания связей между сравниваемыми величинами использовали аллометрические уравнения вида:

$$y = \beta x^\alpha , \text{ где}$$

y - исследуемая токсикокинетическая характеристика (например клиаренс);

x - биометрическая характеристика (например, масса органа элиминации);

α, β - коэффициенты корреляции, требующие экспериментальной оценки.

Поскольку токсикокинетические характеристики изучаются в организмах существенно отличающихся друг от друга биометрическими показателями (массой, размерами, интенсивностью метаболизма, частотой сердечных сокращений и т.д.) сравнительная оценка получаемых величин для разных видов живых существ порой в значительной степени затруднена.

Иногда удается преодолеть возникающие трудности путем использования для анализа экспериментального материала некоего единого масштаба, учитывающего особенности физиологии организмов. Так, установлено, что период полуэлиминации цефалоспоринов у 5 различных видов живых существ значительно различается (у мыши - 10 мин, у собаки - 60 мин, у человека - 90 мин). Однако, при переводе полученных данных к "единой шкале измерений", установлено, что у всех видов период полуэлиминации равен 7253 сокращениям сердечной мышцы (J. Mordenti, 1986).

РАЗДЕЛ 5. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ТОКСИЧНОСТЬ

ГЛАВА 5.1. ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗМОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К КСЕНОБИОТИКАМ

Представители различных видов живых существ по-разному, как в количественном, так и качественном отношении, реагируют на действие химических веществ (межвидовые различия). Это позволяет создавать с утилитарными целями вещества с "избирательным" действием, т.е. такие, токсичность которых в отношении определенного вида (видов) живых существ во много раз превосходит токсичность для других видов. На этом принципе строится разработка многочисленных пестицидов, антибиотиков и т.д. Представители одного и того же вида также, порой, неодинаково чувствительны к токсикантам (внутривидовые различия).

Неодинаковая токсичность одного и того же соединения для различных организмов обусловлена как наследуемыми, так и приобретенными особенностями их морфо-функциональной организации, сказывающимися на токсикокинетике и токсикодинамике веществ.

1. Генетически обусловленные особенности реакций организма на действие токсикантов

Информация, заключенная в молекулах хромосомной и экстрахромосомной ДНК определяет морфологические, физиологические и биохимические особенности каждой клетки, которые реализуются в ходе её развития и взаимодействия с окружающей средой. Дифференцировавшиеся клетки, принадлежащие к различным органам и системам, используют лишь часть генетической информации, заключенной в ДНК. Она то и определяет, каким образом каждая клетка будет реагировать на токсикант.

Помимо генетических механизмов, чувствительность отдельного организма к токсиканту определяется взаимодействием внутренних факторов (гормональный фон, интенсивность обмена веществ и т.д.) и факторов внешней среды.

1.1. Межвидовые различия

При изучении токсичности веществ на разных видах лабораторных животных, как правило выявляются определенные различия. Для некоторых веществ, например гликозидов (строфантин), фторацетата эти различия весьма существенны, для других (гексахлорциклогексан) - выражены слабо (таблица 1).

Таблица 1. Токсичность (ЛД₅₀ мг/кг) некоторых веществ для животных различных видов

Вид	Строфантин (подкожно)	Гексахлор циклогексан (через рот)	Диизопропил фторфосфат (в/в)	Фторацетат натрия (через рот)
крысы	50 - 100	75 - 88	-	6,9
мыши	8 - 13	86	0,4	-
лягушки	0,4 - 1,0	-	-	-
кролики	0,1 - 0,4	60	-	-
морские свинки	0,1 - 0,3	127	-	-
кошки	0,15 - 0,2	-	-	-
собаки	0,1 - 0,15	50	3,4	0,07
козы	-	-	0,8	-
обезьяны	-	-	0,25	-
лошади	-	-	-	1,0

Большие различия выявляются при оценке на лабораторных животных токсичности диоксина (таблица 2).

Таблица 2. Токсичность 2,3,7,8-тетрахлордибензопарадиоксина (ТХДД) для разных видов животных.

Вид животного	ЛД ₅₀ , мкг/кг
Морская свинка	0,6-2,5
Норка	4
Крыса	22-45
Обезьяна	менее 70
Кролик	115-275
Мышь	114-280
Собака	менее 300
Лягушка-бык	менее 500
Хомяк	5000

Летальная доза вещества (ЛД₅₀) - комплексная величина. На её значение оказывают влияние особенности резорбции, распределения, биотрансформации, выведения токсиканта, особенности взаимодействия с биомишенями и формирования токсического процесса. Каждый из упомянутых факторов в зависимости от вида животных может существенно влиять на токсичность ксенобиотика.

1.1.1. Особенности токсикокинетики

1.1.1.1. Резорбция

Квота резорбции вещества через аналогичные пути поступления у представителей различных видов далеко не одинакова. Так, 6-азауридин разорбруется кожными покровами целого ряда лабораторных животных, но не человека. Напротив, актиномицин хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте человека, но не лабораторных животных.

1.1.1.2. Распределение

Часто одно и то же вещество по-разному распределяется в организмах представителей различных видов. Так, объем распределения пропранолола (в пересчете на 1 кг массы тела) у человека составляет 3,62, обезьян - 0,60, собаки - 1,71, крысы - 5,30, кошки - 1,57. Причинами таких различий являются особенности структуры белков крови, а следовательно и способности связывать ксенобиотики, кровоснабжения отдельных органов и тканей, содержания жира в организме. Вследствие этого, не смотря на введение животным разных видов одинаковой дозы вещества, его содержание в органах-мишенях у этих животных будет различным.

Заслуживает внимания такая характеристика, как диаметр пор гломерулярной мембраны. Так, у человека в почках через барьер не проникают молекулы с массой более 15000, у собаки - 4000, у крысы - 2000.

1.1.1.3. Биотрансформация

Видовые различия характеристик биотрансформации ксенобиотиков по большей части носят количественный, реже качественный характер. Существует обратная связь между массой тела животного и скоростью ферментативного превращения чужеродного соединения, поэтому прямой перенос данных по токсичности вещества, полученных на одном виде животных на другой чреват большой вероятностью ошибки. Мелкие лабораторные животные, как правило, менее чувствительны к токсикантам, чем большие (таблица 3).

Таблица 3. Чувствительность животных различных видов к гексобарбиталу (вводимые дозы -100 мг/кг; для собаки - 50 мг/кг).

Вид	Время сна (мин)	период полу-превращения гексобарбитала (мин)	Активность энзимов (мкг/г/час)
мыши	12	19	598
кролики	49	60	294
крысы	95	139	134
собаки	315	261	36

Кошки являются исключением из этого правила. Они метаболизируют вещества чрезвычайно медленно. Многие лекарственные препараты, например, фенитоин, аминазин, дезипрамин, резерпин сохраняются в организме этих животных днями. Действие одной дозы резерпина продолжается в течение 3 недель. Детоксикация ксенобиотиков в организме человека протекает также медленно, причем процесс идет с иной скоростью, чем в организме приматов, не смотря на их эволюционную близость.

Активность энзимов отдельных органов и тканей, участвующих в метаболизме чужеродных соединений у разных видов живых существ, как в отношении различных субстратов, так и отдельных реакций, варьирует в широких пределах (таблица 4).

Таблица 4. Активность бензпирен-гидроксилазы (в условных единицах) и её чувствительность к индукции полициклическими углеводородами в органах лабораторных животных

Животное	Печень	Почки	Легкие	Кишечник	Кожа
Мышь	11	0,03	0,2	1,0	0,7
Обезьяна	2,5	0,4	0,2	0,1	0,02
Способность энзима к индукции					
Контроль (1,0)	1,5	10	3 - 10	6	4 - 11

(D.W. Nebert, H.V. Gelboin, 1969)

В соответствии с уровнем активности процесса О-деэтилирования этилморфина лабораторные животные могут быть ранжированы следующим образом: морская свинка > мышь > крыса. В отношении N-деметилирования, зависимость иная: мышь > крыса > морская свинка.

Как следует из данных, приведенных в таблице 5, основываясь на данных по активности микросомальных ферментов печени, невозможно оценить а priori скорость метаболизма ксенобиотика.

Таблица 5. Активность процессов биопревращения ксенобиотиков (мкМ метаболита/час/г микросомальных белков; 27°) и содержания цитохромов P-450 и b₅ (мкМ/г микросомальных белков) в печени трёх видов животных

Активность	Мышь	Морская свинка	Крыса
p-NO ₂ -анизол-О-деметилаза	40	70	20
аминопирин-N-деметилаза	140	70	140
анилин-гидроксилаза	32	10	20
НАДФН-цитохром C-редуктаза	1680	2190	1620
НАДФН-цитохром P-450-редуктаза	86	36	10
цитохром P-450	0,6	0,7	1,0
цитохром B ₅	0,3	0,4	0,3

Другими примерами видовых различий метаболизма ксенобиотиков являются неодинаковое соотношение процессов биологического окисления и конъюгации (таблица 6).

Таблица 6. Видовые различия в скорости отдельных этапов метаболизма дихлорметилена

Вид	Образование промез. продуктов при участии P450; V _{max} (мг/час кг)	Образование конъюгатов при участии GS-трансферазы	Соотношение скоростей метаболизма GS-T/P450

		$V_{\max}$ (мг/час кг)	
Мышь	12,4	1208	98
Крыса	2,7	91	34
Хомяк	6,8	26	4
Человек	1,4	3,4	2,5

(D.V. Parke et al., 1990)

Действие токсикантов на животных с различным механизмом метаболизма ксенобиотиков будет различным, особенно в тех случаях, когда происходит образование активных метаболитов. Этим обстоятельством, вероятно, можно объяснить резистентность морских свинок к действию канцерогена 2-ацетиламинофлюорена, и мышей к канцерогену афлатоксину В₁.

1.1.1.4. Экскреция

Установлено, что видовые различия в чувствительности к веществам слабо метаболизируемым в организме могут быть обусловлены существенными различиями в скорости их выведения. Особенно это касается ксенобиотиков удаляемых с помощью механизма активной секреции в мочу или желчь. Так, оуабаин быстро выводится из организма крыс с желчью, но у собак и кроликов процесс идет медленно. Известно, что скорость экскреции существенно зависит от размеров выделяемой молекулы. У различных видов животных оптимальные значения молекулярной массы токсиканта, выделяемого через почки или печень неодинаковы. Для веществ-анионов, выделяющихся через печень, порог молекулярной массы составляет у крыс около 325, морской свинки - 400, кролика - 475. Для катионов с различной массой молекулы отсутствуют видовые различия в скорости билиарной экскреции: порог выведения для всех упомянутых видов животных составляет 200 - 250.

1.1.2. Особенности токсикодинамики

1.1.2.1. Связывание с рецептором

Первичная структура и конформация рецепторов, взаимодействующих с ксенобиотиками, тем более различаются у представителей различных видов, чем дальше отстоя друг от друга эти виды в филогенезе. В этой связи и сродство токсикантов к рецепторам, выделенным из тканей различных животных и человека неодинаково, как неодинакова и их токсичность. Так, ЕС₅₀ гликозида оуабаина для Na,K-АТФазы, выделенной из миокарда собаки и быка более чем 350 раз ниже, чем для этого же фермента, полученного из тканей крысы и мыши.

Содержание рецепторов определенного вида в аналогичных тканях животных различных видов также не одинаково. Например выносящий семенной канатик мыши содержит преимущественно δ -опиатные рецепторы, крысы и кролика - рецепторы преимущественно ϵ - и κ -типов. И этим также обусловлены различия токсичности веществ для представителей разных видов.

1.1.2.1. Эффекторные реакции

Строение, физиология, биохимия живых существ, принадлежащих различным классам организмов, глубоко различны. Эти различия носят не только количественный, но и качественный характер, не смотря на известное эволюционное родство организмов. Адаптация живых существ даже близких видов к различным средам обитания, условиям существования, обуславливает особенности их реактивности на внешние раздражители, в том числе и на химические воздействия. Этот факт широко известен. Его обсуждение может быть осуществлено лишь в рамках специального курса по эволюционной токсикологии и выходит далеко за рамки настоящей книги.

1.2. Внутривидовые различия

1.2.1. Генетические особенности личности

Токсичность ксенобиотиков для различных людей колеблется в достаточно широких пределах. Эти колебания обусловлены внутривидовой изменчивостью. В основе изменчивости лежат генетические особенности организмов одного и того же вида. Иногда генетические особенности людей и даже целых семей выражены столь существенно, что это проявляется в их необычайно высокой чувствительности к тем или иным токсикантам, выходящей за рамки доверительного интервала изменчивости популяции. Выяснение причин таких особенностей является предметом токсикогенетических исследований. Как правило повышенная чувствительность обусловлена мутацией генов, отвечающих за синтез некоторых ферментов, регуляторов биотрансформации ксенобиотиков, рецепторных структур или транспортных белков. Выявляемые при этом аномалии могут иметь как моногенетическую, так и полигенетическую природу. До какого-то времени эти аномалии могут не проявляться фенотипически. Их манифестация происходит лишь при контакте организма с определенными токсикантами. В качестве примера можно привести дефекты глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы или гемоглобина. Лица с подобными генетическими дефектами реагируют на целый ряд веществ (сульфо-, нитро-, аминоксоединения и т.д.) бурным образованием метгемоглобина и гемолизом.

У некоторых лиц с очень низкой скоростью протекает реакция ацетилирования ксенобиотиков и их метаболитов. Так, обычно период полупревращения гидразина и его производных в организме человека составляет 40 - 80 минут. У лиц с низкой скоростью ацетилирования - 150 - 200 минут. Количество лиц с таким дефектом метаболизма в Европе составляет около 50%. Поскольку биопревращение гидразина сопровождается его детоксикацией, число лиц с высокой чувствительностью к данному токсиканту велико. Прием лекарств, синтезированных на основе гидразина, у пациентов с дефектом N-ацетилтрансферазы нередко приводит к развитию полинейропатий. Установлено, что лица с медленным процессом ацетилирования ксенобиотиков гомозиготны по аутосомальному рецессивному гену.

Дефект N-ацетилтрансферазы лежит в основе неблагоприятных реакций на целый ряд медикаментов, таких как фенелзин, дапсон, дигидролазин, прокаинамид, сульфацилпирин, нитрозепа и др. (рисунк 1). Так, при приеме такими лицами дигидролазина или прокаинамида в организме могут появиться антигиперлеарные

антитела, что, в свою очередь, проявляется состоянием, напоминающим диссеминированную форму красной волчанки.

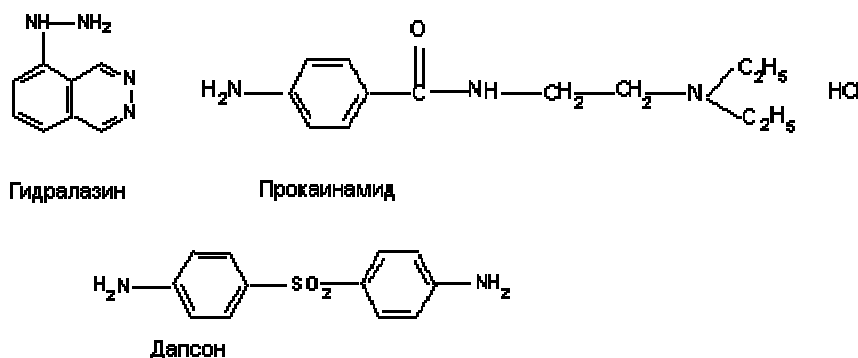
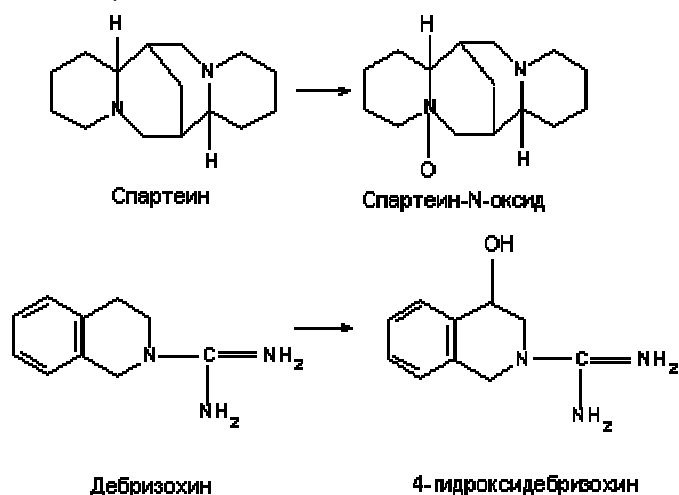


Рисунок 1. Структура веществ, вызывающих у чувствительных лиц состояние, напоминающее красную волчанку

Примерно у 10% европейцев понижена интенсивность N-окисления спартеина и 4-гидроксилирования дибрезохина. У этих же лиц понижена метаболическая активность в отношении ксенобиотиков с близким химическим строением.



В качестве причин понижения метаболической активности спартеина и дибрезохина рассматривается функциональный дефект или понижение количества изоферментов цитохром-Р-450 зависимых оксидаз.

Еще один вид генетической аномалии удалось выявить при назначении пациентам суксаметониума. Этот миорелаксант в норме разрушается холинэстеразой плазмы крови на холин и янтарную кислоту. Благодаря высокой активности энзима у большинства людей длительность действия препарата исчисляется минутами. Однако у некоторых, при введении установленной дозы вещества развивается длительная миорелаксация и апное. Активность фермента у таких лиц составляет лишь 10 - 20% от нормы, поскольку в крови циркулирует атипичная псевдохолинэстераза. Дефект энзима наследуется по аутосомальному рецессивному механизму.

Имеются и другие аномалии энзимов, имеющие большое токсикологическое значение. Среди них дефекты: алкогольдегидрогеназы, параоксоназы, каталазы, дофамин- β -монооксигеназы, моноаминоксидазы, глутатионсинтетазы, глюкуронозилтрансферазы, катехол-О-метилтрансферазы, тиопуринметилтрансферазы, тиолметилтрансферазы.

1.2.2. Различия связанные с полом

Наиболее отчетливо выражены различия в чувствительности самцов и самок к токсикантам у грызунов. Однако выявляемые закономерности справедливы для других млекопитающих и человека. Основная причина феномена - особенности токсикокинетики ксенобиотиков. Так, кожа спины самок крыс примерно в два раза более проницаема для мочевины, бензойной кислоты и кортизона, чем кожа самцов. Существенно различны скорость и характер метаболизма чужеродных соединений. Микросомы, выделенные из гепатоцитов самцов имеют примерно в два раза большее сродство к гексобарбиталу и амидопирину (но не анилину), в сравнении с микросомами печени самок. В этой связи продолжительность действия барбитуратов на самцов меньше, чем на самок. Деметилирование бензфетамина и метиланилина, гидроксилирование бензпирена и анилина, глюкуронозирование ряда токсикантов - примеры процессов, протекающих в организме самок с меньшей скоростью, чем в организме самцов.

Кастрация или введение самцам эстрогенов нивелируют различия в скорости метаболизма ксенобиотиков в организме животных разных полов. Напротив, тестостерон, введенный кастрированным самцом, позволяет вновь выявить различия. Показано, что эффект гормона обусловлен в большей степени анаболической составляющей его активности.

В связи с изложенным токсичность многих ксенобиотиков для самцов и самок лабораторных животных, мужчин и женщин - неодинакова.

Различия токсичности веществ при остром и хроническом введении могут иметь разную направленность. Так, при остром введении ЛД₅₀ паратиона для самцов крыс составляет 30 мг/кг, для самок - 3 мг/кг. При хронической аппликации токсичность вещества для самцов, напротив, выше. Это объясняют тем обстоятельством, что при острой интоксикации эффект вещества связан с его антихолинэстеразной активностью, а при хронической - с действием метаболита паратиона, нитрофенола, на систему крови.

Метаболические превращения ксенобиотиков могут различаться не только количественно, но и качественно. Например при интоксикации диэльдрином в моче самцов и самок обнаруживаются разные продукты метаболизма. При введении самкам крыс анальгетика тиарамида до 65% вещества выводится с мочой в форме сульфоконъюгата. При введении препарата самцам этот метаболит вообще не обнаруживается в моче.

Различия токсичности веществ, связанные с полом, у человека выражены слабо. Вместе с тем, процесс резорбции некоторых веществ проходит с разной скоростью. Так, у женщин в желудочно-кишечном тракте хуже всасывается салициловая кислота. Ксилокаин хуже, а диазепам лучше связывается с белками крови женщин, чем мужчин. У женщин, как правило, больше жировой ткани, что сказывается на характере распределения гидрофильных и гидрофобных ксенобиотиков. Активность некоторых энзимов, метаболизирующих чужеродные соединения у мужчин и женщин неодинакова. Так, активность эстеразы ацетилсалициловой кислоты у мужчин выше, а моноаминоксидазы - ниже.

2. Не обусловленные генетически особенности реакции организма на действие токсикантов

2.1. Возрастные различия

В процессе индивидуального развития человека и животных выделяют эмбриональный, fetalный, неонатальный, перинатальный, а также периоды созревания, зрелого возраста и старости. Чувствительность организма к токсикантам в эти периоды различна. Это обусловлено процессами развития, созревания и дифференциации тканей, возрастными особенностями морфологии, физиологии и биохимии органов и систем организма. В различные периоды развития и жизни организма подвергаются существенным изменениям: характер васкуляризации тканей, проницаемости гистогематических и иных барьеров, функции нервной, эндокринной, иммунной систем и т.д. На таблице 7 представлены некоторые различия между организмами, находящимися в разных периодах развития и жизни, сказывающиеся на чувствительности к ксенобиотикам.

Таблица 7. Некоторые функционально-морфологические различия между организмами, находящимися в различных периодах развития и жизни

Различия между неонатальным периодом и зрелым возрастом

1. Резорбция в желудочно-кишечном тракте.

Проницаемость для белков (иммуноглобулинов) и других макромолекул возрастает на короткий период сразу после родов.

Скорость всасывания чужеродных соединений выше.

Кислотность кишечного содержимого понижена.

Скорость эвакуации содержимого желудка ниже.

2. Распределение.

Более высокое соотношение объемов экстрацеллюлярной/интрацеллюлярной жидкости.

Более низкое содержание жировой ткани.

Понижена способность белков плазмы крови связывать ксенобиотики.

Повышена проницаемость гематоэнцефалического и ликворного барьеров.

Более высокая относительная масса мозга и печени.

3. Биотрансформация.

Масса гладкого эндоплазматического ретикула в гепатоцитах в постнатальном периоде возрастает.

Биотрансформация чужеродных соединений в целом низка, в постнатальном периоде возрастает.

Способность к индукции микросомальных ферментов у новорожденных выше, чем у взрослых.

4. Экскреция.

Соотношение масса почек/масса тела у новорожденных в два раза выше, чем у взрослых.

Число и размеры почечных клубочков у новорожденных ниже.

Фильтрационная способность невысокая, в постнатальном периоде повышена.

Канальцевая секреция редуцирована; постепенно повышается в процессе созревания.

Скорость реабсорбции выше.

Секреция желчи ограничена.

Различия между периодом зрелости и старости

1. Резорбция в желудочно-кишечном тракте.

Постепенное снижение числа резорбирующих клеток.

Повышение pH содержимого желудка.

Снижение подвижности желудочно-кишечного тракта.

Понижение интенсивности обмена в слизистой тонкой кишки.

2. Распределение

Уменьшение количества воды в организме.

Увеличение количества жировой ткани.

Ослабление кровотока в тканях.

Снижение проницаемости гистогематических барьеров.

Снижение связывающей способности белков крови.

3. Биотрансформация.

Частичное снижение метаболической активности печени.

4. Экскреция.

Незначительное понижение почечной секреции.

Замедление почечной экскреции.

2.2. Влияние массы тела

Более высокая, в сравнении с нормой, масса тела как правило является следствием избыточного накопления жировой ткани. Вещества, накапливающиеся в жире в этом случае действуют слабее. Ожирение нередко сопровождается нарушением функций печени, поэтому у тучных людей характер токсического действия некоторых ксенобиотиков может существенно изменяться.

2.3. Влияние беременности

Во время беременности изменяются многие параметры организма: масса тела, соотношение объемов интра- и экстрацеллюлярной жидкости, содержание жировой ткани, скорость эвакуации желудочного содержимого, концентрация белков плазмы крови, относительный объем сердца, кровоснабжение почек, интенсивность клубочковой фильтрации и т.д. Все это естественно приводит к значительному изменению чувствительности беременных к токсикантам. К тому же измененный гормональный фон сказывается на активности энзимов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков. В большинстве случаев практически не возможно предсказать, как изменится токсичность вещества при беременности. Это следует устанавливать в каждом случае экспериментально.

Достаточно подробно изучался метаболизм ксенобиотиков в организме беременных крыс. Установлено, что активность анилингидроксилазы, этилморфин-N-деметилазы, дифенил-4-гидроксилазы, билирубин-глюкуронозилтрансферазы, катехол-O-метилтрансферазы, нитроредуктазы, моноаминоксидазы понижается. Содержание цитохрома P-450 также снижено. Аналогичные результаты получены и на других видах лабораторных животных, в частности, на кроликах.

ГЛАВА 5.2. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА И КАЧЕСТВА СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА ТОКСИЧНОСТЬ

Биологические системы постоянно обмениваются с окружающей средой веществом, энергией, информацией и потому их функциональное состояние находится в полной зависимости от состояния среды. В определенных границах биосистемы способны приспосабливаться к изменению свойств окружающей среды. При этом изменяются их биохимические, физиологические, морфологические характеристики, а, стало быть, и чувствительность к ксенобиотикам. Колебания чувствительности к ядам в зависимости от условий, в которых яд действует, отмечаются на всех уровнях организации жизни: клеточном, органном, организменном, популяционном. Наибольшее количество данных по этому вопросу получено в эксперименте применительно к целостному организму лабораторных животных различных видов. Имеются отдельные наблюдения на людях. Проблема практически не изучена на уровне популяций, хотя в будущем это может иметь очень большое значение для решения практических экотоксикологических задач.

Свойства среды влияют на все звенья цепи формирования и развития токсического процесса: резорбцию, распределение, метаболизм, элиминацию ксенобиотика, взаимодействие его с рецепторами, активацию патологических и репаративных процессов. Наиболее значимые факторы представлены в таблице 1.

Таблица 1. Факторы, оказывающие влияние на токсичность ксенобиотиков

1. Биологические или биосоциальные
 - питание
 - условия содержания (для лабораторных животных)
 - окружение
2. Физические
 - геофизическая периодичность
 - температура
 - давление
 - влажность воздуха
 - концентрация ионов и Рн
 - апплицируемый объем
 - концентрация действующего агента и его агрегатное состояние
3. Химические
 - ксенобиотики в окружающей среде
 - ксенобиотики в воде и пище
 - совместное воздействие нескольких веществ

Между действием отдельных факторов в реальных условиях трудно провести границу. Так, временная периодичность в изменении чувствительности организма к ксенобиотикам зависит как от геофизических факторов (смена дня и ночи, времен года), так и от биосоциальных факторов, генетических особенностей организма и т.д.

1. Питание

Количество и качество потребляемой пищи оказывают сложное влияние на чувствительность человека и животных к токсикантам. У лиц, находящихся на диете богатой белками, но бедной углеводами период полупревращения феназона уменьшается на 7 часов (с 16,2 до 9,5 часов), теофиллина с 8,1 до 5,2 часов. При переходе на диету с противоположным соотношением белков и углеводов в пище период полупревращения ксенобиотиков возрастает. Дефицит в пище белков и липидов приводит к снижению интенсивности метаболизма ксенобиотиков печенью. В этой связи токсичность веществ, подвергающихся в организме биоактивации, понижена у лиц находящихся на белковой диете. Содержание углеводов в потребляемой пище мало сказывается на интенсивности процесса метаболизма ксенобиотиков и на их токсичности.

Хроническое недоедание понижает резорбцию веществ в желудочно-кишечном тракте и скорость их метаболизма. Развивающаяся гипоальбуминемия приводит к снижению фракции веществ, связывающихся альбуминами плазмы крови. В итоге, элиминация токсикантов путем биотрансформации угнетается, но почечная экскреция проходит с большей скоростью.

Голод редуцирует активность энзимов печени, разрушающих чужеродные соединения. У крыс, уже через 16 часов голода отмечается отчетливое снижение активности процесса N-деметилирования ксенобиотиков, причем у самцов эффект выражен сильнее, чем у самок. Вероятно, в период голодания нарушается активирующее действие андрогенных гормонов на микросомальные энзимы.

2. Условия содержания экспериментальных животных

В условиях эксперимента удалось установить, что токсичность веществ зависит от того, содержатся ли они изолированно или группой. Токсичность некоторых веществ, действующих на ЦНС, при изолированном содержании животных ниже (таблица 2).

Таблица 2. Токсичность некоторых веществ (мг/кг; через рот) для мышей при изолированном и групповом содержании

Вещества	Групповое содержание	изолированное содержание	ЛД ₅₀ изол/ЛД ₅₀ груп
Фенамин	34	232	6,8
Кофеин	620	1200	1,9
Пикротоксин	19	30	1,6
Мескалин	880	1180	1,3
Пентилентетразол	265	290	1,1
Бемеград	120	120	1,0

Иногда механизмы, лежащие в основе явления, затрагивают глубинные физиологические характеристики организма. Так, установлено, что при продолжительной изоляции мышей в хвостом ядре мозга возрастает содержание дофаминергических рецепторов. Этим можно объяснить усиление двигательной активности животных и более высокую толерантность их к дофаминомиметикам (фенамин, кофеин, мескалин). Изоляция приводит также к уменьшению числа мест связывания серотонина в коре головного мозга, промежуточном мозге, коре мозжечка, что сопровождается усилением агрессивности. Количество ГАМК-рецепторов, через которые реализуется судорожная активность бициклофосфатов, норборнана, пикротоксина и др. в коре головного мозга уменьшается; количество рецепторов, через которые осуществляется этанол-потенцирующее действие бензодиазепинов и барбитуратов, снижается в промежуточном мозге и коре мозжечка.

Однако часто можно обнаружить и достаточно простые причины наблюдаемых эффектов. Например, при изолированном содержании животных выше теплоизлучение организма, а влажность окружающего воздуха ниже. Температурный режим и влажность среды, в свою очередь, могут оказывать существенное влияние на токсичность веществ, что подтверждается экспериментально. Так, ЛД₅₀ морфина сульфата при 19° для животных (мыши) при изолированном и групповом содержании составляет 520 и 490 мг/кг соответственно; при 29° - 434 и 368 мг/кг.

На групповых животных (крысы, мыши) неблагоприятным образом сказывается шум. Ограничение пространства и свободы движений действует на них как стрессорный фактор.

3. Содержание в стерильных условиях

У животных, рожденных и выращенных в стерильных условиях, отсутствует кишечная флора. Это является причиной полного прекращения у них процессов внутрикишечного метаболизма ксенобиотиков, в частности деглюкуронидирования конъюгатов, и подавления внутрипеченочной циркуляции некоторых чужеродных веществ. Полагают, что этим можно объяснить значительное снижение (в сравнении с контролем) частоты появления опухолей кишечника и молочной железы, развивающихся при введении животным 3,2-диметил-4-аминофенола. В обычных условиях канцероген подвергается в печени N-гидроксиглированию, а затем и глюкуронидированию. После попадания метаболита в кишечник с желчью происходит его расщепление под влиянием β-глюкуронидазы кишечной флоры и образование исходного вещества, активно реабсорбирующегося слизистой ЖКТ. Длительная внутрипеченочная циркуляция диметил-аминофенола и, следовательно, продолжительное пребывание в организме, способствуют реализации канцерогенного действия токсиканта. У животных, содержащихся в стерильных условиях, внутрипеченочная циркуляция подавлена. Вследствие этого существенно ускоряется экскреция вещества из организма, снижается вероятность развития патологических процессов.

4. Периодические изменения чувствительности к токсикантам

Многие биологические процессы, такие как синтез ДНК, РНК, белков, нейромедиаторов, активность энзимов, параметры гемодинамики, pH мочи, количество электролитов в моче, температура тела, количество форменных элементов в крови, гормональная активность, интенсивность обмена веществ и т.д. - постоянно, достаточно ритмично изменяются во времени. У человека и животных выявлено более 100 ритмических изменений различных характеристик и функций организма. Естественно, что чувствительность организма к токсикантам также постоянно изменяется.

4.1. Циркадные ритмы

Циркадными, называются суточные колебания показателей жизнедеятельности, обусловленные генетическими механизмами и выявляемые даже на клеточном уровне. У различных видов живых существ характер суточной ритмики различен. Так, у людей максимальное содержание кортикостероидов в крови определяется утром, в момент пробуждения, у крыс - вечером, при приближении темного времени суток, т.е. также в конце периода покоя. Эти колебания регулируются, в основном, сменой светлого и темного времени суток, а также некоторыми биосоциальными факторами. В основе суточных колебаний чувствительности человека и высших животных к токсикантам лежат изменения активности энзимов, метаболизирующих ксенобиотики, содержания гормонов в крови и нейромедиаторов в нервной ткани, спонтанной подвижности кишечника и многие другие причины.

Так, токсичность ингибиторов холинэстеразы для крыс коррелирует с содержанием ацетилхолина в ткани мозга животных. В те периоды, когда содержание нейромедиатора высоко, возрастает токсичность ингибиторов. Напротив, токсичность холинолитика атропина возрастает, когда содержание ацетилхолина снижается. Продолжительность сна мышей, вызванного гексобарбиталом, максимальна между 8 и 14 часами суток, когда активность ферментов, метаболизирующих препарат, снижена, и минимальна - между 20 и 2 часами, на фоне максимальной активности энзимов. Адренэктомия приводит к прекращению циркадной ритмики активности микросомальных энзимов и чувствительности к ксенобиотику, что связано с прекращением колебания содержания в крови кортикостероидных гормонов.

Поскольку чувствительность организма к различным токсикантам изменяется вследствие колебания характеристик разных биологических процессов, общая временная зависимость изменения токсичности для всех ксенобиотиков отсутствует, и для каждого вещества в отдельности, в случае необходимости, определяется экспериментально.

С учетом сказанного, исследования по оценке острой токсичности веществ следует проводить в одно и то же время суток.

4.2. Годичные ритмы

Годичные изменения чувствительности к токсикантам особенно характерны для холоднокровных животных. Однако некоторые колебания чувствительности отмечаются и у теплокровных. Например, у крыс линии Wistar в течение года определяются достоверные изменения чувствительности к токсическому действию никотина. Не исключено, что это связано с колебаниями среднесуточной температуры и влажности воздуха. Максимальная токсичность выявляется в теплое время года.

5. Температура окружающего воздуха

Скорость течения различных биологических процессов изменяется в зависимости от изменения температуры не одинаково. Температурный коэффициент Q_{10} показывает на сколько меняется скорость того или иного процесса при изменении температуры на 10° .

$$Q_{10} = V_t/V_{(t-10)}$$

Q_{10} для физико-химических процессов находится в интервале 1,1 - 1,5, химических реакций - 2 - 3, а для отдельных биохимических процессов и выше. Диффузия токсикантов и их метаболитов через биологические барьеры, будучи физическим процессом, в меньшей степени зависит от температуры, чем течение, скажем, биохимических реакций превращения веществ в тканях. Однако диффузия является важным механизмом поступления большинства ксенобиотиков в организм. Поэтому, при более высоких температурах резорбция химических веществ, в целом, идет с большей скоростью, чем при низких. В этой связи охлаждение места действия токсиканта (место укуса ядовитых змей, насекомых) иногда может замедлить скорость резорбции яда и развития поражения. На таблице 3 представлены данные, поясняющие это положение.

Таблица 3. Содержание метадона в тканях экспериментальных животных (мкг/г), через 30 минут после подкожного введения, в зависимости от температуры окружающего воздуха.

Вид животных	Ткань	Доза (мг/кг)	18°	29°	Δ(%)
крыса	мозг	20,0	2,0	3,1	55
	печень		10,2	12,1	25
	кровь		1,2	2,1	75
мышь	мозг	33,0	4,8	6,7	40
	печень		19,0	23,0	21
	кровь		2,8	3,8	36

(F. Herr et al., 1956)

Резорбция через кожу также существенно возрастает при повышении температуры. Так, 4 из 5 обезьян переносят зарин в концентрации 115 мг/м^3 при экспозиции в течение 30 минут и температуре окружающего воздуха 25° ; при 38° при тех же условиях выживает 1 из 5 животных. Однако, анализируя подобные результаты, следует помнить, что в еще большей степени чем на диффузию ксенобиотика через гистогематические барьеры, температура влияет на интенсивность кровоснабжения тканей, то есть на процесс доставки к ним токсиканта.

С изменением температуры изменяется реактивность организма. Изменяется, например, частота и сила сердечных сокращений. Это, в свою очередь, приводит к изменению реакции сердечной мышцы на действие токсиканта. Так, в опытах *in vitro*, g-строфантин в концентрациях 0,05 - 0,2 мкг/мл при 37° перфузируемого раствора повышал изометрическое систолическое напряжение папиллярных мышц сердца кошки. При 27° эффект не наблюдался. Причина феномена состоит в том, что при низкой температуре спонтанная недостаточность сердечной мышцы развивается значительно медленнее, чем при 37° , а действие гликозидов отчетливо прослеживается только при недостаточности миокарда. Выраженность действия адреналина и β -адреноблокаторов на изолированное предсердие и папиллярные мышцы сердца кролика также существенно зависит от температуры.

Интенсивность биотрансформации ксенобиотиков возрастает при предварительном охлаждении экспериментальных животных, при этом в крови у них возрастает уровень гормона щитовидной железы (индуктор метаболизма ксенобиотиков), а в печени - содержание цитохрома P-450. Установлено, что за сутки в организме крысы при 35° окружающего воздуха выделяется около 1,7 мкг тироксина, при $20 - 25^{\circ}$ - 5,2 мкг, в условиях холода - 9,5 мкг.

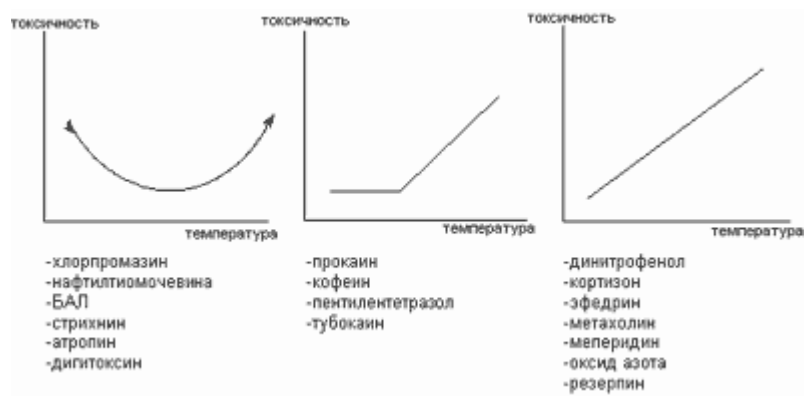
Хроническая гипертермия также сопровождается изменением токсикокинетических характеристик многих ксенобиотиков. При изолированном содержании крыс в течение месяца при температуре окружающего воздуха близкой к 35° С существенно снижается клиаренс пропранолола, антипирина, теофиллина, дигоксина. С другой стороны кинетика фенитоина в аналогичных условиях не изменяется.

Теоретические основы влияния температуры окружающего воздуха на токсичность ксенобиотиков для млекопитающих разработаны недостаточно. Известно, что температура среды сказывается на температуре тела животных, однако зависимость не носит линейного характера. Так, в опытах на мышах изучали зависимость ректальной температуры животных от температуры окружающего воздуха. При температуре окружающего воздуха 20° ректальная температура составляла около 36° , при 25° - снижалась до 34° , и при 35° - составляла более 37° (W. Usinger, 1957). В этой связи следует ожидать, что чувствительность экспериментальных животных и человека к токсикантам будет определяться не только величиной температуры окружающего воздуха, но и продолжительностью воздействия, выходящего за рамки адаптационного комфорта.

Как правило в большей степени зависит от температуры окружающей среды токсичность веществ, влияющих на температуру тела. Существенно влияют на температуру тела токсиканты, влияющие на механизмы нейромедиаторной передачи нервных импульсов в холинэргических, катехоламинэргических, серотонинэргических синапсах. Токсичность этих веществ, в свою очередь, существенно зависит от температуры. Так, токсичность ФОС (понижают температуру тела) для крыс снижается при содержании животных в условиях компенсируемой гипертермии (до 30° С). Напротив токсичность холинолитиков (повышают температуру тела) в этих условиях увеличивается. Ухудшается при повышении температуры окружающего воздуха и переносимость и некоторых симпатомиметиков (нафтизин). Однако характер зависимости и механизм, лежащий в основе эффекта, в каждом случае должны устанавливаться эмпирически. Так метадон понижает температуру тела мыши. Однако его токсичность при 29° в 2,9 раза выше, чем при 18° .

Допуская значительные упрощения, можно выделить три основных вида зависимости между значением температуры окружающей среды и токсичностью ксенобиотиков для экспериментальных животных (рисунок 1). Каждому из этих типов соответствуют определённые токсикодинамические механизмы.

Рисунок 1. Основные виды зависимости между температурой окружающей среды и токсичностью ксенобиотиков



ГЛАВА 5.3. ЯВЛЕНИЯ, НАБЛЮДАЕМЫЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ

Реакция живых систем на ксенобиотик может существенно изменяться при его повторном или длительном воздействии. Выделяют четыре основные формы проявления этого феномена: толерантность, химическая зависимость, привыкание и хроническое отравление. Первые три формы развиваются при контакте с веществом, поступающим в организм в действующей дозе, т.е. первоначально вызывающей отчетливый эффект. Эти формы интересуют токсиколога прежде всего при оценке действия веществ, которые человек как правило принимает умышленно: лекарственные препараты, наркотические средства, вредные привычки (курение, прием алкоголя) и т.д. Последняя развивается в результате длительного контакта с токсикантом в малых, близких к пороговым, или даже подпороговым, дозах. Эта форма рассматриваемого явления интересует токсиколога применительно к проблеме профессиональной патологии и экотоксикологии.

1. Толерантность

В ряде случаев при повторном введении действующей дозы отмечается понижение чувствительности организма к веществу. Этот феномен обозначается, как "толелантность". Толелантность возникает не только у человека (у лиц длительно использующих фармакологические средства, наркоманов и токсикоманов). В условиях эксперимента толелантность можно сформировать у животных, причем не только у млекопитающих, но и у членистоногих, червей, простейших, бактерий и т.д.

Толелантность формируется лишь в отношении ограниченного круга веществ. Скорость и выраженность феномена также не одинаковы при действии различных токсикантов. В ряде случаев толелантность может быть тесно связана с еще одним явлением, получившим название "зависимость" от ксенобиотика (см. ниже).

1.1. Виды толелантности

В основу классификации различных форм толелантности могут быть положены разные принципы. По скорости её формирования выделяют:

- острую форму (тахифилаксия) - возникает после однократного или повторного действия вещества;
- хроническую форму - развивается при частом и длительном контакте с веществом.

По механизму формирования:

- кажущуюся (мнимую, диспозиционную);
- истинную (функциональную, клеточную).

Кажущаяся толелантность является следствием изменения токсикокинетики вещества: параметров его резорбции, распределения, биотрансформации, экскреции. В этом случае продолжающееся действие токсиканта в постоянной дозе сопровождается постепенным снижением его концентрации в области локализации соответствующей биомишени.

Истинная толелантность является следствием изменения токсикодинамики развивающегося процесса: функциональной модификации биомишени (селективных рецепторов, эффекторных систем и т.д.), адаптации клеток к иным условиям внутренней среды организма и т.д.

Основными механизмами толелантности являются:

1. Ослабление резорбции;
2. Усиление элиминации (экскреции, метаболизма);
3. Модификация распределения;
4. Количественные/качественные изменения биомишеней и эффекторных систем клеток;
5. Конкурентное и неконкурентное экранирование рецепторов, с которыми взаимодействуют токсиканты, продуктами их метаболизма или веществами, образующимися в ходе развития токсического процесса;
6. Истощение запасов нейромедиаторов вследствие длительного воздействия синаптических ядов.

Формирование толелантности к конкретным веществам возможно по одному или нескольким из перечисленных механизмов.

1.2. Некоторые механизмы толелантности

1.2.1. Ослабление резорбции

Повторное воздействие токсикантов может приводить к изменению свойств барьерных тканей (кожи, слизистой оболочки ЖКТ, дыхательных путей) и, в итоге, ослаблению резорбции.

Например, толелантность к хроническому пероральному приёму мышьяка объясняют нарушением его всасывания слизистой кишечника. Изменения слизистой кишечника, при приеме металла, характеризуется явлениями хронического воспалительного процесса, сопровождающегося, в частности, угнетением секреторных функций желез. Поскольку растворение неорганических соединений мышьяка возможно лишь в большом количестве щелочного кишечного секрета, постепенное уменьшение его образования и выделения может стать причиной толелантности к яду.

Прямой зависимости между способностью провоцировать воспалительные процессы в пограничных тканях и скоростью развития, выраженностью толелантности к веществу нет. Однако в ряде случаев эффект выявляется достаточно отчетливо. Так, в опытах на мышах показано, что газы, раздражающие слизистые дыхательных путей, такие как озон, оксиды азота, фосген, оксиды серы и др. при несмертельном поражении вызывают отек альвеолярно-капиллярного барьера. Скорость формирования реакции, в зависимости от вида газа и его концентрации, 1 - 5 суток, продолжительность - до нескольких недель. В этот период, токсикант, при повторном воздействии, становится менее токсичным, вследствие ухудшения его диффузии. В группе мышей (10 штук) смертность при экспозиции NO₂ в концентрации 285 ppm в течение 30 минут составляет 100% при средней продолжительности жизни 9 часов. При предварительной ингаляции (за 4 суток) животными вещества в течение 10 минут в концентрации 394 ppm, повторное воздействие оксида азота в смертельной концентрации не вызывало гибели мышей. Авторы наблюдения (Henschler et al., 1964) связывают эффект с усилением гидрофильности легочной ткани и ухудшением диффузии газов в легких.

Возможно формирование перекрестной толелантности к действию различных раздражающих газов.

1.2.2. Усиление метаболизма ксенобиотиков

Многие вещества являются индукторами энзимов (см. выше), участвующих в метаболизме ксенобиотиков. Эти энзимы обладают слабой субстратной специфичностью и потому индукторы, как правило, усиливают биотрансформацию целой группы ксенобиотиков. К индукторам относятся и вещества, имеющие широкое клиническое применение, в частности, барбитураты, дифенилгидантрон, диазепам, ницетамид, мепробамат и др. На фоне длительного приема подобных препаратов изменяется чувствительность организма к самым разным токсическим веществам (например производственным агентам). После прекращения приема индукторов их действие продолжается в течение достаточно продолжительного времени. После введения индукторов-барбитуратов нормализация чувствительности к ксенобиотикам у мышей занимает 1 - 4 недели, у собак - до 4 месяцев. Степень модификации чувствительности организма к токсикантам на фоне индукторов невысока и как правило не превышает 1,5 - 2 раз в сравнении с контролем.

В некоторых случаях токсиканты являются индукторами собственного метаболизма. Хорошо известно, что хроническое потребление этанола приводит к развитию толерантности. В опытах на приматах установлено, что существует тесная корреляция между потреблением спирта и скоростью его элиминации (таблица 1).

Таблица 1. Изменение скорости элиминации этанола из организма шимпанзе и макаки резус (мг/кг/час) после хронического приема и в периоде отмены

Группы	Шимпанзе	Макака
Контроль	223,8	167
Хроническое введение	322,4 ¹	336 ²
Абстиненты	213 ³	156,3 ⁴

1 - время потребления 6 - 14 недель: максимальное количество этанола - 5,5 - 7,7 г/кг/сутки;

2 - время потребления 29 недель: максимальная доза - 6,5 мг/кг/сутки;

3 - время отмены: 1 - 51 неделя;

4 - время отмены: 29 неделя.

(Pieper, Skeen, 1973).

Интересно отметить, что у животных с развившейся толерантностью к этанолу, в большей степени выявляется увеличение активности алкогольдегидрогеназы мозга, чем печени (активность практически в пределах нормы).

1.2.3. Усиление экскреции.

При повторном введении веществ, активно выводящихся через почки, нередко отмечается усиление этого процесса. Так, значительно повышается, при повторном приеме, почечное выделение парааминогиппуровой кислоты. Ежедневное, в течение 8 дней, введение крысам самцам этого вещества в количестве 3 грамм в сутки приводит к более чем двукратному увеличению содержания вещества в моче (в сравнении с количеством, выделенным после первого введения).

Аналогичные наблюдения сделаны и для некоторых других веществ. Так, при повторном введении ускоряется выведение из организма пенициллина. Неспецифический характер ускорения почечного выведения веществ с кислотными свойствами при их повторном введении предполагает возможность развития перекрестной толерантности. Например, при длительном назначении парааминогиппуровой кислоты увеличивается клиренс таких веществ как пробеницид, фенолрот, пенициллин, сульфаметоксипиридазин и др. Этот эффект угнетается ингибиторами белкового синтеза. Можно сделать вывод о возможности индукции синтеза белков, ответственных за активный печеночный транспорт, самим же транспортируемыми веществами.

1.2.4. Изменение распределения

Изменение характера распределения токсиканта можно рассматривать как одну из причин формирования толерантности. Однако экспериментальные и клинические данные, подтверждающие это предположение, практически отсутствуют. Для отдельных веществ (например, хлордиазепоксида) у толерантных животных отмечается снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера. Однако клиническое значение этого явления остается не ясным.

1.2.5. Изменение рецепторов и реактивных систем

Для большого количества ксенобиотиков толерантность формируется вследствие количественных и качественных изменений рецепторов или связанных с ними реактивных систем. Следует выделить следующие причины толерантности:

- снижение способности связываться с рецептором;
- увеличение числа рецепторов;
- снижение эффективности реактивных систем, связанных с рецептором-мишенью для токсиканта.

Эти изменения могут разворачиваться изолированно или в комбинации, вследствие чего и скорость наступления толерантности различна при действии различных веществ.

1.2.6. Индукция веществ-антагонистов

Еще одним механизмом развития толерантности может явиться экранирование биомишени для токсиканта продуктами его метаболизма или другими веществами, синтезируемыми в организме. Сюда же можно отнести синтез гаптенов или специальных антител, связывающих исходное вещество, при его продолжительном введении.

1.2.7. Истощение запасов нейромедиаторов

Если к раствору, которым перфузируют препарат изолированного уха кролика добавлять эфедрин в постоянной концентрации, то через некоторое время, прессорный эффект вещества исчезает. Аналогичный эффект наблюдается при инфузии собаке раствора эфедрина (0,99 мг/кг) или амфетамина (0,36 мг/кг). Не смотря на продолжающееся введение препаратов артериальное давление уже через 50 - 90 минут

практически нормализуется (Patil et al, 1965). Как известно, в основе действия эфедрина, тирамина и некоторых других адреномиметиков лежит способность усиливать выброс катехоламинов из пресинаптических структур, которые и вызывают возбуждение соответствующих рецепторов. Истощение запасов нейромедиатора, естественно приводит к ослаблению биологического действия препарата, до полного его прекращения. Алкалоид резерпин, повреждая пресинаптические везикулы, в которых депонируются биогенные амины (норадреналин, дофамин, серотонин), истощает их запасы в синапсах. На фоне действия этого вещества толерантность к тирамину, эфедрину и их аналогам развивается значительно быстрее. После восстановления в тканях нормального содержания нейромедиаторов, восстанавливается исходная чувствительность организма и к препаратам, истощающим их запасы.

1.3. Тахифилаксия

Тахифилаксией называется явление развития толерантности к веществу, вводимому в действующей дозе, уже после однократного контакта с ним.

Формирование тахифилаксии - дозо-зависимый феномен. В ряде случаев повторное действие токсиканта в малых и даже умеренных дозах не приводит к формированию толерантности. Однако эффект развивается после однократного действия вещества в высокой дозе. Иногда тахифилаксия развивается и на подпороговые дозы веществ (показано для атропина). Тахифилаксия продолжается до полного прекращения биологического действия соответствующего ксенобиотика.

Эффект можно вызвать как на целом животном, так и на изолированных органах. Если в дыхательные пути морских свинок ввести аэрозоль серотонина, быстро развивается бронхоспазм и астмоподобное состояние. Не смотря на продолжающуюся ингаляцию вещества, через некоторое время состояние животных нормализуется, что свидетельствует о формировании толерантности к нему. Введение большой дозы норадреналина также приводит к резкому снижению чувствительности к препарату. При продолжительной инфузии норадреналина его прессорное действие постепенно ослабляется, в итоге восстанавливается исходное значение артериального давления. Более того, прекращение введения катехоламина приводит к развитию выраженной гипотензии. Причину тахифилаксии следует искать в изменении функций многих биологических систем, однако основной, по-видимому, является изменение функционального состояния рецепторного поля сосудистого русла.

На препарате изолированной стенки аорты собаки тахифилаксию можно вызвать в отношении ацетилхолина, гистамина, серотонина, морфина, атропина и т.д. Следовательно, не имеет значение сократительным или расслабляющим действием на препарат обладает вещество. Имеются видовые различия в способности веществ вызывать тахифилаксию. Так, эффект в отношении гистамина не удается вызвать на препарате а. Carotis кролика.

Повторное действие хлористого бария на препарат тонкого кишечника морской свинки в растворе Тироде, свободном от ионов кальция, быстро приводит к тахифилаксии. Добавление в инкубационную среду Ca^{2+} сопровождается восстановлением контрактильных свойств препарата. По-видимому, действие бария связано с повышением содержания кальция в цитоплазме миоцитов вследствие высвобождения его из связи с клеточными мембранными структурами. При повторном воздействии пул Ca^{2+} истощается, что и приводит к тахифилаксии. Добавление кальция в среду восстанавливает содержание кальция в клетках и одновременно сократительные свойства биообъекта.

Еще одной причиной тахифилаксии может быть быстро развивающееся истощение пула нейромедиаторов. Характерным примером является быстро развивающаяся толерантность к симпатомиметикам непрямого действия (эфедрину, амфетамину).

1.4. Хроническая форма толерантности

Если толерантность развивается в результате длительного действия ксенобиотика, говорят о хронической форме. Классическим примером является постепенное снижение чувствительности к наркотическим анальгетикам при их длительном приеме. Например, анальгетическая активность морфина у крыс, определяемая по порогу чувствительности животных к действию электрического тока, при ежедневном подкожном введении вещества в дозе 10 мг/кг снижается за 25 суток примерно в 5 раз.

При развившейся толерантности к морфину и морфиноподобным веществам организм в состоянии переносить очень высокие дозы вещества. Анальгетическая доза морфина для человека лежит в интервале 0,01 - 0,02 грамма; смертельная доза составляет 0,3 - 0,5 грамм. Морфинист переносит дозу вещества в несколько грамм. Верхний предел переносимости до настоящего времени не установлен.

Толерантность к морфину формируется на клеточном уровне. Поскольку в крови у толерантных животных морфин определяется в количестве, вызывающем тяжелейшую форму интоксикации у контрольных животных, модификация токсикокинетики вещества, как механизм толерантности, вероятно имеют второстепенное значение. Доказана способность ингибиторов синтеза белка (актиномицина, циклогексимида) угнетать процесс формирования толерантности к морфину.

В настоящее время полагают, что действие опиатов на рецепторы мозга приводит к повышению синтеза в ЦНС естественных агонистов рецепторов - энкефалинов, а также постепенному снижению чувствительности рецепторов к агонистам. У крыс, которым длительное время вводили морфин, уровень энкефалинов в мозге был примерно в 2 раза выше, чем у контрольных животных. Имеются данные об участии в развитии толерантности нарушений обмена вторичных месенджеров в нейронах мозга, в частности цАМФ.

Толерантность, развившаяся в отношении одного из наркотических анальгетиков, распространяется и на другие вещества этой группы. Это явление получило название "перекрестной толерантности". Перекрестная толерантность охватывает все препараты с одинаковым механизмом действия (взаимодействие с опиатными рецепторами). Антагонистами всех этих веществ являются препараты близкого строения (N-аллилморфин).

Толерантность, подобная "морфиновой" может развиваться и в отношении других веществ, действующих на синаптическую передачу. Так, повторное введение блокаторов дофаминовых рецепторов

(нейролептиков) приводит к адаптивным изменениям дофаминергической передачи, которая характеризуется усилением высвобождения дофамина, увеличением числа рецепторов ДА, активацией эффективности реактивных систем. Все эти эффекты являются следствием высокой пластичности механизмов нейротрансмиссии.

1.5. Биологическое значение толерантности

Толерантность можно рассматривать как защитную реакцию организма на действие ксенобиотиков, при которой снижается чувствительность к веществам, и, не редко, лишь в отношении части эффектов, вызываемых токсикантом. Последнее обстоятельство является одной из причин существенных различий в проявлениях острой, подострой и хронической интоксикаций одним и тем же веществом.

2. Химическая зависимость

Повторный контакт с химическим веществом может привести к зависимости от него. Наиболее частой формой зависимости является лекарственная зависимость, наиболее часто развивающаяся в отношении психотропных препаратов.

В соответствии с положением, разработанным ВОЗ в 1964 году, лекарственная зависимость определяется как состояние психической или физической зависимости от некоего вещества, действующего на ЦНС и принимаемого либо непрерывно, либо время от времени. Это определение охватывает, по сути, все биологически активные вещества и, следовательно, такие как алкоголь, табак, наркотики и др.

Нередко говорят о пристрастии, рассматривая этот термин, как синоним зависимости. Тем не менее между понятиями существуют существенные различия. По определению ВОЗ (1957 г.), пристрастие это состояние связанное с периодической или постоянной интоксикацией, произвольно вызываемой потреблением натуральных или синтетических веществ и характеризующееся 4 признаками:

- непреодолимое стремление к потреблению вещества;
- тенденция к постепенному увеличению вводимой дозы;
- психическая или физическая зависимость от токсиканта;
- опасность как для отдельного лица, так и для общества.

Таким образом, зависимость является лишь одним из неотъемлемых атрибутов пристрастия. В настоящее время предлагается выделять 6 основных типов химического пристрастия:

1. Морфиновый тип: сильная психическая и физическая зависимость с постепенным развитием толерантности.

2. Барбитурат-алкогольный тип: выраженная психическая и физическая зависимость с развитием толерантности.

3. Кокаиновый тип: сильная психическая зависимость, при отсутствии физической зависимости; толерантность развивается только в условиях эксперимента.

4. Канабиоловый тип: выраженная психическая зависимость при отсутствии или слабо выраженной физической зависимости; отсутствие толерантности.

5. Галлюциногенный тип (ДЛК-тип): выраженная, до сильной, психическая зависимость; отсутствие физической зависимости; значимая толерантность.

6. Амфетаминовый тип: значимая, но индивидуально по-разному проявляющаяся психическая зависимость, при отсутствии физической зависимости; сильная толерантность.

2.1. Психическая зависимость

Психическая зависимость - центральный признак химической зависимости, развивающийся при всех её формах. Она характеризуется непреодолимым стремлением к продолжению, сделавшегося привычкой, потребления вещества. Психические проявления синдрома отмены состоят в появлении страха, беспокойства, депрессии вплоть до суицидных попыток, стремлении к поиску веществ. Как указывалось ранее, психическая зависимость не всегда связана с физической зависимостью и развитием толерантности.

2.2. Физическая зависимость

Физическая или соматическая зависимость от вещества связана со структурно-функциональными изменениями ЦНС, которые при внезапной отмене препарата проявляются в форме синдрома отмены или абстиненции. Симптомы абстинентного синдрома подразделяют на вегетативные и невегетативные. К первой группе относятся: диарея, непроизвольное мочеиспускание, озноб, слюнотечение, миоз (иногда мидриаз), экзофтальм, слезотечение, тахипное, тошнота, рвота. Ко второй группе симптомов относятся: беспокойство, тремор, раздражительность, мио- и невралгии (наиболее выражены у морфинистов).

Физическая зависимость может развиваться не только у человека. Это явление достаточно глубоко изучается и на экспериментальных животных. В основе опытов лежит методика оценки самовведения препаратов. Предварительно канюлированное животное путем нажатия на рычаг может ввести себе определенную дозу вещества. Если вещество вызывает у животного позитивную реакцию, отмечается его постоянное самовведение. Перечень соединений, вызывающих у человека зависимость, хорошо совпадает с перечнем препаратов, позитивно стимулирующих животных. Степень точности, с которой можно выявить физическую зависимость у лабораторного животного - высока. При самовведении слабого раствора героина наблюдается его постоянное потребление путем частого нажатия на рычаг. Если концентрация раствора увеличить, частота нажатия на рычаг уменьшается. Однако развивающаяся зависимость от препарата на столько велика, что со временем животное пробуждается ото сна только для того, чтобы в очередной раз ввести себе наркотик. Если раствор героина заменить на физиологический раствор, частота нажатия на рычаг становится очень высокой, появляются признаки синдрома отмены, устраняемые введением героина.

Характерными признаками физической зависимости являются:

- повторное введение вещества в течение нескольких недель;
- обязательное сочетание с развитием толерантности;
- как правило, сопровождается выраженной психической зависимостью;
- проявления токсического действия вещества противоположны симптомам абстинентного синдрома;

- отсутствие обязательной связи между перекрестной толерантностью и перекрестной физической зависимостью к препаратам разных групп;
- максимальная интенсивность проявлений абстинентного синдрома в первые четверо суток после отмены, с прекращением симптоматики через 1 - 2 недели.

2.3 Механизм химической зависимости

В настоящее время механизмы формирования химической зависимости изучены не достаточно. На основе многочисленных клинических и экспериментальных исследований установлено, что в основе явления, как правило, лежат структурно-функциональные изменения различных образований головного мозга, носящие адаптивный характер к длительному поступлению токсиканта в организм и проявляющиеся нарушениями их реактивности в отношении эндогенных биорегуляторов. Особое значение в этой связи придается системе вознаграждения ЦНС (reward-system) и связанным с ней нейромедиаторным механизмам. К химической зависимости приводит применение веществ, прямо или косвенно действующих на систему вознаграждения и вызывающих тем самым состояние удовлетворения, эйфории, успокоения (по меньшей мере, напоминающее опьянение), что и заставляет прибегать к их приёму. К числу нейромедиаторных механизмов, имеющих значение в формировании зависимости, в настоящее время, прежде всего, относятся моноаминергические (дофаминергические, серотонинергические) и систему энкефалинов. Вещества, действующие на эти системы мозга, например, морфин, фенилалкиламины, кокаин и т.д., известны своей опасностью в плане формирования химической зависимости. Длительное использование антагонистов этих систем (нейролептиков, налорфина) не приводит к развитию зависимости.

В качестве нейробиологических механизмов развития химической зависимости рассматриваются следующие:

1. Вещество-агонист рецептора (фенамин, наркотический анальгетик и др.) угнетают высвобождение нейромедиатора с одновременным уменьшением числа возбуждаемых рецепторов или изменением их функциональных свойств. Эти изменения более продолжительны, чем время действия агониста, поэтому в случае невведения вещества тонус нейромедиаторной системы понижается, что сопровождается развитием абстинентного синдрома.

2. Токсикант повышает выброс нейромедиатора из пресинаптических структур (например, усиление выделения дофамина при действии амфетамина), или блокирует его обратный захват (кокаин). В итоге запасы нейромедиатора, при длительном введении, истощаются. Отмена препарата приводит к выраженному дефициту трансмиттера, гипофункции медиаторной системы, что и сопровождается развитием абстиненции.

3. Препарат сенситилизует рецептор к действию нейромедиатора. Развивающиеся при этом адаптивные процессы более продолжительны, чем действие вещества. В итоге прекращение введения вещества сопровождается гипофункцией нейромедиаторной системы с развитием синдрома отмены (бензодиазепины).

4. Вещества вызывают стойкие адаптивные изменения физико-химических свойств биологических мембран и, вследствие этого, нарушение их возбудимости. Отмена препаратов приводит к развитию абстиненции (спирты, органические растворители - алкоголизм, токсикомании).

Рассмотренные механизмы хотя и являются экспериментально доказанными в различных моделях, тем не менее представляют собой существенное упрощение проблемы. Ни в коем случае нейробиологические основы зависимости нельзя рассматривать в отрыве от сложных психофизиологических и психосоциальных факторов, особенностей структуры личности пациента.

3. Привыкание

Толерантность, пристрастие, зависимость к токсиканту не следует смешивать с явлением привыкания к веществу. ВОЗ определяет привыкание как стремление к приему вещества без отчетливой тенденции к развитию толерантности и физической зависимости. Формирование психической зависимости - возможная, но не обязательная характеристика явления. Наиболее часто люди привыкают к использованию лекарств. Так, есть лица, способные заснуть только после приема таблеток, даже если это плацебо. Привычка может быть прервана простым волевым усилием, без развития серьезных осложнений. Однако возможна трансформация привычки в психическую зависимость от вещества.

4. Хроническое отравление

Хроническим называется отравление, развивающееся в результате длительного воздействия токсиканта, как правило, в дозах, не вызывающих проявлений токсического процесса при однократном поступлении в организм. Весь перечень эффектов и механизмов, рассмотренных выше, может быть элементом хронической интоксикации, но далеко не исчерпывается им. В каждом случае воздействия конкретного вещества механизмы хронического отравления достаточно специфичны. Однако все они могут быть отнесены к одной из групп:

1. Токсикокинетические;
2. Токсикодинамические.

В основе токсикокинетических механизмов развития хронической интоксикации лежат процессы, приводящие к накоплению (материальная кумуляция) веществ в органах-мишенях до некоего критического уровня, достаточного для инициации патологии (тяжелые металлы, полициклические ароматические углеводороды, полигалогенированные углеводороды и т.д. - вещества с длительным периодом полуэлиминации).

Токсикодинамические механизмы представляют собой совокупность постепенного накопления и накопления многочисленных сохраняющихся во времени микронарушений со стороны биологических систем организма, развивающихся вследствие повторного воздействия токсиканта в подпороговых дозах (функциональная кумуляция), и изменения реактивности биосистем в отношении токсикантов (см. выше) (ядовитые газы, ФОС, цианиды и т.д. - вещества с коротким периодом полуэлиминации).

В основе хронического отравления подавляющим большинством токсикантов лежат механизмы обеих групп.

ГЛАВА 5.4. КОЕРГИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ

В реальных условиях биологические системы, как правило, подвергаются воздействию более чем одного вещества. При этом большинство соединений (действуя в достаточной дозе) таким образом изменяют состояние организма, что последующий контакт с другими ксенобиотиками приводит к формированию эффектов качественно и количественно отличающихся, от вызываемых ими у интактных организмов, т.е. вызывают аллобиотические состояния. Например, уже однократный прием хлорорганического инсектицида алдрина мышами приводит к существенному изменению их чувствительности к фосфорорганическим инсектицидам (таблица 1).

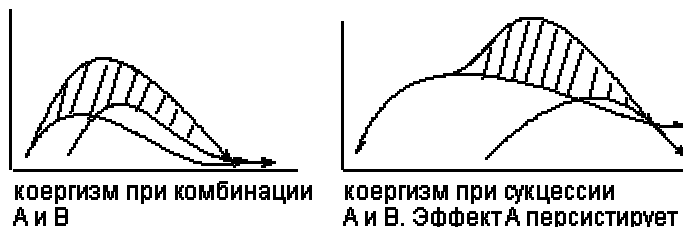
Таблица 1. Влияние алдрина (16 мг/кг, однократно через рот, за 4 суток до испытания) на чувствительность белых мышей к некоторым ФОС

Вещество (мг/кг)	Смертность в группе (%)	
	Контроль	После потребления алдрина
Паратион (22)	35	0
Параоксон (40)	100	44,4
ТЭПФ (10)	95	0
ДФФ (50)	66,6	10
Гутион (15)	84,6	15,4
ТОКФ (2000)	60	20
ОМФА (25)	60	70

(A.J. Triolo, J.M. Coon, 1966)

Для обозначения всех форм эффектов, развивающихся при совместном действии химических веществ, не зависимо от их строения и вида подвергающейся воздействию биологической системы, используют термин - коергизм. Проявления коергизма возможно как вследствие одномоментного (комбинация), так и последовательного (сукцессия) действия веществ на организм (рисунок 1).

эффект



концентрация в тканях

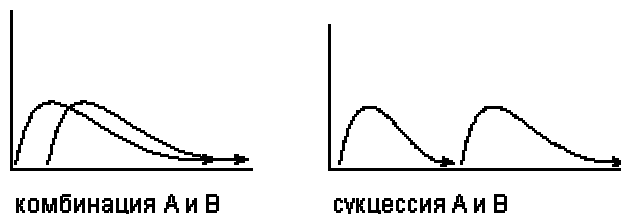


Рисунок 1. Коергизм при одномоментном и последовательном поступлении веществ "А" и "В" в организм.

Проявления коергизма по показателям качества и интенсивности развивающихся эффектов можно представить в форме трех основных типов: аддитивный синергизм (суммация), потенцирующий синергизм (потенцирование), антагонизм (таблица 2).

Таблица 2. Виды коергизма

Аддитивный синергизм	Совместный эффект А и В равен сумме эффектов каждого из веществ. Вещества имеют либо близкую структуру, либо одинаковый механизм действия
Потенцирующий синергизм	Совместный эффект А и В больше суммы эффектов каждого из веществ. Вещества имеют различные механизмы действия. Возможно действие одного из веществ, как аллостерического активатора рецептора другого вещества
Антагонизм	Совместный эффект А и В существенно ниже суммы эффектов каждого из веществ вплоть до полного устранения эффектов

1. Механизмы коергизма

Взаимное влияние химических веществ на развивающиеся эффекты может осуществляться во все периоды их действия и даже после выведения одного из них из организма.

1.1. Взаимодействие в период аппликации

В ряде случаев взаимодействие веществ происходит уже в период их аппликации, при этом образуются продукты с иными свойствами. Этот вариант взаимодействия называется псевдокоергизм. Наибольшее внимание с точки зрения токсикологии заслуживают такие явления как адсорбционное связывание

ксенобиотика на поверхности биологически инертного вещества, химическое взаимодействие веществ, связывание ксенобиотика с макромолекулами.

Адсорбция на поверхности. Наиболее изученным примером подобного рода взаимодействия является процесс связывания токсиканта активированным углем. Адсорбционная емкость активированного угля объясняется его пористостью и большой площадью адсорбирующей поверхности ($1000 \text{ см}^2/\text{г}$ угля). На поверхности локализуются участки связывания как гидрофильных, так и гидрофобных молекул. Полярные вещества, например ионы, низкомолекулярные спирты - плохо связываются активированным углем. Неполярные молекулы адсорбируются тем лучше, чем выше коэффициент распределения масло/вода. Активированный уголь занимает прочное место в системе оказания помощи отравленным в качестве "энтерального" сорбента, а также средства для проведения процедуры гемосорбции. Для обезвреживания принятого внутрь токсиканта применяют и другие адсорбирующие вещества, прежде всего ионообменные смолы. Их адсорбционная мощность во многом зависит от строения токсиканта (заряд активных групп), pH среды и времени контакта между веществом и смолой.

Химическое взаимодействие. В ряде случаев в основе коергизма лежит химическое взаимодействие веществ. Часто оно сопровождается снижением токсичности действующих соединений. Так еще в 18 веке для "обезвреживания" ядов и лечения отравлений предлагали использовать вещества, способные взаимодействовать с токсикантом в пробирке. Практическое значение имели реакции, приводящие к образованию нерастворимых, а потому практически безвредных, продуктов. Среди предлагавшихся средств была, в частности, сероводородная вода, приём которой при интоксикации сулемой считается эффективным мероприятием до настоящего времени (образуется нерастворимый сульфид ртути). Хорошо известно, что щелочи осаждают алкалоиды, ускоряют гидролиз эфиров, способствуют окислению легко окисляемых веществ. Алкалоиды осаждаются также солями йода и брома, дубильными кислотами, разрушаются нитритами. Токсичность люизита (хлоралкильное производное трехвалентного мышьяка), попавшего на кожу, существенно снижается при обработке пораженного участка концентрированным раствором йода (мышьяк окисляется до пентавалентного состояния).

В ряде случаев химическое взаимодействие ксенобиотиков может приводить к образованию более опасных соединений. Так, целый ряд веществ, такие как вторичные и третичные амины, N-алкиламиды, N-алкилгуанидины, взаимодействуя в кислой среде с нитритами, способны образовывать N-нитрозосоединения. При приеме внутрь таких веществ в желудке существенно возрастает концентрация нитрозосоединений. Эндогенно нитриты, как известно, образуются из нитратов под влиянием восстанавливающих микроорганизмов. Количество образующихся N-нитрозосоединений из экзогенных веществ, таким образом, зависит от их потребления, реакционной способности, времени нахождения в желудке, содержания нитритов и pH желудочного сока. При обычных условиях количество нитрозосоединений в ЖКТ не велико, поскольку их предшественники редко потребляются в больших количествах. Кроме того витамины С и Е, содержащиеся в пище, практически полностью блокируют процесс нитрообразования. К веществам, стимулирующим процесс относится, в частности, тиоцианат, содержание которого повышено у курильщиков. Около 90% известных нитрозосоединений являются канцерогенами для животных различных видов.

1.2. Токсикокинетические механизмы коергизма.

Концентрация веществ в тканях пропорциональна содержанию их в крови и определяется соотношением скоростей поступления и оттока. В этой связи вещество "В" может влиять на токсикокинетику вещества "А" несколькими способами:

- изменять абсорбцию вещества "А" вследствие модификации проницаемости биологических барьеров или гемодинамики в органе (ткани). Алкалоз и ацидоз модифицируют захват химических веществ;
- вступать в химическое или физико-химическое взаимодействие с веществом "А", что приведет к изменению концентрации каждого из реагентов во внутренней среде организма. Действие ряда антидотов (комплексобразователи и др.) основано на этом принципе;
- вытеснять вещество "А" из связи с транспортными белками плазмы крови и увеличивать содержание токсиканта в биосредах (вытеснение дикумарола из связи с белками крови фенилбутазоном);
- изменять скорость и характер элиминации путем влияния на биотрансформацию и экскрецию вещества "А" (индукция микросомальных ферментов, назначение мочегонных средств).

1.2.1. Взаимодействие веществ при резорбции

Наиболее хорошо изучено взаимодействие веществ при их энтеральном поступлении. Частым примером рассматриваемой формы взаимодействия является влияние алкоголя на всасывание химических веществ. В основе эффекта лежит изменение подвижности желудочно-кишечного тракта и значений pH содержимого желудка. Этанол в концентрациях более 10% замедляет скорость опорожнения желудка, особенно в случае гипертоничности его содержимого. В концентрациях 1 - 10% спирт усиливает секрецию соляной кислоты, что приводит к понижению pH желудочного сока. Последнее обстоятельство сопровождается усилением всасывания токсикантов, обладающих свойствами слабых кислот (например производных барбитуровой кислоты). Этанол в высоких концентрациях действует противоположным образом. В свою очередь некоторые вещества (кофеин, дисульфирам) замедляют резорбцию этанола.

Поверхностно-активные вещества повышают всасываемость в желудочно-кишечном тракте жирорастворимых веществ. В опытах на крысах показана способность диалкилпропионамидов усиливать резорбцию преднизона и преднизолона, вероятно за счет формирования комплекса, лучше проникающего через липидные мембраны клеток слизистой оболочки.

В ряде случаев коергизм веществ при поступлении их в желудочно-кишечном тракте объясняется повреждением слизистой одним из токсикантов (агрессивные жидкости, иприты, соли некоторых металлов и др.), что приводит к нарушению свойств данного биологического барьера.

Веществом с выраженными "проводниковыми" свойствами, облегчающим проникновение веществ через биологические барьеры, является диметилсульфоксид (ДМСО). 15% раствор ДМСО в 2 - 8 раз усиливает резорбцию ксенобиотиков через кожу.

Изменение легочной резорбции, как правило, связано с нарушениями свойств альвеолярно-капиллярного барьера. Вещества, вызывающие раздражение дыхательных путей, отек легких, затрудняют проникновение в организм других газообразных соединений.

Различные сосудосуживающие препараты, такие как адреналин, норадреналин, вазопрессин, замедляют поступление веществ из мест аппликации. Напротив усиление резорбции может наблюдаться при совместном действии сосудорасширяющих веществ.

1.2.2. Коергизм веществ, в процессе распределения

1.2.2.1. Модификация связывания белками плазмы крови

Вещества существенно различаются по их способности связываться белками плазмы крови. От этого во многом зависят особенности их распределения в организме и токсичность. Так, многие фосфорорганические соединения связываются в плазме крови с алиэстеразами (Lauwerys, Murphy, 1969). Чем большая часть токсиканта связывается в крови, тем меньшая проникает в ткани, угнетает активность ацетилхолинэстеразы и тем менее пагубным, следовательно, оказывается токсическое действие ксенобиотика. Известно, что такие хлорорганические инсектициды как ДДТ, диэльдрин, хлордан увеличивают содержание алиэстераз в плазме крови экспериментальных животных (мыши, крысы, собаки). При этом токсичность фосфорорганических соединений для этих животных снижается (таблица 3).

Таблица 3. Процент связывания плазмой крови и токсичность фосфакола для мышей предварительно отравленных хлорорганическими инсектицидами

Инсектицид	Фракция фосфакола, не связанная плазмой крови (%)	Летальность в группе животных, отравленных фосфаколом (2 мг/кг)
Контроль	17,3 +/- 1,9	60
ДДТ (75 мг/кг)	7,4 +/- 4,9	40
Диэльдрин (16 мг/кг)	0,7 +/- 0,1	20
Хлордан (150 мг/кг)	0,4 +/- 0,1	15

(A.J. Triolo et al., 1970)

Напротив, введение крысам три-о-крезил фосфата (ТОКФ), вещества полностью блокирующего места связывания ФОС с алиэстеразой (в дозе 125 мг/кг), но при этом не угнетающего активность ацетилхолинэстеразы, сопровождается повышением токсичности фосфакола примерно в два раза (Cohen, Murfu, 1974).

1.2.2.2. Изменение свойств тканей

Под влиянием многих химических веществ изменяется кровоснабжение тканей и органов, проницаемость биологических барьеров, электрический потенциал клеток, конформация макромолекул и т.д., то есть свойства, определяющие характер распределения веществ в организме. Примером такого действия является ослабление резерпином накопления дигитоксина в сердечной мышце, скелетных мышцах и печени. Пробеницид оказывает сильное влияние на характер распределения гликозидов в организме. Особое значение для развития токсического процесса имеет влияние коергистов на проницаемость гематоэнцефалического барьера. Так, хорошо известно, что нортриптилин, хлорпромазин усиливают проницаемость ГЭБ, в частности для манитола и инулина. Проницаемость этого барьера усиливается при тяжелых интоксикациях ФОС.

Вещества, обладающие свойствами β -адреноблокаторов и одновременно высоким коэффициентом распределения в системе масло/вода (более 20), значительно угнетают транспорт глюкозы через мембрану эритроцитов.

1.2.2.3. Мобилизация биологически активных веществ

Одна из форм распределения ксенобиотика в организме - депонирование. Целый ряд веществ, особенно металлы (ртуть, свинец, мышьяк, кадмий, стронций и т.д.), некоторые жирорастворимые соединения (ДДТ, гексхлорбензол, дильдрин и т.д.), долго сохраняется в организме. Некоторые из этих веществ можно мобилизовать из мест связывания с помощью специальных средств. Так, выведение радия и стронция можно несколько усилить путем введения в организм кальция. Ион брома ускоренно выводится при нагрузке солями, содержащими ион хлора. Соли тяжелых металлов можно связать с помощью хелатирующих агентов, а затем образовавшиеся водо-растворимые комплексы удалить назначением мочегонных. Эффективность хелатирующих агентов при интоксикации тяжелыми металлами представлена в таблице 4.

Таблица 4. Эффективность некоторых комплексообразователей при интоксикации металлами.

Комплексон	Mn	Co	Zn	Cu	Cd	Au	Pb
Ca,Na ЭДТА	+			+	+		++
Ca,Na ДТПА	+		+		+	+	++
D-пеницилламин		+	++	++		++	
	Fe	Ni	Tl	As	Sb	Hg	
Димеркаптол		+		++	+	++	
Диэтилдитиокарбамат		++	++				
Десфериоксамин	++						

(Wirth et al, 1971)

1.2.3. Коергизм в процессе биотрансформации

Часто коергизм является следствием взаимного влияния ксенобиотиков на процессы биотрансформации. Можно выделить следующие общие механизмы такого действия:

- конкурентное и неконкурентное угнетение активности энзимов, участвующих в биотрансформации веществ;
- повреждение субклеточных структур, ответственных за метаболизм ксенобиотиков (гладкий эндоплазматический ретикулум);
- угнетение синтеза или активация разрушения метаболизирующих энзимов;
- активация синтеза или угнетение разрушения метаболизирующих энзимов.

1.2.3.1. Угнетение активности энзимов, метаболизирующих ксенобиотики

Угнетение активности энзимов I и II фаз метаболизма ксенобиотиков приводит к изменению их биологической активности, продолжительности действия.

Реакции I фазы метаболизма. Два токсиканта или продукты их метаболизма могут взаимодействовать с одним и тем же метаболизирующим энзимом. В следствие этого замедляется элиминация либо одного, либо обоих коергистов. Угнетение превращения ксенобиотика "А" может быть следствием конкурентного (взаимодействие с активным центром) и неконкурентного (взаимодействие с аллостерическим центром) действия на энзим вещества "В".

Угнетение активности микросомальной этанолметаболизирующей окислительной системы энзимов (МЭОС) сопровождается снижением скорости элиминации спиртов и ряда других ксенобиотиков. Так, хлорпромазин, хлоралгидрат являются конкурентными ингибиторами алкогольдегидрогеназы. Циметидин (антагонист H₂-рецепторов) обладает высоким сродством к цитохром-Р450 зависимым оксидазам и МЭОС. Обе группы препаратов замедляют метаболизм этанола. В свою очередь этанол, находясь в организме, угнетает метаболизм некоторых ксенобиотиков метаболизируемых системой оксидаз смешанной функции (ОСФ). Так, на фоне действия этанола существенно замедляется элиминация мепробомата, пентобарбитала, хлордиазепоксиды, метадона, фенотиазина, кофеина, пропоксифена и др. В опытах *in vitro* этанол угнетает гидроксилирование анилина и фенобарбитала, N-деметилирование аминопирина и этилморфина. Этанол значительно замедляет биопревращение метилового спирта в организме, что позволяет использовать его, как антидот метанола.

Большая группа химических веществ является ингибиторами микросомальной биотрансформации ксенобиотиков (таблица 5).

Таблица 5. Ингибиторы микросомальной биотрансформации ксенобиотиков

SKF-525A	Пиперонилбутоксид
Lilly-18947	7,8-бензофлаван
CFT 1201	DPEA
Ипрониазид	Пропоксифен
Метирапон	Циметидин

Среди веществ, угнетающих активность микросомальных энзимов, наиболее изученным является SKF-525, хотя механизм его действия до конца не понят. Полагают, что в основе действия лежит конкурентное и неконкурентное угнетение активности энзимов, неспецифическое повреждение гладкого эндоплазматического ретикула.

Практическое значение явления угнетения энзимов, метаболизирующих ксенобиотики неоднозначно. Если в ходе метаболизма токсичность препарата падает (детоксикация), то угнетение биотрансформации сопровождается ростом его биологической активности (некоторые ФОС, гидразин и его производные, пропоксифен и др.). Если, напротив, в организме происходит биоактивация токсиканта (иприт, хлорированные углеводороды, кодеин, треморин и др.), блокада метаболизма приводит к снижению токсичности ксенобиотика. Необходимо иметь в виду, что многие ингибиторы микросомальных энзимов при длительном использовании выступают в качестве их индукторов. Такие эффекты получены для пропоксифена, этанола, SKF-525A и др. Таким образом, возможность использования на практике веществ, модулирующих активность энзимов метаболизма ксенобиотиков, ограничена неоднозначностью развивающихся при этом эффектов и неспецифическим характером действия.

Реакции II фазы метаболизма. Процессы конъюгации ксенобиотиков с глюкуронидом, сульфатом, глутатионом, ацетатом в значительно меньшей степени модифицируются в процессе коергизма. Тем не менее острое отравление дихлорэтаном или хроническая интоксикация этанолом сопровождаются истощением запасов глутатиона, что приводит к временному снижению резистентности в отношении других токсикантов. Реакции ацетилирования гидразина и его производных, прокаинамида, сульфаниламидов подавляются как при остром, так и хроническом приеме алкоголя.

1.2.3.2. Повреждение органов и тканей, метаболизирующих ксенобиотики

Целый ряд известных токсикантов (фосфор, четыреххлористый углерод, дихлорэтан, тиацетамид и др.) помимо жирового перерождения печени вызывают и поражение энзиматических систем, участвующих в метаболизме ксенобиотиков. До 30% случаев острого поражения печени связано с приемом лекарств (см. раздел "Гепатотоксичность"). Поражение печени происходит либо исходным веществом, либо продуктами его метаболизма. К типичным представителям лекарств-гепатотоксикантов принадлежат хлорпромазин, толбутамид, хлорпропамид, метилтестостерон, аймалин, метотрекст, салицилаты, витамин А, сульфонамиды. Все эти вещества могут существенно повлиять на токсикокинетику и токсичность других ксенобиотиков. В опытах на животных установлено, что фенобарбитал может вызвать некроз печени, если одновременно назначают высокие дозы парацетамола, изониазида, ипрониазида, фурсимиды. Установлено, что не смотря на значительные повреждения печени, биотрансформация таких веществ как амидопирин, салициловая кислота, пентобарбитал может и не нарушаться. Из этого следует, что связь между детоксицирующей и другими функциями печени не является абсолютной.

1.2.3.3. Индукция энзимов, метаболизирующих ксенобиотики

Некоторые ксенобиотики могут увеличивать активность энзимов, участвующих в биотрансформации других чужеродных соединений, т.е. выступать в роли индукторов (см. выше). Как правило, к числу индукторов относятся вещества с различным строением, но растворяющиеся преимущественно в липидах и имеющие большой период полувыведения (таблица 6).

Таблица 6. Некоторые лекарственные препараты, обладающие свойствами индукторов и ингибиторов энзимов, метаболизирующих ксенобиотики

Индукторы	Ингибиторы
барбитураты карбамазепин хлоралгидрат дифенилгидантрон мепробамат ницетамид нитроглицерин фенилбутазон рифампицин спиринолактон перфтордекалин	Аллопуринол хлорамфеникол диэтилстильбэстрол дисульфирам изониазид метирапон нортриптилин

Благодаря низкой специфичности энзимов, метаболизирующих ксенобиотики, многие индукторы повышают скорость метаболизма не только чужеродных, но и эндогенных веществ.

Выраженность индукции в значительной степени определяется видовыми и индивидуальными особенностями организма и является дозо-зависимым эффектом. Как правило, периоду активации энзимов (продолжительность: 24 - 72 часа), при назначении индукторов, предшествует кратковременный (до 6 - 12 часов) период угнетения их активности. Ингибиторы микросомальных энзимов блокируют эффект индукторов.

Так как следствием метаболизма может являться и детоксикация и биоактивация вещества, то и токсикологические последствия индукции ферментов биопревращения при воздействии различных ксенобиотиков на организм не однозначны (таблица 7).

Таблица 7. Изменение токсичности некоторых фосфорорганических инсектицидов для белых крыс на фоне предварительного приема фенобарбитала (50 мг/кг в течение 5 дней)

Вещество	Величина ЛД ₅₀ (мг/кг)		Соотношение ЛД ₅₀ в опытной и контрольной группах
	Контроль	Опыт (прием Фенобарбитала)	
Паратион	2,5	7,3	2,9
Метилпаратион	7,0	8,0	1,1
Систокс	1,4	5,8	4,1
Гутион	8,7	11,4	1,3
Делнав	17,2	118,7	6,9
Фосдрин	1,2	2,4	2,0
Этион	25,9	302,6	11,7
Тритион	10,1	66,5	6,6
ОМПА	28,7	14,5	0,5
Малатион	619,4	949,9	1,5
Фолекс	124,0	171,9	1,4

(K.P. DuBois, F. Kinoshita, 1968)

1.2.3. Коергизм веществ при их выведении

1.2.3.1. Выведение через почки

Вещества, повышающие артериальное давление и усиливающие почечный кровоток (дофамин, пурины, сердечные гликозиды и др.) ускоряют процесс почечной фильтрации ксенобиотиков, несвязанных с белками плазмы крови. Вытеснение коергистом ксенобиотика из связи с протеинами крови также увеличивает скорость их выведения.

1.2.3.1.1. Канальцевая реабсорбция

При угнетении салюретиками канальцевой реабсорбции воды и электролитов уменьшаются предпосылки, в силу снижения концентрации, для обратной диффузии токсикантов и их метаболитов из первичной мочи в кровь. Одновременно уменьшается время контакта выводимых веществ с эпителием почечных канальцев, что также способствует ускоренному выведению ксенобиотиков с мочой (форсированный диурез).

Решающим фактором, определяющим скорость выведения многих веществ через почки, является pH мочи, изменяющаяся в норме от 4,5 до 7,5. При длительном назначении молочнокислого натрия, ацетата натрия, аскорбиновой кислоты кислотность мочи увеличивается; антациды, триметамол и др. вызывают ощелачивание мочи. Как уже указывалось, с изменением pH значительно изменяется степень ионизации слабых кислот с pK_a от 3,0 до 7,0 и оснований с pK_a от 7,5 до 10,5. Изменение степени диссоциации соединений сказывается на их растворимости в воде и липидах. Вследствие этого вещества, подщелачивающие мочу угнетают реабсорбцию слабых кислот и активируют - слабых оснований и, напротив, вещества понижающие pH мочи угнетают реабсорбцию оснований и активируют - слабых кислот.

1.2.3.1.2. Канальцевая секреция

Канальцевая секреция представляет собой активный процесс, при котором коергисты могут выступать в качестве конкурентов за системы переносчиков в почках. Система переноса органических анионов обеспечивает секрецию целого ряда биологически активных веществ (см. раздел "Токсикокинетика").

В таблице 8 представлены данные, демонстрирующие замедление элиминации почками пенициллина при одновременном назначении ряда других веществ.

Таблица 8. Влияние некоторых веществ на скорость элиминации почками пенициллина (600 мг/кг) у человека.

Препараты (суточная доза, г)	Период полувыведения (мин)	
	до препарата	после препарата
пробеницид (2,0)	40,4	104,3
фенилбутазон (0,6)	42,8	102,2
сульфинпиразон (0,6)	42,6	70,3
индометацин (0,075)	42,7	52,2

Переносчики соединений свойствами слабых оснований участвуют элиминации таких веществ как хинин, хинидин, имипрамин, неостигмин и т.д. Возможно их взаимное влияние на скорость элиминации.

1.2.3.2. Печеночная экскреция

Гепатоциты, как и клетки почечного эпителия, с помощью низкоселективных транспортных систем, ускоряют выведение из печени в желчь некоторых анионов и катионов. Здесь также существует возможность конкуренции между ксенобиотиками за систему переноса через биологические барьеры. Так, желчегонные вещества блокируют выведение билирубина; бромсульффталеин понижает билиарную экскрецию варфарина. Однако токсикологическое значение этого феномена невелико, поскольку явление внутрипеченочной циркуляции нивелирует развивающийся эффект.

1.3. Токсикодинамические механизмы коергизма

1.3.1. Взаимодействие на уровне рецепторов

Коергизм веществ на уровне рецепторов может реализовываться следующими способами:

- путем действия на один и тот же рецептор биологически активной макромолекулы (энзима, ионного канала, рецептора эндогенного биорегулятора); участвующие коергисты выступают в качестве агонистов или конкурентных антагонистов;

- путем действия на разные сайты связывания одного и того же рецептора биологически активной молекулы; участвующие коергисты выступают либо в качестве агонистов, либо неконкурентных антагонистов.

Интерпретация феномена коергизма на уровне рецепторов возможна с нескольких позиций.

1. Классическая модель основывается на представлении об известном химическом подобии агонистов и антагонистов и их комплементарности к соответствующим рецепторам. Концепция подтверждается рядом наблюдений над действием серий препаратов, возбуждающих и блокирующих синаптические рецепторы нейромедиаторов центральной и периферической нервной системы (холинергические, катехоламинергические, ГАМК-ергические и др.). Конкурентные антагонисты имеют большую молекулярную массу, чем агонисты, и образуют более прочную связь с рецепторами, блокируя их.

2. Конформационная модель исходит из того, что рецептор может находиться в двух состояниях: активном (R^+) и неактивном (R^-), между которыми в норме существует динамическое равновесие. Активный рецептор взаимодействует с агонистом, неактивный - преимущественно с антагонистом. Вследствие такого взаимодействия агонисты сдвигают равновесие в сторону преобладания активной формы рецептора, антагонисты - неактивной. Частичные агонисты могут взаимодействовать с обеими формами рецептора, следовательно, одновременно и возбуждать и блокировать систему (рисунок 2).

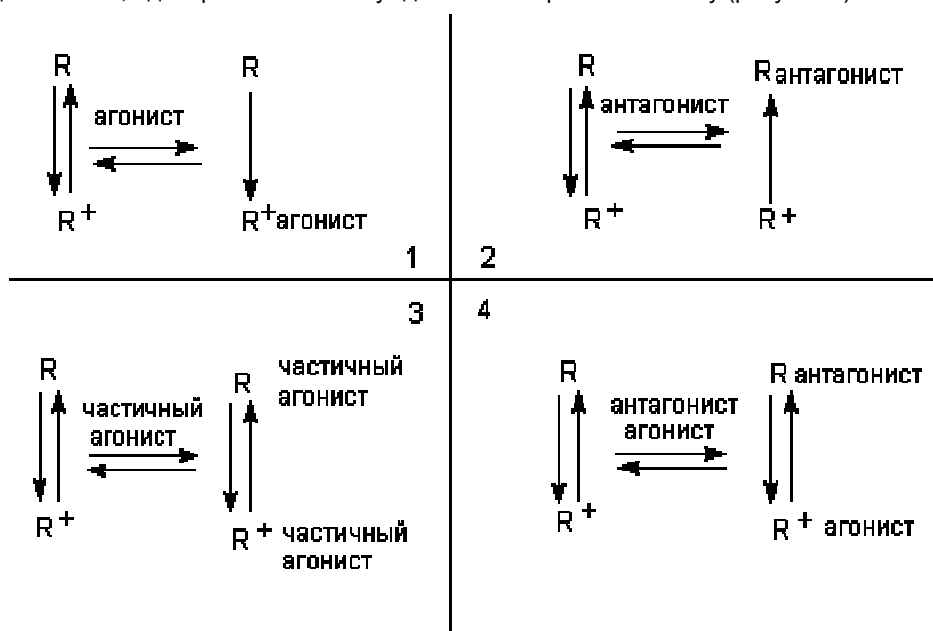


Рисунок 2. Взаимодействие рецептора с агонистом и антагонистом:

1. Агонист сдвигает равновесие в сторону R^+
2. Антагонист сдвигает равновесие в сторону R
3. Частичный агонист частично изменяет соотношение R^+ и R
4. Конкуренция между агонистом и антагонистом

Эта модель позволяет понять, почему между агонистами и антагонистами должны существовать структурные различия. В некоторых случаях равновесие между состояниями R^- и R^+ рецепторов определяется факторами окружающей среды. Так, состояние опиатных рецепторов *in vitro* определяется концентрацией ионов натрия в инкубационной среде. Действие неэлектролитов на липидные мембраны также, возможно, сопровождается изменением соотношения активной и неактивной форм рецепторов в нервной системе.

Возможны и другие гипотезы, объясняющие явление коергизма на уровне рецепторов.

1.3.1.1. Конкуренция за рецепторы одного типа

Принципиально возможные механизмы конкуренции двух токсикантов на уровне рецептора представлены на рисунке 3.

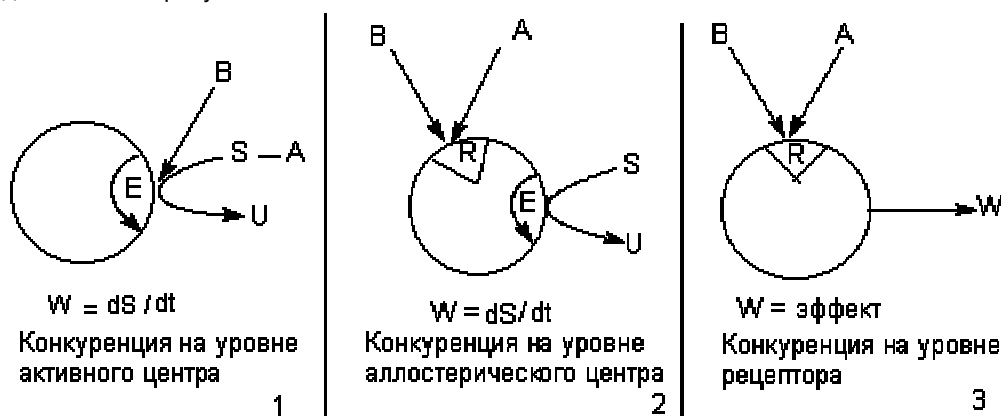


Рисунок 3. Механизмы конкуренции двух токсикантов на уровне рецептора

В качестве рецептора для токсикантов (A, B) могут выступать активный (E) и аллостерический (R) центры энзима, участвующего в превращении субстрата (S) и собственно рецепторы для эндогенных биорегуляторов (нейромедиаторов, гормонов). Биологическая активность энзима проявляется скоростью превращения субстрата, рецепторного протеина - инициацией физиологической реакции (выделение секрета железой, сокращение мышечного волокна, изменение потенциала биологической мембраны и т.д.)

При изучении серии веществ по их способности конкурировать за рецептор можно прийти к определенному типу коергизма (таблица 9).

Таблица 9. Типы коергизма токсикантов при действии на рецептор

Действие на биосистему только A	Действие на биосистему как A, так и B	Изменение эффекта	Вид коергизма
++	++	0	конкурентный синергизм
++	+	-	конкурентный дуализм
++	0	--	конкурентный антагонизм

1.3.1.2. Коергизм при действии ксенобиотиков на разные участки рецепторной молекулы

Низкомолекулярные вещества способны атаковать биологически активные протеины различными способами. Образующие при этом связи токсиканта и протеина являются как специфическими (с активным центром энзима, аллостерическим центром энзима, рецепторной структурой и т.д.), так и неспецифическим (с сульфгидрильными, гидроксильными, аминогруппами белков и т.д.). Рецепторный ареал биологически активного протеина часто представляет собой относительно небольшой участок связывания субстрата и окружающий его периферический отдел. Решить вопрос о специфичности и неспецифичности (конкурентности и неконкурентности) действия токсиканта на рецепторную молекулу, как правило, чрезвычайно сложно. Лишь для некоторых энзимов и рецепторных протеинов изучены молекулярные механизмы их взаимодействия с отдельными токсикантами. Так, установлены закономерности взаимодействия ФОС с активным центром холинэстеразы и влияние так называемых реактиваторов холинэстеразы (оксимов) на этот процесс (см. раздел "Противоядия").

Показано, что морфин и N-аллиломорфин очевидно реагируют с различными участками одной и той же молекулы опиатного рецептора. Антагонизм между веществами, по-видимому, основан на том, что рецептор к морфину при взаимодействии с одним из этих соединений принимает конформацию, затрудняющую взаимодействие с другим.

N-этилмалеинимид, p-хлормеркуробензоат, цистеин, ионы ртути и мышьяка и другие вещества способны связываться с SH-группами белковых молекул, изменяя их конформацию. Таким образом, функциональные свойства молекул изменяются вследствие модификации структуры рецептора.

В холинэргических рецепторах пункт связывания ацетилхолина соседствует с -S-S- связью белковой молекулы, восстановление или окисление которой оказывает влияние на способность рецептора взаимодействовать с АХ. Восстановить дисульфидную связь можно с помощью β-меркаптоэтанола, окислить - гипосульфитом натрия. В опытах *in vitro* оба вещества существенно изменяют реакцию

биопрепаратов на ацетилхолин, а также токсиканты, обладающие холиномиметической и холинолитической активностью.

Различные функциональные группы белков легко взаимодействуют с алкилирующими агентами, например с ипритами, формальдегидом, промежуточными продуктами метаболизма хлорированных углеводов (дихлорэтан и т.д.), арсенидами, солями ртути и т.д. По большей части это ковалентные, и, следовательно, практически необратимые связи. Если рецепторная структура инактивирована за счет ковалентного связывания с токсикантом, то восстановление её активности возможно только путем синтеза *de novo*.

В ходе токсикологических экспериментов при изучении коергизма между неконкурентными токсикантами, как правило, выявляется их способность одновременно изменять как сродство биомишени к эндогенным субстратам и ксенобиотикам-агонистам, так и активность соответствующей биомолекулы.

1.3.2. Коергизм на уровне реактивных систем и целостного организма

Часто в основе коергизма лежит взаимодействие токсикантов с различными структурами, связанными функционально. Выраженность этой функциональной связи может быть различной. Это могут быть биомолекулы, входящие в структуру синапса (пресинаптические рецепторы, регулирующие выброс нейромедиатора и его обратный захват, ферменты, разрушающие нейромедиатор в синапсе, постсинаптические рецепторы, взаимодействующие с нейромедиатором и т.д.), рецепторы различных синаптических образований, участвующие в регуляции клетки или органа (холинергические и катехоламинергические системы миокарда, различные нейромедиаторные системы ЦНС и т.д.), биомишени для токсикантов, локализованные в различных анатомических образованиях, связанных функционально (нервная ткань - мышечная ткань; сосудистая система - почки и т.д.). Если токсиканты действуют на различные рецепторные системы и при этом усиливают эффект со стороны биологической системы (клетки, ткани, органа, организма в целом), то говорят о функциональном (физиологическом) синергизме; если эффект ослабляется - о функциональном (физиологическом) антагонизме. Так, ингибиторы холинэстеразы усиливают проведение нервного импульса в холинэргических синапсах, холинолитики подавляют этот процесс. Вещества, относящиеся к упомянутым группам, являются функциональными антагонистами (действуют противоположным образом в пределах одной анатомической структуры - синапса). Одновременное назначение β -адреноблокаторов и диуретиков сопровождается выраженным снижением артериального давления - налицо функциональный синергизм веществ.

2. Представление данных, получаемых в ходе изучения явления коергизма

Для представления данных отражающих коергизм веществ можно использовать различные диаграммы, например комбинационный квадрат (Loewe).

Изучается соотношение доз коергистов "А" и "В" при их совместном действии, по показателю - способность вызывать некий определенный эффект, оцениваемый количественно (например ЛД₅₀ или ЕД₅₀). В системе координат, где абсцисса - относительная доза "А", а ордината - относительная доза "В", выстраивается линия, связывающая дозы "А" и "В", которые вызывают при совместном введении определенный эффект (например, 50% летальность в группе экспериментальных животных). Эта линия называется изоболой. По её виду можно судить о характере коергизма между веществами. Как правило, диаграмма Loewe позволяет осуществлять сравнение веществ с близким механизмом действия (рисунок 4).

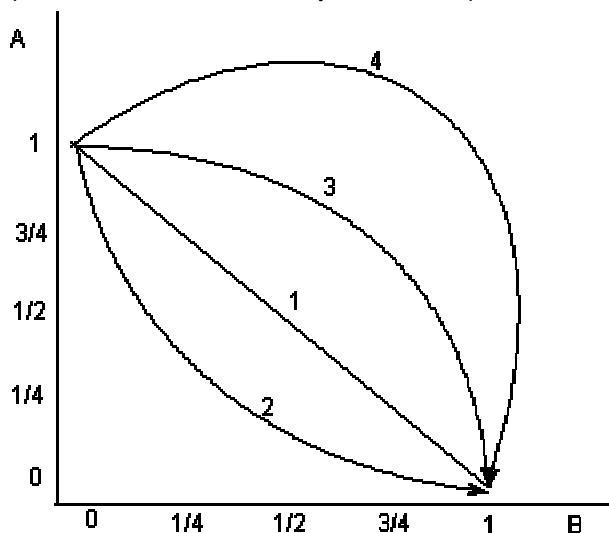


Рисунок 4. Комбинационный квадрат Loewe с 4 изоболой:

1. Аддитивный синергизм;
2. Сверхаддитивный синергизм - потенциация;
3. Относительный антагонизм;
4. Абсолютный антагонизм.

Ордината: относительные дозы "В", вызывающие эффект установленной интенсивности в присутствии "А".

Абсцисса: относительные дозы "А", вызывающие аналогичный эффект аналогичной интенсивности в присутствии "В".

Возможно и иное представление получаемых данных (рисунок 5). В данном случае по оси абсцисс откладывают соотношение относительных доз "А" и "В", а по оси ординат выраженность эффекта,

развивающегося при совместном введении токсикантов, также в относительных величинах (части от максимального).



Рисунок 5. Выраженность эффекта при совместном действии "А" и "В" в различных дозах

3. Токсикологическое значение явления коергизма

1. На производстве, в быту или в природных условиях на человека, как правило, одновременно действует большое количество химических веществ. Поскольку существует явление коергизма практически никогда эффект такого сочетанного действия не является простой суммой эффектов, наблюдаемых при изолированном воздействии каждого из токсикантов в отдельности. Это существенно затрудняет нормирование химических воздействий (определение ПДК и т.д.) и вообще снижает научную ценность токсикометрических данных, полученных применительно к одному токсиканту, для принятия экспертных решений. Явление коергизма — одна из основных причин значительной неопределенности суждений при оценке риска, связанного с действием вредных факторов на организм, популяцию, экосистему. В особо ответственных случаях приходится специально изучать в эксперименте последствия воздействия на биосистему определенных смесей, однако ограниченность такого подхода очевидна.

2. Явление коергизма лежит в основе разработки средств этиотропной (антидоты), патогенетической и симптоматической терапии отравлений. В качестве средств, эффективных при интоксикации тем или иным веществом, могут выступать лишь химические соединения, обладающие антагонистическими отношениями с токсикантом, развивающимися по одному из рассмотренных выше механизмов.

ГЛАВА 5.5. АНТИДОТЫ (ПРОТИВОЯДИЯ)

В клинической токсикологии, как и в других областях практической медицины, в качестве лечебных, используют симптоматические, патогенетические и этиотропные средства терапии (таблица 1). Поводом для введения этиотропных препаратов, является знание непосредственной причины отравления, особенностей токсикокинетики яда. Симптоматические и патогенетические вещества назначают, ориентируясь на проявления интоксикации, при этом одно и то же лекарство порой можно вводить отравленным совершенно разными токсикантами.

Таблица 1. НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ ОСТРЫХ ИНТОКСИКАЦИЯХ

СРЕДСТВА	НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
Этиотропные	А. Химический антагонизм - нейтрализация токсиканта Б. Биохимический антагонизм - вытеснение токсиканта из связи с биосубстратом; - другие пути компенсации, нарушенного токсикантом количества и качества биосубстрата В. Физиологический антагонизм - нормализация функционального состояния субклеточных биосистем (синапсов, митохондрий, ядра клетки и др.) Г. Модификация метаболизма токсиканта
Патогенетические	- модуляция активности процессов нервной и гуморальной регуляции; - устранение гипоксии; предотвращение пагубных последствий нарушений биоэнергетики; - нормализация водно-электролитного обмена и кислотно-основного состояния; - нормализация проницаемости гисто-гематических барьеров; - прерывание патохимических каскадов, приводящих к гибели клеток и др.
Симптоматические	- устранение боли - судорог - психомоторного возбуждения - нормализация дыхания - нормализация гемодинамики и др.

Специфичность лекарств, в отношении действующих токсикантов убывает в ряду: этиотропное - патогенетическое - симптоматическое средство. В такой же последовательности убывает эффективность применяемых средств. Этиотропные препараты, введенные в срок и в нужной дозе, порой практически полностью устраняют проявления интоксикации. Симптоматические средства устраняют лишь отдельные проявления отравления, облегчают его течение (Таблица 2).

Таблица 2. Различия ожидаемых эффектов от использования средств этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии острых интоксикаций

Средства	Ожидаемый эффект	Примеры
Этиотропные	Ослабление или устранение всех проявлений интоксикации	Устранение (или полное предотвращение развития) признаков отравления цианидами при своевременном введении метгемоглобинообразователей (азотистокислого натрия, диметиламинофенола)
Патогенетические	Ослабление или устранение проявлений интоксикации, в основе которых лежит данный патогенетический феномен	Временное улучшение состояния (частичное устранение признаков гипоксии головного мозга) пораженных удушающими веществами (хлором) при ингаляции кислорода
Симптоматические	Ослабление или устранения отдельного проявления интоксикации	Устранение судорожного синдрома, вызванного фосфорорганическим соединением, с помощью больших доз диазепама

В токсикологии, термину этиотропное средство терапии, тождествен термин антидот (противоядие).

Антидотом (от Antidotum, "даваемое против") - называется лекарство, применяемое при лечении отравлений и способствующее обезвреживанию яда или предупреждению и устранению вызываемого им токсического эффекта (В.М. Карасик, 1961).

1. История вопроса.

В старой медицине многие болезни рассматривались как отравления, а потому эффективные против них лекарства называли антидотами. Под ядом обычно понимали всё, что вызывает болезни, в том числе неизвестные в те времена инфекции. Представления о механизмах действия ядов вплоть до конца 18 века также отличались от современных. Отравление рассматривали как результат механического повреждения органов невидимыми частицами яда. Представление о том, что существуют вещества, которые имеют невидимую остроту, ранящую живое тело, позже "подкрепились" тем, что при микроскопировании различных солей обнаруживались кристаллы, имеющие форму мечей, копий и т.д. Такие представления побуждали использовать в качестве антидотов вещества, которые могли смягчить ядовитую остроту. Вот почему врачи так часто назначали смягчающие средства - жиры и слизи при отравлениях, например,

мышьяком. Таким антидотам приписывали способность оказывать не только местное, но и благоприятное действие при резорбции.

Другое распространенное воззрение на отравление зиждилось на гуморальной теории патологии. В классификации ядов, предложенной ещё Галеном, различались группы охлаждающих, согревающих, вызывающих гниение ядов, а противоядиями против них считались вещества, которые по воззрениям гуморалистической теории могли восстановить нарушенное в организме равновесие качеств: теплое против холодного (бобровая струя - тёплое средство - против опия - средство холодное).

Бытовало представление, что противоядие должно изгонять яд из тела, поскольку нарушение здоровья вызывается некой болезнетворной, подлежащей удалению, материей. С этим представлением связано широкое использование лекарств, вызывающих рвоту потоотделение, слюнотечение. Важнейшим лечебным мероприятием на протяжении многих веков было кровопускание.

Следует упомянуть о противоядиях, которым столетиями приписывалась сказочная сила. Такими считались знаменитые териак - антидоты средних веков и эпохи Возрождения. В состав териак входили многочисленные компоненты (до 200) самой невероятной природы. Способ их приготовления держался в секрете и требовал длительного времени, поскольку зелье должно было "настояться".

Современная история антидотов началась в XIX веке, когда с развитием химии и внедрением эксперимента в практику медицинских исследований, разработка этих средств встала на научную основу.

2. Характеристика современных антидотов

По сути, любой антидот - химическое вещество, предназначенное для введения до, в момент или после поступления токсиканта в организм, то есть коергист, обязательным свойством которого должен быть антагонизм к яду. Антагонизм никогда не бывает абсолютным и его выраженность существенным образом зависит от последовательности введения веществ, их доз, времени между введениями. Очень часто антагонизм носит односторонний характер: одно из соединений ослабляет действие на организм другого, но не наоборот. Так, обратимые ингибиторы холинэстеразы при профилактическом введении ослабляют действие фосфорорганических веществ, но фосфорорганические вещества не являются антагонистами обратимых ингибиторов. В этой связи антидоты внедряются в практику после тщательного выбора оптимальных сроков и доз введения на основе глубокого изучения токсикокинетики ядов и механизмов их токсического действия.

В настоящее время антидоты разработаны лишь для ограниченной группы токсикантов. В соответствии с видом антагонизма к токсиканту они могут быть классифицированы на несколько групп (таблица 3).

Таблица 3. Противоядия, используемые в клинической практике

Вид антагонизма	Противоядия	Токсикант
1.Химический	ЭДТА, унитиол и др. Со-ЭДТА и др. азотисто-кислый Na амилнитрит диэтиламинофенол антитела и Fab-фрагменты	тяжелые металлы цианиды, сульфиды -//- -//- гликозиды ФОС паракват токсины
2.Биохимический	кислород реактиваторы ХЭ обратим. ингибит. ХЭ пиридоксин метиленовый синий	СО ФОС ФОС гидразин метгемоглобино-образователи
3.Физиологический	атропин и др. аминостигмин и др. сибазон и др. флюмазенил налоксон	ФОС, карбаматы холинолитики, ТАД, нейролептики ГАМК-литики бензодиазепины опиаты
4.Модификация метаболизма	тиосульфат Na ацетилцистеин этанол 4-метилпиразол	цианиды ацетаминофен метанол, этиленгликоль

2.1. Краткая характеристика механизмов антидотного действия

Обычно выделяют следующие механизмы антагонистических отношений двух химических веществ:

1. Химический;
2. Биохимический;
3. Физиологический;
4. Основанный на модификации процессов метаболизма ксенобиотика.

Антидоты с **химическим антагонизмом** непосредственно связываются с токсикантами. При этом осуществляется нейтрализация свободно циркулирующего яда.

Биохимические антагонисты вытесняют токсикант из его связи с биомолекулами-мишенями и восстанавливают нормальное течение биохимических процессов в организме.

Физиологические антидоты, как правило, нормализуют проведение нервных импульсов в синапсах, подвергшихся атаке токсикантов.

Модификаторы метаболизма препятствуют превращению ксенобиотика в высокотоксичные метаболиты, либо, ускоряют биодетоксикацию вещества.

2.1.1. Антидоты, связывающие токсикант (химические антагонисты)

В XIX в. полагали, что сфера действия противоядий, основанных на способности химически взаимодействовать с токсикантом, ограничена. Считалось, что антидоты могут оказывать пользу только в тех случаях, когда яд ещё находится в кишечном канале, если же он успел проникнуть в кровеносную систему, то все средства подобного рода оказываются бесполезными. Лишь в 1945г, Томпсону и коллегам удалось создать средство, нейтрализующее токсикант во внутренних средах организма, и опровергнуть неверное предположение. Созданным препаратом был 2,3-димеркаптопропанол - Британский антилюизит (БАЛ).

В настоящее время антидоты с химическим антагонизмом широко используют в практике оказания помощи отравленным.

2.1.1.1. Прямое химическое взаимодействие

Антидоты этой группы непосредственно связываются с токсикантами. При этом возможны:

- химическая нейтрализация свободно циркулирующего токсиканта;
- образование малотоксичного комплекса;
- высвобождение структуры-рецептора из связи с токсикантом;
- ускоренное выведение токсиканта из организма за счет его "вымывания" из депо.

К числу таких антидотов относятся глюконат кальция, используемый при отравлениях фторидами, хелатирующие агенты, применяемые при интоксикациях тяжелыми металлами, а также Со-ЭДТА и гидроксикобаламин - антидоты цианидов. К числу средств рассматриваемой группы относятся также моноклональные антитела, связывающие сердечные гликозиды (дигоксин), ФОС (зоман), токсины (ботулотоксин).

Хелатирующие агенты - комплексообразователи (рисунок 1).

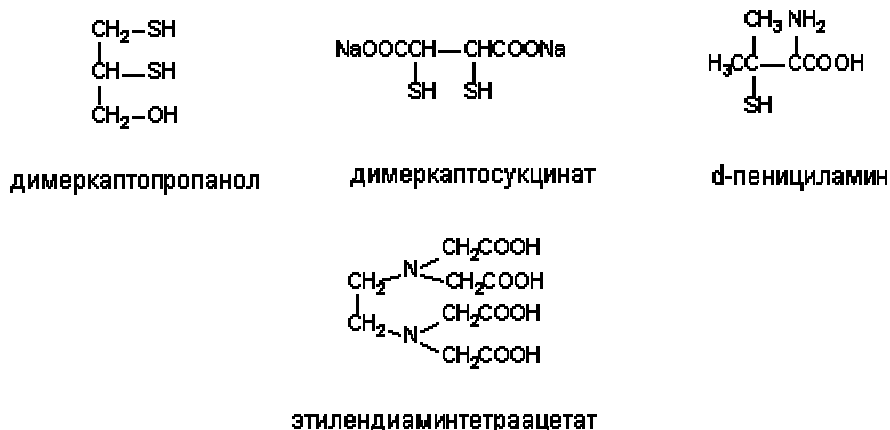


Рисунок 1. Структура некоторых комплексообразователей

К этим средствам относится большая группа веществ, мобилизующих и ускоряющих элиминацию из организма металлов, путем образования с ними водорастворимых малотоксичных комплексов, легко выделяющихся через почки (рисунок 2).

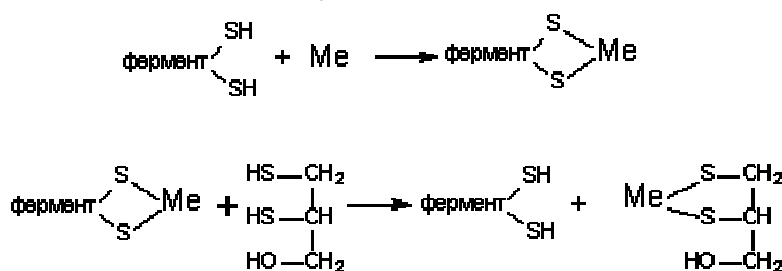


Рисунок 2. Механизм антидотного действия комплексообразователя (БАЛ) при отравлении металлами (Me)

По химическому строению комплексообразователи классифицируются на следующие группы:

1. Производные полиаминполикарбоновых кислот (ЭДТА, пентацид и т.д.);
2. Дитиолы (БАЛ, унитиол, 2,3-димеркаптосукцинат);
3. Монотиолы (d-пеницилламин, N-ацетилпеницилламин);
4. Разные (десферриоксамин, прусская синь и т.д.).

Производные полиаминполикарбоновых кислот активно связывают свинец, цинк, кадмий, никель, хром, медь, марганец, кобальт. Дитиольные комплексообразователи используются для выведения из организма мышьяка, ртути, сурьмы, кобальта, цинка, хрома, никеля (таблица 4).

Таблица 4. Преимущественное сродство комплексообразователей к некоторым металлам

Комплексообразователь	Металл
Унитиол (БАЛ)	Hg, As, Sb, Co, Zn, Cr, Ni
Димеркаптосукцинат	Hg, Pb
Д-пеницилламин	Cu, Hg, Pb

Диэтилдитиокарбамат	Cu, Tl, Ni
ЭДТА	Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Mn, Co

Монотиольные соединения образуют менее прочные комплексы с металлами, чем дитиольные, но в отличие от последних всасываются в желудочно-кишечном тракте и потому могут назначаться через рот. Десфериоксамин избирательно связывает железо, а прусская синь (ферроцианат калия) - таллий.

Препараты, содержащие кобальт. Известно, что кобальт образует прочные связи с циан-ионом. Это дало основание испытать соли металла (хлорид кобальта) в качестве антидота при отравлении цианидами. Был получен положительный эффект. Однако неорганические соединения кобальта обладают высокой токсичностью, следовательно, малой терапевтической широтой, что делает сомнительной целесообразность их применение в клинической практике. Ситуация изменилась после того, как в опытах на животных была показана эффективность гидроксикобаламина для лечения отравлений цианистым калием. Препарат весьма эффективен, мало токсичен, но дорог, что потребовало поиска других соединений. Среди испытанных средств были: ацетат, глюконат, глутамат, гистидинат кобальта и кобальтовая соль ЭДТА. Наименее токсичным и эффективным оказался последний препарат (Paulet, 1952), который и используется в некоторых странах в клинической практике (рисунок 3).

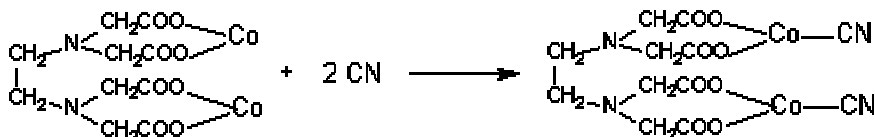


Рисунок 3. Взаимодействие Co-ЭДТА с циан-ионом

Антитела к токсикантам. Для большинства токсикантов эффективные и хорошо переносимые антидоты не найдены. В этой связи возникла идея создания универсального подхода к проблеме разработки антидотов, связывающих ксенобиотики, на основе получения антител к ним. Теоретически такой подход может быть использован при интоксикациях любым токсикантом, на основе которого может быть синтезирован комплексный антиген (см. раздел "Иммунотоксичность"). Однако на практике существуют значительные ограничения возможности использования антител (в том числе моноклональных) в целях лечения и профилактики интоксикаций. Это обусловлено:

- сложностью (порой непреодолимой) получения высокоафинных иммунных сывороток с высоким титром антител к токсиканту;
- технической трудностью изоляции высокоочищенных IgG или их Fab-фрагментов (часть белковой молекулы иммуноглобулина, непосредственно участвующая во взаимодействии с антигеном);
- "моль на моль" - взаимодействием токсиканта и антитела (при умеренной токсичности ксенобиотика, в случае тяжелой интоксикации, потребуется большое количество антител для его нейтрализации);
- не всегда выгодным влиянием антител на токсикокинетику ксенобиотика;
- ограниченностью способов введения антител;
- иммуногенностью антител и способностью вызывать острые аллергические реакции.

В настоящее время в эксперименте показана возможность создания антидотов на рассматриваемом принципе в отношении некоторых фосфорорганических соединений (зоман, малатион, фосфакол), гликозидов (дигоксин), дипиридилов (паракват) и др. Однако в клинической практике препараты, разработанные на этом принципе, применяется, в основном, при отравлении токсинами белковой природы (бактериальные токсины, змеиные яды и т.д.).

2.1.1.2. Опосредованная химическая нейтрализация.

Некоторые вещества не вступают в химическое взаимодействие с токсикантом при введении в организм, но существенно расширяют ареал "немых" рецепторов для яда.

К числу таких противоядий относятся метгемоглобинообразователи - антидоты цианидов и сульфидов, в частности: азотистокислый натрий, амилнитрит, 4-метиламинофенол, 4-этиламинофенол (антициан) и др. Как и прочие метгемоглобинообразователи, эти вещества окисляют двухвалентное железо гемоглобина до трехвалентного состояния.

Как известно, основным механизмом токсического действия цианидов и сульфидов, попавших в кровь, является проникновение в ткани и взаимодействие с трехвалентным железом цитохромоксидазы, которая утрачивает при этом свою физиологическую активность (см. раздел "Механизм действия"). С железом, находящимся в двухвалентном состоянии (гемоглобин), эти токсиканты не реагируют. Если отравленному быстро ввести в необходимом количестве метгемоглобинообразователь, то образующийся метгемоглобин (железо трехвалентно) будет вступать в химическое взаимодействие с ядами, связывая их и препятствуя поступлению в ткани. Более того концентрация свободных токсикантов в плазме крови понизится и возникнут условия для разрушения обратимой связи сульфид- и/или циан-иона с цитохромоксидазой (рисунок 4).

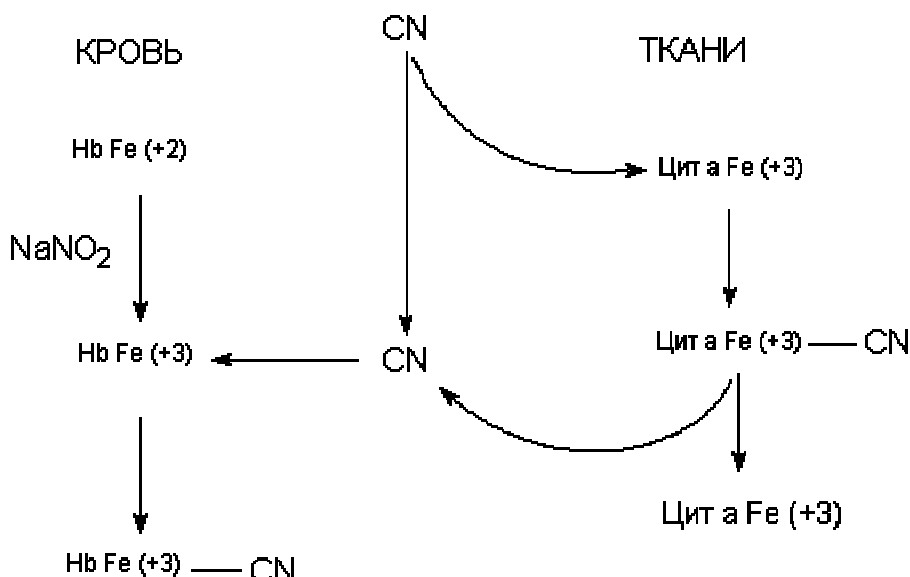


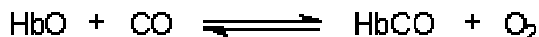
Рисунок 4. Механизм антидотного действия метгемоглинообразователей (NaNO_2) при отравлении цианидами

2.1.2. Биохимический антагонизм

Токсический процесс развивается в результате взаимодействия токсиканта с молекулами (или молекулярными комплексами) - мишенями. Это взаимодействие приводит к нарушению свойств молекул и утрате ими специфической физиологической активности. Химические вещества, разрушающие связь "мишень-токсикант" и восстанавливающие тем самым физиологическую активность биологически значимых молекул (молекулярных комплексов) или препятствующие образованию подобной связи, могут использоваться в качестве антидотов.

Данный вид антагонизма лежит в основе антидотной активности кислорода при отравлении оксидом углерода, реактиваторов холинэстеразы и обратимых ингибиторов холинэстеразы при отравлениях ФОС, пиридоксальфосфата при отравлениях гидразином и его производными.

Кислород используют при интоксикациях различными веществами, однако специфическим противоядием он является для оксида углерода. Оксид углерода (угарный газ) имеет высокое сродство к двухвалентному железу гемоглобина, с которым образует прочный, хотя и обратимый комплекс - карбоксигемоглобин. Карбоксигемоглобин не способен осуществлять кислородтранспортные функции. Кислород конкурирует с оксидом углерода за связь с гемоглобином и при высоком парциальном давлении вытесняет его:



Соотношение между содержанием карбоксигемоглобина в крови и парциальным давлением O_2 и CO выражается уравнением Холдена:

$$\text{COHb}/\text{O}_2\text{Hb} = (m)\text{pCO}/\text{pO}_2$$

В силу высокого сродства гемоглобина к CO (в 240 раз выше, чем к O_2) требуется высокое содержание кислорода во вдыхаемом воздухе для того, чтобы быстро снизить содержание карбоксигемоглобина в крови. Выраженный эффект может быть получен при гипербарической оксигенации:

- 21% O_2 во вдыхаемом воздухе = 0,3 мл O_2 / 100 мл крови
- 100% O_2 во вдыхаемом воздухе = 2 мл O_2 / 100 мл крови
- 2 АТМ O_2 во вдыхаемом воздухе = 4,3 мл O_2 / 100 мл крови

Поскольку CO связывается не только с гемоглобином, но и с миоглобином сердечной мышцы, тканевыми цитохромами, полагают, что эффект Холдена справедлив и для этих рецепторов CO .

Реактиваторы холинэстеразы. Фосфорорганические соединения, к которым относятся некоторые боевые отравляющие вещества, инсектициды, лекарственные препараты, являются конкурентными ингибиторами холинэстераз. При легких интоксикациях этими веществами активность энзимов угнетена более чем на 50%, а при тяжелых - более, чем на 90%. Инактивация холинэстераз приводит к накоплению в крови и тканях отравленного ацетилхолина, который, действуя на холинорецепторы, нарушает нормальное проведение нервных импульсов в холинэргических синапсах. Взаимодействие ФОС с активным центром фермента проходит в два этапа. На первом (продолжительностью для разных ФОС от нескольких минут до часов) - образующийся комплекс обратим. На втором, он трансформируется в прочный необратимый комплекс ("старение" фосфорилированной холинэстеразы). Существуют вещества, в частности, содержащие оксимную группу в молекуле (рисунок 5), способные разрушать обратимый комплекс ФОС-энзим (первый этап взаимодействия), т.е. дефосфорилировать холинэстеразу. Оксимины, с успехом используемые в клинической практике оказания помощи отравленным ФОС: пралидоксим (2ПАМ), дипириксим (ТМБ-4), токсогонин (LuH6) и др., - получают название реактиваторов холинэстеразы. Эти препараты малоэффективны при интоксикациях веществами, вызывающими быстрое "старение" ингибированного энзима (зоман), и практически не эффективны при отравлении карбаматами - обратимыми ингибиторами холинэстеразы.

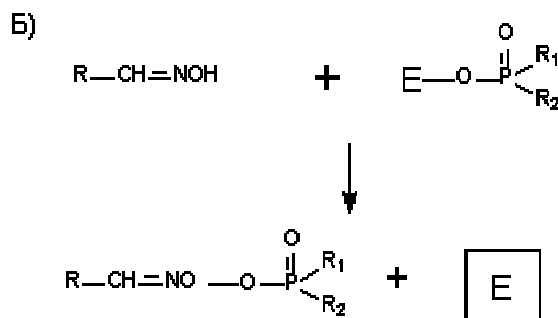
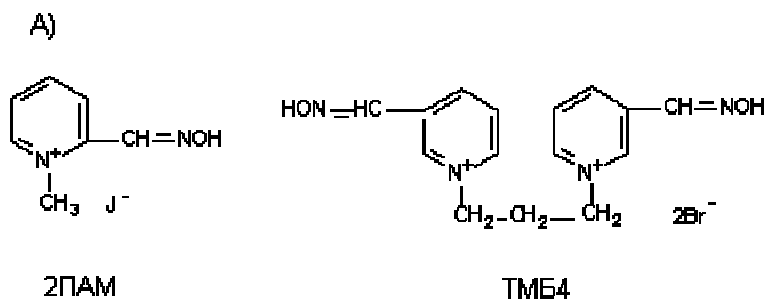


Рисунок 5. Структура некоторых реактиваторов холинэстеразы (А) и схема механизма их antidotalного действия (Б). Е - холинэстераза

По некоторым данным оксимы способны вступать в химическую реакцию со свободно циркулирующими в крови ФОС, а следовательно выступать и в качестве химических антагонистов токсикантов.

Обратимые ингибиторы холинэстеразы. С целью профилактики отравления ФОС, в конечном итоге необратимо связывающихся с холинэстеразой (см. выше), используют другую группу ингибиторов фермента, образующих с его активным центром обратимый комплекс. Эти вещества, относящиеся к классу карбаматов (рисунок 6), также являются высоко токсичными соединениями. Но при использовании с профилактической целью в рекомендуемых дозах (угнетение активности холинэстеразы на 50 - 60%) совместно с холинолитиками (см. ниже) они существенно повышают резистентность организма к ФОС. В основе защитного действия карбаматов лежит способность "экранировать" активный центр холинэстеразы (самим обратимым ингибитором и избыточным количеством субстрата - ацетилхолина, накапливающимся в синаптической щели) от необратимого взаимодействия с ФОС. В качестве компонентов защитных рецептур могут быть использованы такие вещества, как физостигмин, галантамин, пиридостигмин, аминостигмин и др. Наибольшей активностью обладают вещества, способные проникать через гематоэнцефалический барьер.

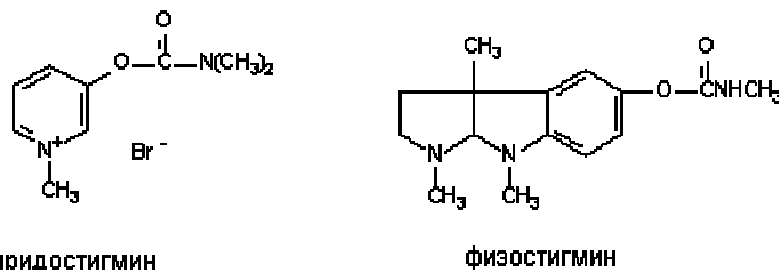


Рисунок 6. Структура обратимых ингибиторов холинэстеразы

Придоксин. При тяжелом остром отравлении гидразином и его производными в тканях резко снижается содержание пиридоксальфосфата. В основе эффекта лежит способность гидразина вступать во взаимодействие с альдегидной группой пиридоксали с образованием пиридоксальгипразона (рисунок 7).

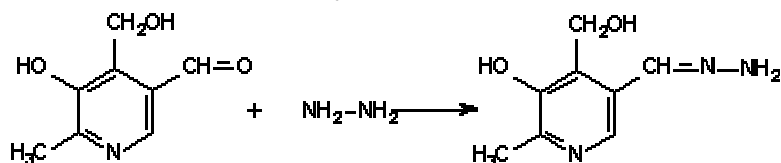


Рисунок 7. Схема взаимодействия пиридоксали с гидразином

Пиридоксальгидразон является конкурентным ингибитором пиридоксалькиназы, фермента, активирующего процесс фосфорилирования пиридоксали. Пиридоксальфосфат - кофактор более 20 энзимов, активность которых, при интоксикации гидразином, также существенно снижается. Среди них трансаминазы, декарбоксилазы аминокислот, аминоксидазы и др. Особенно страдает обмен ГАМК - тормозного нейромедиатора ЦНС. Придоксин - антагонист гидразина в действии на организм. При

введении в организм отравленного с лечебной целью, это вещество, превращаясь в пиридоксаль, может вытеснять пиридоксальгидразон из связи с пиридоксалькиназой, восстанавливая её активность. В итоге нормализуется содержание пиридоксальфосфата в тканях, устраняются многие неблагоприятные эффекты гидразина, в частности судорожный синдром.

Метиленовый синий. Еще одним примером биохимического антагониста является метиленовый синий, используемый при интоксикациях метгемоглобинообразователями. Этот препарат при внутривенном введении в форме 1% раствора увеличивает активность НАДН-зависимых метгемоглобинредуктаз и, тем самым, способствует понижению уровня метгемоглобина в крови отравленных. Необходимо помнить, что при введении в избытке метиленовый синий сам может стать причиной метгемоглобинообразования.

2.1.3. Физиологический антагонизм.

Механизм действия многих токсикантов связан со способностью нарушать проведение нервных импульсов в центральных и периферических синапсах (см. разделы "Механизм действия", "Нейротоксичность"). В конечном итоге, не смотря на особенности действия, это проявляется либо перевозбуждением либо блокадой постсинаптических рецепторов, стойкой гиперполяризацией или деполяризацией постсинаптических мембран, усилением или подавлением восприятия иннервируемыми структурами регулирующего сигнала. Вещества, оказывающие на синапсы, функция которых нарушается токсикантом, противоположное токсиканту действие, можно отнести к числу антидотов с физиологическим антагонизмом. Эти препараты не вступают с ядом в химическое взаимодействие, не вытесняют его из связи с ферментами. В основе антидотного эффекта лежат: непосредственное действие на постсинаптические рецепторы или изменение скорости оборота нейромедиатора в синапсе (ацетилхолина, ГАМК, серотонина и т.д.).

Впервые возможность использовать противоядия с таким механизмом действия была установлена Шмидебергом и Коппе (1869), выделившими из мухомора мускарин и показавшими, что эффекты алкалоида противоположны, вызываемым в организме атропином и, что атропин предупреждает и устраняет симптомы мускаринового отравления. Позже стало известно, что атропин ослабляет токсические эффекты, вызываемые также пилокарпином и физостигмином, а последний, в свою очередь, может ослабить эффекты, вызываемые токсическими дозами атропина. Эти открытия послужили основанием для становления учения о "физиологическом антагонизме ядов" и "физиологических противоядиях". Понятно, что специфичность физиологических антидотов ниже, чем у веществ с химическим и биохимическим антагонизмом. Практически любое соединение, возбуждающее проведение нервного импульса в синапсе, будет эффективно в той или иной степени при интоксикациях веществами, угнетающими проведение импульса, и наоборот. Так, холинолитики оказываются достаточно эффективными при отравлении большинством холиномиметиков, а холиномиметики, в свою очередь, могут быть использованы при отравлениях антихолинэргическими токсикантами. При этом твердо установлено: выраженность наблюдаемого антагонизма конкретной пары токсиканта и "противоядия" колеблется в широких пределах от очень значительной, до минимальной. Антагонизм никогда не бывает полным. Это обусловлено:

- гетерогенностью синаптических рецепторов, на которые воздействуют токсикант и противоядие;
- неодинаковым сродством и внутренней активностью веществ в отношении различных субпопуляций рецепторов;
- различиями в доступности синапсов (центральных и периферических) для токсикантов и противоядий;
- особенностями токсико- и фармакокинетики веществ.

Чем в большей степени в пространстве и времени совпадает действие токсиканта и антидота на биосистемы, тем выраженнее антагонизм между ними.

В качестве физиологических антидотов в настоящее время используют (рисунок 8):

- атропин и другие холинолитики при отравлениях фосфорорганическими соединениями (хлорофос, дихлофос, фосфакол, зарин, зоман и др.) и карбаматами (прозерин, байгон, диоксакарб и др.);
- галантамин, приридостигмин, аминостигмин (обратимые ингибиторы ХЭ) при отравлениях атропином, скополамином, ВЗ, дитраном и другими веществами с холинолитической активностью (в том числе трициклическими антидепрессантами и некоторыми нейролептиками);
- бензодиазепины, барбитураты при интоксикациях ГАМК-литиками (бикукуллин, норборнан, бициклофосфаты, пикртоксинин и др.);
- флюмазенил (антагонист ГАМК-бензодиазепиновых рецепторов) при интоксикациях бензодиазепинами;
- налоксон (конкурентный антагонист опиоидных μ -рецепторов) - антидот наркотических анальгетиков.

Механизмы действия физиологических антидотов определяются их фармакологической активностью (см. соответствующие разделы руководств по фармакологии). Однако дозы и схемы применения веществ в качестве антидотов порой существенно отличаются от рекомендуемых к применению при других видах патологии. Так, предельная суточная доза атропина для взрослого человека составляет 1 мг. При тяжелых интоксикациях ФОС препарат иногда приходится вводить длительно, внутривенно в суммарной дозе более 100 мг в сутки.

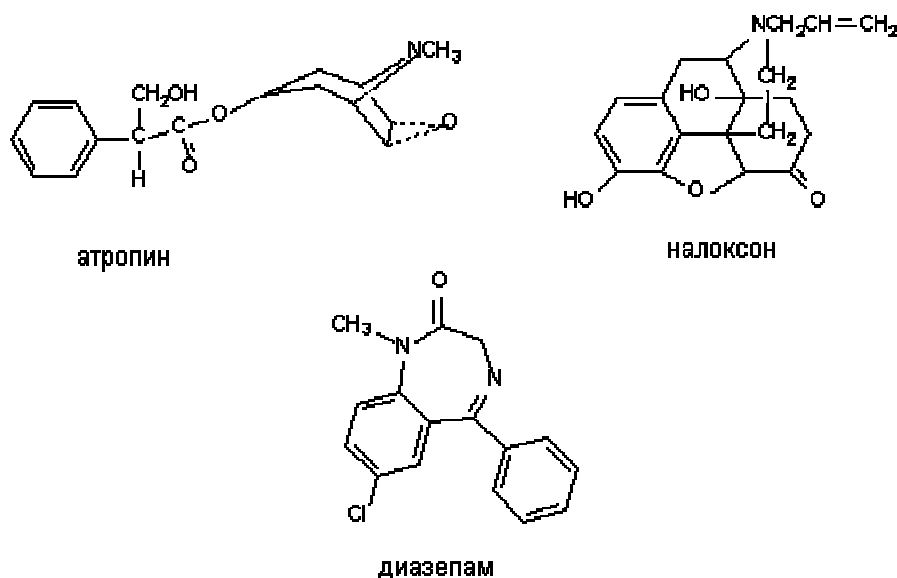


Рисунок 8. Структура некоторых противоядий

2.1.4. Противоядия, модифицирующие метаболизм ксенобиотиков.

Как известно многие ксенобиотики подвергаются в организме метаболическим превращениям. Как правило, это сопряжено с образованием продуктов, значительно отличающихся по токсичности от исходных веществ, как в сторону её уменьшения, так, порой, и в сторону увеличения. Ускорение метаболизма детоксицируемых ксенобиотиков и угнетение превращения веществ, подвергающихся биоактивации - один из возможных подходов к разработке противоядий. В качестве средств, модифицирующих метаболизм, могут быть применены препараты, изменяющие активность ферментов первой и второй фаз метаболизма: индукторы и ингибиторы микросомальных ферментов, активаторы процессов конъюгации, а также вещества, модифицирующие активность достаточно специфично действующих энзимов, и потому активных лишь при интоксикациях вполне конкретными веществами.

Используемые в практике оказания помощи отравленным препараты могут быть отнесены к одной из следующих групп:

А. Ускоряющие детоксикацию.

- тиосульфат натрия - применяется при отравлениях цианидами;
- бензанал и другие индукторы микросомальных ферментов - могут быть рекомендованы в качестве средств профилактики поражения фосфорорганическими отравляющими веществами;
- ацетилцистеин и другие предшественники глутатиона - используются в качестве лечебных антидотов при отравлениях дихлорэтаном, некоторыми другими хлорированными углеводородами, ацетаминофеном.

Б. Ингибиторы метаболизма.

- этиловый спирт, 4-метилпиразол - антидоты метанола, этиленгликоля.

Тиосульфат натрия. Установлено. Что одним из путей превращений цианидов в организме является образование роданистых соединений при взаимодействии с эндогенными серусодержащими веществами. Образующиеся роданиды, выделяющиеся из организма с мочой, примерно в 300 раз менее токсичны, чем цианиды.

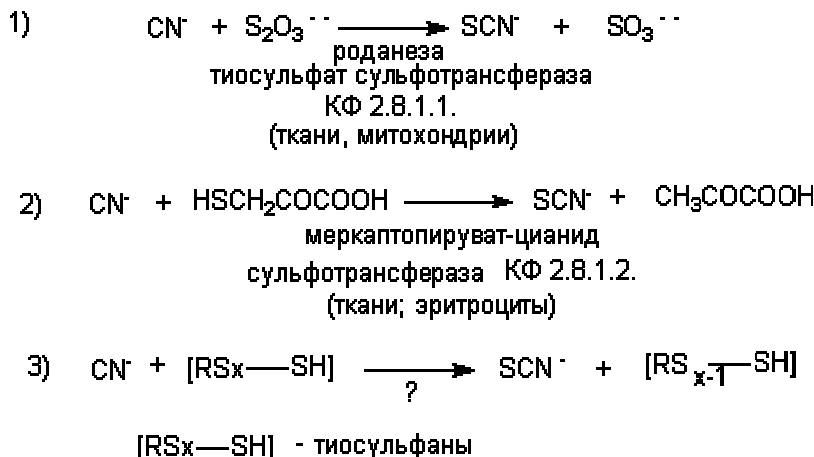
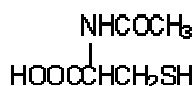


Рисунок 9. Предполагаемые механизмы образования роданистых соединений в организме отравленных цианидами

Истинный механизм образования роданистых соединений до конца не установлен (рисунок 9), но показано, что при введении тиосульфата натрия скорость процесса возрастает в 15 - 30 раз, что и является обоснованием целесообразности использования вещества в качестве дополнительного антидота (помимо препаратов, рассмотренных выше) при отравлениях цианидами.



Ацетилцистеин

Ацетилцистеин. Известно, что некоторые вещества метаболизируют с образованием реактивных промежуточных продуктов, взаимодействием которых с биомолекулами и обусловлено их токсическое действие. К числу таковых, в частности, относится ацетаминофен. Токсический процесс проявляется центростремительным некрозом клеток печени с последующим развитием фиброза. Установлено, что одним из механизмов связывания активных промежуточных продуктов вещества является взаимодействие с глутатионом и другими содержащими серу молекулами (рисунок 10). В этой связи для профилактики поражения печени при отравлении ацетаминофеном рекомендуют назначать предшественники глутатиона и отдельные тиолы, такие как L-цистеин, цистеамин и **ацетилцистеин**.

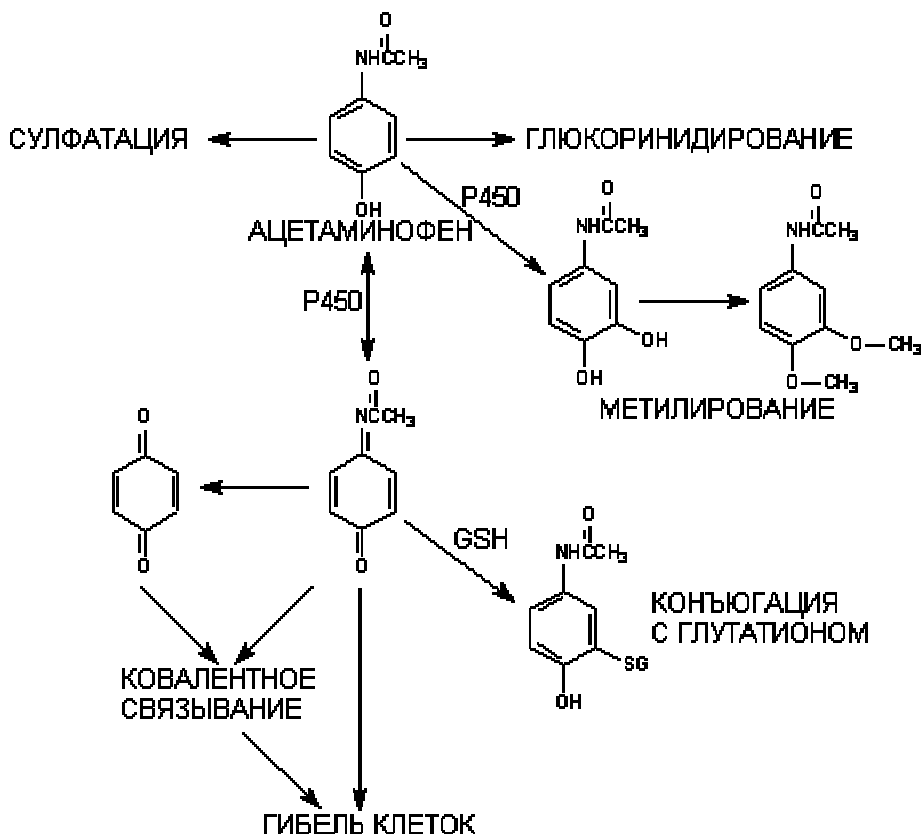


Рисунок 10. Схема метаболизма ацетаминофена

Этиловый спирт. 4-метилпиразол. В организме человека спирты, и, в частности, метиловый и этиленгликоль, под влиянием ферментов алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы превращаются в соответствующие альдегиды, а затем кислоты. Эти продукты метаболизма обладают относительно высокой токсичностью. Именно с их накоплением в организме отравленных связывают пагубные последствия интоксикации метанолом и этиленгликолем (рисунок 11)

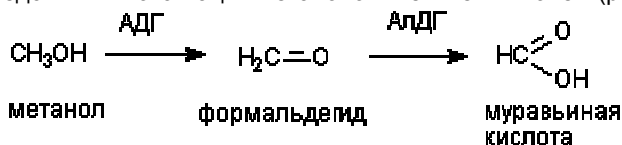


Рисунок 11. Схема метаболизма метилового спирта при участии алкогольдегидрогеназы (АДГ) и альдегиддегидрогеназы (АлДГ)

С целью предупреждения образования в органах и тканях токсичных продуктов метаболизма спиртов рекомендуют применение либо ингибиторов АДГ (4-метилпиразол) либо этилового спирта, имеющего большее сродство к ферментам, чем токсичные спирты, и образующего в ходе биопревращения продукты, усваиваемые тканями (ацетат-ион).

2.2. Применение противоядий

Поскольку любой антидот это такое же химическое вещество, как и токсикант, против которого его применяют, как правило, не обладающее полным антагонизмом с токсикантом, несвоевременное введение, неверная доза противоядия и некорректная схема могут самым пагубным образом сказаться на состоянии пострадавшего. Попытки корректировать рекомендуемые способы применения антидотов ориентируясь на состояние пострадавшего у его постели допустимы только для высококвалифицированного специалиста, имеющего большой опыт использования конкретного противоядия. Наиболее частая ошибка, связанная с применением антидотов, обусловлена попыткой усилить их эффективность, повышая вводимую дозу. Такой

подход возможен лишь при применении некоторых физиологических антагонистов, но и здесь имеются жесткие ограничения, лимитируемые переносимостью препарата. В реальных условиях, как и для многих других этиотропных препаратов, схема применения антидотов предварительно отработывается в эксперименте, и лишь затем рекомендуется практическому здравоохранению. Отработка правильной схемы применения препарата является важнейшим элементом разработки и выбора эффективного противоядия. Поскольку некоторые виды интоксикации встречаются нечасто, порой проходит продолжительное время перед тем, как в условиях клиники удастся окончательно сформировать оптимальную стратегию использования средства.

Лекарственные формы и схемы применения основных противоядий представлены в таблице 5.

Таблица 5. Лекарственные формы и схемы применения некоторых противоядий

АНТИДОТЫ	ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА. СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ
амилнитрит, пропилнитрит	ампулы по 0,5 мл для ингаляции. Отравление цианидами
антициан	ампулы по 1,0 мл 20% раствора; внутривенно по 0,75 мл внутримышечно. Отравление цианидами
атропина сульфат	ампулы по 1,0 мл 0,1% раствора; внутривенно, внутримышечно. При интоксикациях ФОС первоначальная доза 2 - 8 мг, затем по 2 мг через каждые 15 мин до явлений переатропинизации. Отравление ФОС, карбаматами
десфериоксамин (десферал)	порошок 500 мг во флаконе для приготовления раствора для инъекций. При тяжелом отравлении солями железа вводят 15 мг/кг/ч внутривенно
дигоксин-специфичные антитела FAB-	порошок во флаконах. Содержимое одного флакона связывает 0,6 мг дигоксина.
дипироским	ампулы по 1,0 мл 15% раствора, внутримышечно, внутривенно. Можно повторять введение каждые 3 - 4 часа, либо обеспечить постоянную внутривенную инфузию 250 - 400 мг/ч. Отравление ФОС
дициболтовая соль ЭДТА	ампулы по 20 мл 1,5% раствора внутривенно, капельно медленно. Отравление цианидами
димеркапрол (БАЛ)	ампулы по 3 мл 10% раствора. Вводить 3 - 5 мг/кг каждые 4 часа внутримышечно в течение 2 дней, затем 2 - 3 мг/кг каждые 6 часов в течение 7 дней. Отравления мышьяком, свинцом, ртутью
метиленовый синий	ампулы по 20 мл или флаконы по 50 - 100 мл 1% раствора в 25% растворе глюкозы ("хромосмон"). При отравлениях цианидами, метгемоглобинообразователями (анилин, нитриты, нитробензол и т.д.)
налоксон	ампулы по 1,0 мл 0,1% раствора. Начальная доза 1 - 2 мг внутривенно, внутримышечно, подкожно. Назначать повторно при рецидивах проявлений отравлений наркотическими анальгетиками
натрия нитрит	ампулы по 10 - 20 мл 2% раствора, внутривенно, капельно. Отравление цианидами
натрия тиосульфат	ампулы по 10 - 20 мл 30% раствора, внутривенно. Отравления цианидами, соединениями ртути, мышьяка, метгемоглобинообразователями
пенициламин	капсулы по 125 - 250 мг, таблетки по 250 мг. Вводить по 1 г в сутки, разделив на 4 дозы. Внутрь перед едой. Интоксикации свинцом, мышьяком
пиридоксин гидрохлорид	ампулы по 3 - 5 мл 5% раствора, внутримышечно, внутривенно при интоксикациях гидразином
пращидоксим (2-ПАМ)	постоянная внутривенная инфузия 250 - 400 мг/ч. Интоксикация ФОС
тетацин-кальций (ДТПА)	ампулы по 20 мл 10% раствора, внутривенно капельно в 5% растворе глюкозы. Отравления ртутью, мышьяком, свинцом
унитиол	ампулы по 5 мл 5% раствора, внутримышечно по 1 мл на 10 кг массы тела каждые 4 часа первые 2 дня, каждые 6 часов последующие 7 дней. Отравления мышьяком, ртутью, люизитом
физостигмин	раствор 1 мг/мл для внутримышечных или внутривенных инъекций. Начальная доза 1 мг. Назначать повторно при рецидивах проявлений отравлений М-холинолитическими препаратами
флумазенил	ампулы по 500 мкг в 5 мл. Начальная доза 0,2 мг внутривенно. Дозу повторяют до восстановления сознания (максимальная суммарная доза - 3 мг). Отравления бензодиазепинами. Не вводить пациентам с судорожным синдромом и при передозировке трициклических антидепрессантов!
этанол	начальная доза рассчитывается на достижение уровня этанола в крови не менее 100 мг/100 мл (42 г/70 кг) - в виде 30% раствор внутрь по 50 - 100 мл; в виде 5% раствора внутривенно. Отравления метанолом, этиленгликолем
ЭДТА-Са	вводить 50 - 75 мг/кг/сут внутримышечно или внутривенно за 3 - 6 приемов в течение 5 дней; после перерыва повторить курс. Отравления свинцом, другими металлами

3. Разработка новых антидотов.

Поводом для создания эффективного противоядия является либо случайное обнаружение факта антагонизма веществ, либо целенаправленное и глубокое изучение механизмов действия токсиканта, особенностей его токсикокинетики и установление на этой основе возможности химической модификации токсичности. В любом случае, пока не найден относительно активный антагонист, процесс разработки антидотов идет сложно.

После выявления антагониста начинается планирование и проведение целенаправленных, порой длительных исследований по выбору из большого числа аналогов исходного вещества таких средств, которые в наибольшей степени соответствуют требованиям:

- высокая эффективность,
- хорошая переносимость,
- дешевизна.

Примером подобного подхода является разработка антидотов мышьяка и мышьякорганических соединений. Первым в ряду препаратов этой группы был димеркаптопропанол (БАЛ - британский антилюизит) вещество, разработанное группой Томпсона в годы 2й Мировой войны в Великобритании. Вещество представляет собой жирорастворимый хелатирующий дитиол, достаточно токсичный, но активно связывающий мышьяк, входящий в структуру отравляющего вещества люизита. Введенные в практику позже 2,3-димеркаптосукцинат и димеркаптопропансульфоновая кислота также содержат в молекуле дисульфидные группы, однако они являются более растворимыми в воде (следовательно, более удобными для применения) и менее токсичными соединениями. Сама идея использовать дитиолы в качестве антидотов мышьяксодержащих веществ родилась из представлений о механизмах действия люизита, а именно его способности взаимодействовать с дисульфидными группами биологических молекул.

3.1. Оценка эффективности.

Оценка эффективности средств, рассматриваемых как потенциальные антидоты, может быть проведена в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

3.1.1. Опыты *in vitro*

Некоторые свойства антидотов могут быть оценены *in vitro*. Особенно это касается препаратов, в основе действия которых лежит химический и биохимический антагонизм.

Так, в опытах с простыми биологическими объектами (простейшие, примитивные ракообразные, культуры клеток и т.д.) удастся провести скрининг эффективности хелатирующих агентов в отношении тех или иных металлов. На первый взгляд антидотную активность этих препаратов можно прогнозировать и на основе теоретических представлений об образовании соответствующей координационной связи, анализа величин констант стабильности комплекса хелатор-металл. Однако, как указывают Jokel, Kostenbauder, эффективность комплексообразователя определяется помимо сродства к металлу, еще и растворимостью его в воде, липофильностью и способностью накапливаться в сайтах клетки, где аккумулируются металлы, некоторыми другими особенностями взаимодействия комплексона с биосистемами. В этой связи опыты с простыми биологическими объектами могут быть важным элементом предварительной оценки препаратов перед детальным обследованием *in vivo*.

Активность некоторых антидотов связана с ингибиторным действием на ферменты. В этой связи возникает возможность провести скрининг веществ, анализируя их ингибиторные свойства. Таким образом, можно, в частности, оценить эффективность обратимых ингибиторов холинэстеразы (ХЭ), как потенциальных компонентов профилактических антидотных рецептур при поражениях ФОС или лечебных антидотов при отравлении холинолитиками. Полезные исследования могут быть проведены *in vitro* для оценки эффективности реактиваторов холинэстеразы. В подобных опытах изучается кинетика восстановления активности энзимов, угнетенных различными ФОС. Именно в таких опытах удалось установить феномен двухфазности в действии ФОС на энзим, определить характеристики скорости "старения" и спонтанной (самопроизвольной) реактивации ХЭ, выбрать эффективные препараты для использования в клинике. Преимущество таких исследований состоит не только в простоте получения большого количества важных данных, но и возможности работать с ацетилхолинэстеразой человека, что упрощает процесс экстраполяции экспериментальных данных на условия клинической практики.

Для характеристики антидотов с физиологическим антагонизмом опыты *in vitro* не всегда информативны. Однако в ряде случаев эффективные антагонисты токсиканта могут быть найдены в опытах с изолированными органами, содержащими рецепторы к тем или иным нейромедиаторам. Такого рода эксперименты широко проводились при оценке холинолитиков, как потенциальных антидотов фосфорорганических отравляющих веществ.

Важные данные при характеристике антидотов, конкурирующих с токсикантами за взаимодействие с биорецепторами, могут быть получены *in vitro* с помощью радиолигандных методов исследования.

Однако опыты *in vitro* не могут дать исчерпывающей информации о потенциальной активности изучаемых средств. Так, известно, что метгемоглобинообразователи вызывают эффект как непосредственно действуя на гемоглобин (фенилгидроксилламин, 4-аминофенол, 4-диметиламинофенол и др.), так и после соответствующих метаболических превращений в организме (анилин). В этой связи простое сравнение кинетики *in vitro* метгемоглобинообразования вызываемого например 4-диметиламинофенолом и веществом типа анилина не даст объективной информации о соотношении эффективности этих соединений как антидотов при отравлении цианидами.

Особенно очевидны ограничения метода при попытке сравнивать эффективность средств с различным механизмом действия.

3.1.2. Опыты *in vivo*.

Перед внедрением антидота в клиническую практику необходимо доказать его эффективность в опытах *in vivo*. Именно в экспериментах на лабораторных животных можно четко определить условия взаимодействия токсиканта и противоядия, выбрать оптимальные дозы, учесть временные особенности развития интоксикации и, тем самым, получить количественные характеристики ожидаемого антидотного

эффекта. Исследование эффективности - типичный научный эксперимент, который необходимо планировать таким образом, чтобы получить максимальное количество нужной информации с минимальной затратой средств. Данные должны быть достоверными, а для этого - количество животных в группах - достаточным. Выбор животных должен быть тщательно продуман с учетом знаний видовых особенностей биологического объекта. Необходимо чтобы эффекты токсиканта и механизмы действия антидота были одинаковы у экспериментального животного и человека. Следует стремиться к тому, чтобы последовательность поступления токсиканта и антидота в организм имитировали ситуацию, ожидаемую в реальных условиях использования противоядия на практике. Типовой вариант протокола изучения эффективности антидотов представлен в таблице 6.

Таблица 6. Типовой протокол эксперимента изучения эффективности антидота

Животные	-вид, линия, пол -число -контроли
Токсикант	-доза -способ введения -растворитель, разбавитель, эмульгатор -концентрация -стабильность -объем
Антидот	-доза -способ введения -растворитель, разбавитель, эмульгатор -концентрация -стабильность -объем
Временной фактор	-последовательность введения яд - антидот -время между введениями -схема введения
Показатель активности	-смерть -биохимические признаки токсического процесса -гематологические признаки токсического процесса -физиологические реакции -поведенческие реакции -нейротоксичность -патологоанатомические изменения

Токсикант. Важным фактором, влияющим на замысел эксперимента, является доза токсиканта, условия его введения. Возможно испытание эффективности противоядия в условиях введения фиксированной дозы яда, либо путем определения характеристик зависимости "доза-эффект" (например ЛД₅₀) у интактных и леченых антидотом животных, с последующим сравнением величин (например, расчет коэффициента защиты). Преимущество второго подхода состоит в том, что полученный результат основывается на большой выборке данных и носит однозначный характер. Недостаток метода - необходимость использовать большое количество животных в эксперименте. Поэтому опыты проводят, как правило, на мелких грызунах. Напротив, опыты с фиксированной дозой выполняют на ограниченном количестве высокоорганизованных крупных животных.

Методика определения параметров зависимости "доза-эффект" не отличаются от описанной в разделе "Токсикометрия". Сложности могут возникнуть при интерпретации получаемых результатов. Одна из таких сложностей связана с неодинаковым углом наклона экспериментальных прямых токсичности в координатах "логарифм дозы - пробит летальности" интактных и защищенных антидотом животных (рисунок 12).

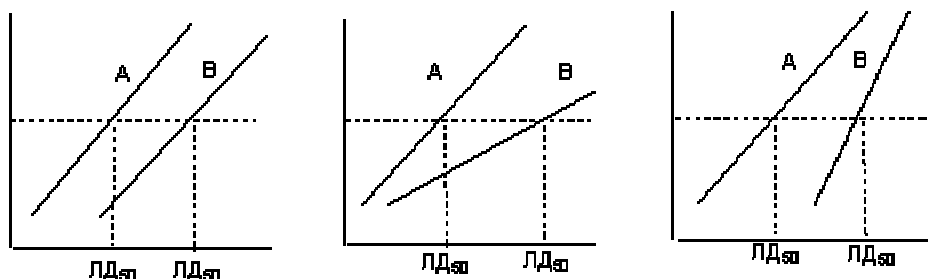


Рисунок 12. Варианты сдвига кривой зависимости доза-эффект токсиканта (А) при его введении животным, леченым антидотом (В).

В данном случае необходимо помнить, что коэффициент защиты, определяемый, как отношение LD_{50}^*/LD_{50} (где LD_{50}^* - среднесмертельная доза у защищенных антидотом животных), характеризует эффективность антидота только в одной точке (LD_{50}). Поскольку исследователя интересует эффективность

препарата и при других действующих дозах токсиканта, коэффициент защиты может стать источником либо завышенных, либо заниженных данных, в зависимости от направления расхождения кривых доза-эффект и условий интоксикации (большие или малые дозы воздействия).

Простой способ обойти проблему состоит в нахождении еще одной характеристики эффективности антидота по соотношению величин LD_{10}^*/LD_{90} (LD_{10}^* - величина, определенная у защищенных животных). Если это отношение больше 1, эффективность антидота признается удовлетворительной (возможны и другие подходы).

Как уже указывалось, коэффициент защиты обычно не определяют в опытах на крупных животных. В подобных случаях используют метод при котором одну фиксированную дозу токсиканта вводят как интактным, так и защищаемым антидотом животным. Обычно дозу выбирают с учётом знания величины LD_{50} (1, 2, 3 и более ЛД) и предполагаемой эффективности антидота. Основная сложность эксперимента состоит в том, чтобы подобрать такую дозу токсиканта, при которой отмечалась бы максимально возможная летальность в контрольной группе животных, но одновременно отчетливо выявлялся защитный эффект противоядия (если он имеется). Для научной верификации получаемых результатов разработаны параметрические и непараметрические методы статистического анализа данных. Подобный подход широко используется в токсикологии особенно на заключительных этапах оценки эффективности разрабатываемого средства.

Антидот. Выбор дозы разрабатываемого антидота осуществляется, как правило, эмпирически. На ранних этапах исследования его эффективность оценивается при введении животным в нескольких дозах. В этих опытах и вырабатываются оптимальные схемы, которые в дальнейшем корректируются результатами исследований переносимости препарата. На заключительных этапах оценивается эффективность рекомендуемой схемы (дозы). Способ введения противоядия при его экспериментальном изучении должен соответствовать способу применения в клинической практике.

Важной характеристикой препаратов является стабильность их лекарственных форм. Нестабильные при хранении препараты, не смотря на их порой высокую эффективность, не могут найти широкое применение в практике. По этой причине не получил широкого распространения высокоэффективный реактиватор холинэстеразы HI-6.

Временной фактор. Важным фактором, влияющим на эффективность антидотов, является временной промежуток между началом его введения и моментом действия токсиканта (см. понятия "комбинация", "сукцессия"; раздел "Коергизм"). Это особенно важно в случае интоксикации быстродействующими веществами, такими как цианиды, фосфорорганические соединения и т.д. Поэтому при испытаниях разрабатываемого противоядия его необходимо вводить с учетом временного фактора. В ходе испытаний противоядия могут быть назначены до введения токсиканта, через определенное время после токсиканта, либо при появлении первых признаков интоксикации.

Антидоты, назначаемые до контакта с токсикантом, называются профилактическими. Такие средства нашли применение в военной медицине. В частности разработаны профилактические антидоты ФОВ (см. выше). Их применение с лечебной целью недопустимо. Противоядия, применяемые после воздействия токсиканта, называются лечебными. К числу лечебных относится подавляющее большинство существующих антидотов. Условия испытания эффективности противоядия должны соответствовать условиям, на которые рассчитано его применение в реальной обстановке.

Показатель активности. В большинстве исследований эффективность антидота оценивают по его влиянию на выживаемость экспериментальных животных, отравленных токсикантом (см. выше).

Другим критерием эффективности нередко служит продолжительность жизни отравленного лабораторного животного. Существенное увеличение показателя свидетельствует в пользу эффективности испытываемого средства.

Вполне допустимо применение целого арсенала других методических приемов (биохимические, физиологические, морфологические методы исследования) для оценки эффективности противоядия. Необходимо учитывать, что при отравлении многими веществами не удастся создать противоядия, защищающие от смертельных доз, однако вполне возможна разработка антидотов, существенно облегчающих течение несмертельного поражения, сокращающих сроки госпитализации, уменьшающих вероятность развития осложнений и инвалидизации отравленных, существенно повышающих эффективность других средств и методов терапии отравлений. В этих случаях использование прецизионных методов оценки функционального состояния экспериментальных животных совершенно необходимо. При выборе биохимических и физиологических методов следует учитывать механизм токсического действия яда, особенности патогенеза интоксикации, ибо в этом случае получаемые результаты будут представлять особый интерес. Так, уровень метгемоглобина при отравлении метгемоглобинообразователями, ацидоза при отравлении метанолом, активности холинэстеразы при отравлении карбаматами и ФОС, количество эритроцитов в крови при отравлении гемолизаторами и т.д., - позволят сделать обоснованное заключение об эффективности антидотов соответствующих веществ. Часто для целей оценки эффективности антидотов используют классические инструментальные методы исследований: показатели АД, ЭКГ, ЭЭГ, миографию, скорость проведения нервного импульса по нервному волокну, частоту дыхания и т.д.

Если токсикант вызывает специфические морфологические изменения в органах и тканях, ценная информация может быть получена при использовании макроскопических и микроскопических методов исследований.

Еще одним подходом к оценке разрабатываемого средства может быть изучение поведения лабораторных животных. Этот подход оказывается особенно ценным при разработке противоядий, препятствующих развитию психодислептических эффектов токсикантов, либо предназначенных для профилактики неблагоприятных последствий интоксикаций, связанных с нарушением функций ЦНС.

При оценки антидотов, вступающих в химическое взаимодействие с токсикантами (например, новые комплексообразователи) или влияющих на их метаболизм (например, индукторы микросомальных ферментов), объективными показателями их активности могут стать показатели токсикокинетики яда: период полувыведения, величина клиаренса, объем распределения, содержание метаболитов в крови, моче. Данные, свидетельствующие об ускорении элиминации веществ или угнетении образования токсичных метаболитов, являются свидетельствами эффективности разрабатываемых противоядий.

3.2. Создание комплексных антидотных рецептур

В некоторых случаях к разрабатываемым антидотам предъявляются особо жесткие требования. Так, антидоты боевых отравляющих веществ должны обладать не только высокой эффективностью, но прекрасной переносимостью, поскольку препараты выдаются на руки бойцам, и четкий контроль за правильностью их использования организовать весьма затруднительно. Один из путей решения поставленной задачи - создание антидотных рецептур. В состав таких рецептур включают препараты - антагонисты действия токсиканта на разные подтипы структур-мишеней, вещества с различными механизмами антагонизма, а иногда и средства коррекции неблагоприятных эффектов антагонистов. За счет этого удастся значительно снизить дозы препаратов, входящих в рецептуру, повысит терапевтическую широту (переносимость) антидота. По такому принципу разрабатываются антидоты ФОВ. Так, в состав профилактических рецептур входят вещества с биохимическим и физиологическим антагонизмом: обратимые ингибиторы холинэстеразы и холинолитики; в состав антидота само- и взаимопомощи вводят несколько холинолитиков, "прикрывающих" различные типы холинорецепторов, и реактиваторы холинэстеразы.

При разработке рецептур сталкиваются с дополнительными трудностями. Входящие в рецептуру препараты должны быть химически совместимы и иметь близкие токсикокинетические характеристики (период полужизни и т.д.).

3.3. Внедрение новых антидотов в практику

Перед внедрением новых средств в клиническую практику следует провести их детальное сравнение с существующими. Показателями сравнения являются: эффективность, переносимость, удобство использования, сроки хранения, стоимость. Только значительные преимущества нового средства над имеющимся, являются поводом для внедрения его в производство.

Порядок проведения исследований на переносимость, организация и проведение клинических испытаний новых антидотов осуществляется по общим правилам, в соответствии с которыми, оцениваются все разрабатываемые лекарственные средства.

3.4. Перспективы

К настоящему времени изучены токсикометрические, токсикокинетические и токсикодинамические характеристики десятков тысяч ксенобиотиков. Токсикологами постоянно "отслеживается" роль химических веществ, как причин острых интоксикаций среди населения. Накопленные данные позволяют формулировать прогноз, относительно перспектив разработки новых противоядий.

1. Противоядия **могут быть** разработаны лишь для ограниченного количества ксенобиотиков.

Во-первых, маловероятна разработка лечебных антидотов в отношении токсикантов, в основе механизма действия которых лежит альтерация биологических систем (например, денатурация макромолекул, разрушение биологических мембран) и образование прочных ковалентных связей с биомолекулами (например, действие алкилирующих агентов на белки и нуклеиновые кислоты). Сроки, в течение которых антагонисты подобных веществ оказываются эффективными, крайне непродолжительны и ограничены временем, необходимым для взаимодействия токсиканта с молекулами-мишенями (минуты).

Во-вторых, антидоты к малотоксичным (но порой весьма опасным) токсикантам редко оказываются достаточно эффективными. Установлено, что чем менее токсично вещество, тем менее специфично его действие, тем больше механизмов, посредством которых оно иницирует развитие токсического процесса. Поскольку антагонизм веществ никогда не бывает абсолютным (см. выше) и, как правило, развивается по вполне конкретному механизму, антидоты к малотоксичным веществам в большинстве случаев способны "прикрыть" лишь один, из многочисленных механизмов действия яда и потому не обеспечивают надлежащей защиты организма. Подавляющее большинство химических веществ относится к числу малотоксичных.

2. Противоядия **следует** разрабатывать лишь для ограниченного количества ксенобиотиков и вполне конкретным условиям оказания помощи.

Известно более 10 миллионов химических соединений, большая часть которых теоретически может стать причиной острых отравлений. Уже одно количество потенциальных токсикантов показывает, насколько нереалистичной является постановка задачи на разработку антидотов к любому из них. И действительно, такая задача не корректна ни с теоретической, ни с практической точки зрения.

Вместе с тем, антидот требуется всегда, когда помощь должна быть оказана быстро и большому количеству пострадавших, когда нет возможности сделать это в условиях хорошо оснащенной, специализированной клиники. Критериями, позволяющими определить вещества, разработка антидотов к которым имеет смысл в современных условиях, могут быть:

- потенциальная возможность применения токсиканта с военными и полицейскими целями;
- большие масштабы производства и высокая вероятность формирования массовых поражений людей при авариях и катастрофах;
- высокая токсичность ксенобиотика, в сочетании с обратимостью действия на системы-мишени;
- установленные механизмы токсического действия, позволяющие предполагать возможность разработки противоядия;
- наличие данных о существовании веществ-антагонистов.

РАЗДЕЛ 6. СПЕЦИАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

ГЛАВА 6.1. ИММУНОТОКСИЧНОСТЬ

Иммунотоксичность следует рассматривать в двух аспектах: как собственно повреждающее действие веществ на иммунную систему и как участие иммунной системы в реализации механизмов токсического действия ксенобиотиков. Первый аспект прослеживается, например, в явлении снижения резистентности организма, подвергнувшегося действию токсиканта, к инфекции; второй - превалирует в феномене сенсибилизации кожных покровов, дыхательных путей и т.д. к химическим веществам (см. разделы "Дерматотоксичность", "Пульмотоксичность"). Оба аспекта неразрывно связаны между собой.

Иммунная система включает кровеносное русло и лимфатические сосуды, пронизывающие все ткани организма, по которым перемещаются мириады иммунокомпетентных клеток. Функция системы - выявить чужеродные элементы (антигены), проникшие во внутренние среды, изолировать их и уничтожить. Это реализуется в несколько этапов:

- а) накопление чужеродных элементов в лимфоидной ткани;
- б) прохождение иммунокомпетентных клеток через лимфоидные структуры и их трансформация в антиген-специфичные за счет контакта с чужеродными элементами (антигенами);
- в) диссеминация продуктов иммунологической трансформации (антиген-специфичных клеток и гуморальных факторов иммунитета) в крови и тканях;
- г) взаимодействие продуктов трансформации с антигеном;
- д) манифестация процесса, который может быть местным и общим, острым и хроническим, обратимым и необратимым, отчетливо проявляющимся и скрытым.

Иммунная система является высоко специализированной, сложно регулируемой системой, её клеточные элементы находятся в состоянии постоянной пролиферации. В этой связи любое токсическое воздействие обязательно амплифицируется. При этом повреждение иммунной системы может проявляться усилением или супрессией иммунных функций организма, либо вообще не проявляться клинически. Подавление иммунитета приводит к учащению инфекционных заболеваний, ослаблению механизмов противоопухолевой защиты организма. Усиление иммунного ответа приводит к формированию аутоиммунных процессов, аллергизации организма или патологической гиперчувствительности к определенным антигенам.

Огромное количество веществ обладает иммунотоксичностью. Полагают, что практически любая интоксикация в той или иной степени может стать причиной нарушения иммунного статуса организма. Однако к числу иммунотоксикантов, т.е. веществ, нарушающих иммунные реакции организма, действуя в минимальных дозах, можно отнести лишь ограниченное количество соединений. Перечень иммунотоксикантов, достаточно широко используемых в хозяйственной деятельности, представлен в таблице 1.

Таблица 1. Перечень наиболее известных промышленных токсикантов, обладающих выраженной иммунотоксичностью

Бериллий
Платина
Хром
Кадмий
Никель
Этиленоксид
Формальдегид
Полигалогенированные ароматические углеводороды
ДДТ
Диэльдрил
Карбарил
2,3,7,8-тетрахлордибензофуран
2,3,7,8-тетрахлордибенз-р-диоксин
Метилртуть
Оловоорганические соединения
Эпоксидные смолы
Изоцианаты
Эфиры гликоля

Для выявления действия веществ на иммунную систему разработаны многочисленные методы исследования, выполняемые *in vivo* и *in vitro*. Иммунные клетки легко изолировать, а их функции изучить *in vitro*. Антитела также легко выделить и их количество оценить. Информация об иммунотоксичности веществ может быть использована для оценки риска, которому подвергаются лица, контактирующие с ними.

1. Краткая характеристика морфологических и функциональных особенностей иммунной системы млекопитающих

1.1. Иммунокомпетентные клетки

Центральное место в иммунных реакциях организма принадлежит лимфоцитам (рисунок 1). Лимфоциты распознают специфические антигены или антигенные детерминанты. Их обозначают также как антиген-чувствительные или иммунокомпетентные клетки. Предшественниками лимфоцитов, как и других клеток крови, являются стволовые клетки костного мозга. В эмбриональном периоде, а у некоторых животных и на протяжении всей жизни, предшественники лимфоцитов покидают костный мозг и заселяют первичные лимфоидные органы (тимус, фетальная печень). В тимусе осуществляется пролиферация и дифференциация иммунокомпетентных клеток. Лимфоциты, возникшие в результате пролиферации клеток в тимусе, называются тимоцитами. Часть тимоцитов отмирает, часть - оккупирует вторичные лимфоидные

органы (селезёнку, лимфатические узлы, лимфоэпителиальную ткань, ассоциированную с кишечником - миндалины, пейеровы бляшки, аппендикс). Эти клетки обозначаются как тимус-зависимые лимфоциты или Т-лимфоциты. В ходе превращения стволовых клеток в тимоциты, последние приобретают поверхностные антигены (мембранные антигены), которые отличают их от других клеток. С помощью специальных иммунных сывороток, специфичных в отношении различных поверхностных антигенов, можно отличить тимоциты от других популяций лимфоцитов. При трансформации тимоцитов в Т-лимфоциты происходит уменьшение количества этих поверхностных антигенов в пользу иммуноглобулинов (рецепторы антигенов) и H2-трансплантационных антигенов (соответствует HLA-системе человека). Т-лимфоциты играют важную роль, как в механизмах клеточного (клетки киллеры), так и гуморального (клетки хелперы, клетки супрессоры, лимфокин-секретирующие клетки) иммунитета. Содержание Т-хелперов и Т-супрессоров в периферической крови можно определить, используя коммерческие препараты моноклональных антител. Т-хелперы (50 - 60% популяции Т-лимфоцитов) имеют рецептор для IgM и интерлейкина-2. На поверхности клеточной мембраны Т-супрессоров (25 -35% популяции Т-лимфоцитов) локализованы рецепторы IgG и интерлейкина-3. В норме соотношение хелперов и супрессоров составляет 1,8 - 2,2.

Помимо упомянутой, существует популяция тимуснезависимых лимфоцитов (В-лимфоциты). Хотя вопрос окончательно не решён, полагают, что в организме млекопитающих клетки зарождаются непосредственно в костном мозгу, а затем разносятся по вторичным лимфоидным органам. В сравнении с Т-лимфоцитами, В-лимфоциты несут на поверхности клеточной мембраны значительно большее количество рецепторов к антигенам (иммуноглобулины), а также рецепторы, регулирующие дифференциацию клетки. Основная функция В-лимфоцитов - синтез специальных белков - антител (иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE; см. таблицу 2).

Таблица 2. Некоторые свойства иммуноглобулинов человека

Свойства	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Молекулярная масса	160000	900000	170000	180000	200000
Содержание в молекуле углеводов (%)	3	12	8	-	11
Концентрация в плазме	800-1800	60-280	90-450	0,3-40	0,006-0,1
Период полуразрушения в крови (сутки)	21	5,1	5,8	2,8	2,3

В отличие от пролиферации лимфоцитов в первичном лимфоидном органе, их пролиферация во вторичных органах зависит от стимуляции процесса антигенами, попадающими в организм.

Помимо лимфоцитов, важнейшим элементом иммунной системы являются фагоцитирующие клетки (макрофаги и микрофаги) (таблица 3).

Таблица 3. Фагоцитирующие клетки

Микрофаги	Макрофаги
Полиморфоядерные нейтрофильные лейкоциты Эозинофильные лейкоциты	Гистиоциты (соединительная ткань) Моноциты (кровь) Микроглия (ЦНС) Ретикулярные клетки (лимфатические узлы, костный мозг) Эндотелиальные клетки кровеносных синусов (селезенка, печень)

Значительная роль в иммунном ответе принадлежит макрофагам, мононуклеарным клеточным элементам, способным к фагоцитозу. Совокупность макрофагов образует ретикулоэндотелиальную систему, хотя отдельные группы клеток существенно различаются, как по структурным, так и по функциональным особенностям. Макрофаги захватывают антиген и перерабатывают его. Иногда антиген концентрируется на поверхности клеток, что также имеет большое значение для формирования иммунной реакции. Облигатные макрофаги (главным образом моноциты) несут на своей поверхности рецепторы для иммуноглобулинов и комплемента. Прикрепление чужеродной субстанции к клеточной поверхности осуществляется как с помощью этих рецепторов, так и без их участия. Факультативные фагоциты (фибробласты, эндотелиальные клетки, ретикулярные клетки) лишь в незначительной степени участвуют в захвате антигена, причем без участия в процессе иммуноглобулинов и комплемента. На поверхности этих клеток отсутствуют соответствующие рецепторы.

Важная роль в иммунных процессах отводится микрофагам и особенно нейтрофилам. Основными функциями этих клеток являются хемотаксис, стимуляция макрофагов, регуляция лимфопоэза и функционального состояния лимфоцитов, фагоцитоз, уничтожение фагоцитированных антигенов.

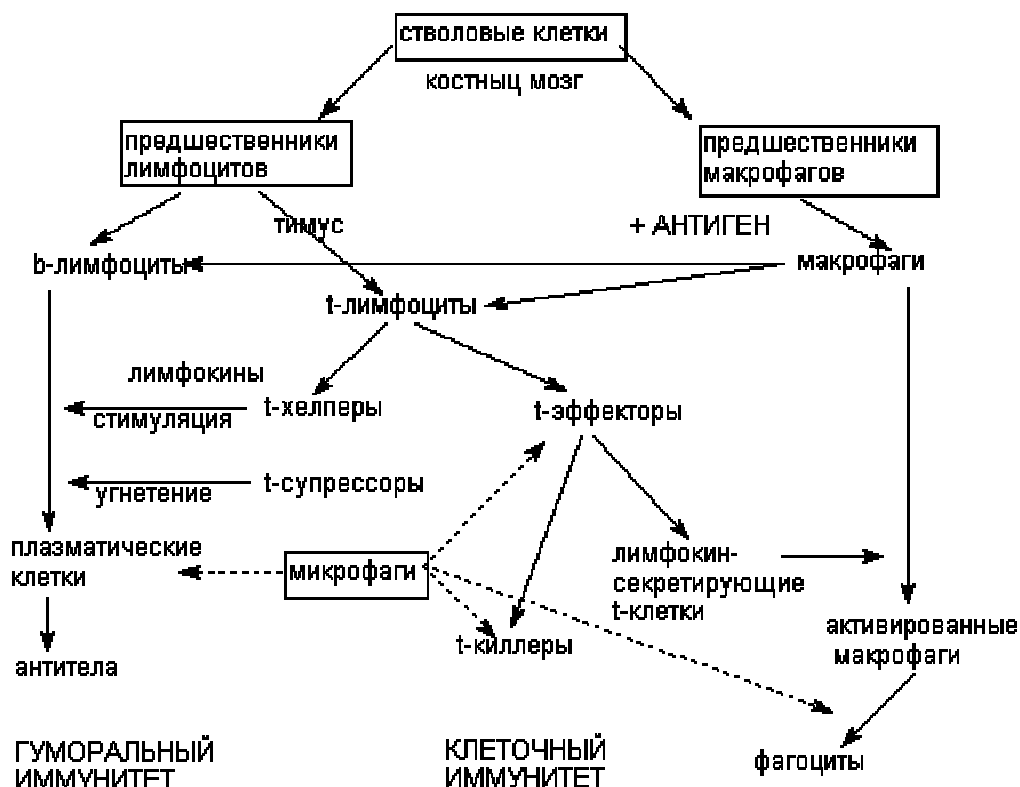


Рисунок 1. Система иммунокомпетентных клеток млекопитающих

1.2. Органы и ткани иммунной системы

Тимус. Тимус представляет собой двудольное образование, локализующееся у основания сердца. При рождении орган человека весит около 10 - 15 грамм, в подростковом возрасте - 30 - 40 грамм. После достижения половой зрелости происходит инволюция тимуса. Каждая из долей органа разделяется на несколько малых долек, состоящих из коркового и медуллярного слоёв. Орган продуцирует тимический гуморальный фактор (ТГФ) - регулятор лимфопоэза.

Селезёнка. Селезёнка - основной фильтр антигенов, циркулирующих в крови, а также место формирования иммунного ответа на чужеродные элементы. Помимо этих функций селезёнка ещё и орган гемопоэза. Основные анатомические элементы селезёнки, это капсула и трабекулы, образующие слабо демаркированные области в органе. Между трабекулами содержится белая пульпа (селезёночные узлы) и красная пульпа (селезёночные синусы). Эти гистологически различимые области селезёнки (красная и белая пульпа) и являются функциональными элементами иммунной системы. Большую часть органа занимает красная пульпа, в которой рассеяны селезёночные узлы. Красная пульпа состоит из ретикулярных клеток, фагоцитов, циркулирующих клеток крови. Белая пульпа - это плотная популяция лимфоцитов. В селезёночных узлах выделяют центральную артерию, вокруг которой локализуется зона тимусзависимых лимфоцитов, ростковый центр, выявляемый по наличию больших базофильных пиронинофильных клеток, окруженный зоной тимуснезависимых лимфоцитов. Селезёнка не имеет приносящих лимфатических сосудов; антигены попадают в орган по кровеносному руслу.

Лимфатические узлы. В организме человека насчитывается 500 - 600 лимфатических узлов. Они располагаются одиночно и группами по ходу кровеносных сосудов. Лимфатический узел, это орган продукции лимфы и пролиферации лимфоцитов. Орган состоит из коры, паракортикального слоя и мозгового слоя. Лимфа попадает в лимфатический узел по лимфатическим сосудам, неся с собой антигены. Оттекающая лимфа уносит антиген-специфичные трансформированные лимфоциты, антитела и лимфокины. Корковый слой узла представляет собой узкую полосу ткани, состоящую, в основном, из В-лимфоцитов. При антигенной стимуляции лимфоциты пролиферируют с образованием плотной популяции интенсивно делящихся герменативных сенсорных клеток, дифференцирующихся в лимфоциты (плазматические клетки), которые и продуцируют антитела. В паракортикальной зоне в основном локализуются Т-лимфоциты. Здесь они взаимодействуют с макрофагами. Медуллярный слой состоит из перегородок и синусов, предназначенных для фильтрации частиц, приносимых лимфой. Медуллярный слой также содержит лимфоциты, способные продуцировать антитела после их стимуляции антигеном.

Печень. Нормальная печень взрослого человека весит 1400 - 1600 грамм и состоит из левой и правой доли. Строение органа кратко охарактеризовано в разделе "Гепатотоксичность". Синусоиды печени выстланы, помимо эндотелиальных, ещё и ретикулоэндотелиальными клетками, являющимися элементом иммунной системы. Основная их функция - выявление антигенов.

1.3. Особенности функционирования системы

С помощью иммунной системы организм выявляет "чужеродные", не свойственные ему, высокомолекулярные, субклеточные и клеточные элементы (антигены) и формирует реакции, направленные на их связывание, отторжение и элиминацию. Различают гуморальный и клеточный иммунитет. Гуморальный иммунитет предполагает синтез В-лимфоцитами (плазматическими клетками)

антител и взаимодействие последних с антигеном. Клеточный иммунитет реализуется путем атаки антигена сенсibilизированными клетками (Т-лимфоцитами, макрофагами, микрофагами).

Характерными особенностями функционирования иммунной системы являются:

1. Специфичность. Известно, что устойчивость в отношении отдельных заболеваний носит специфический характер. В основе явления лежит способность иммунной системы выявлять и особым образом реагировать на чужеродные элементы, имеющие вполне определенную структуру.

2. Память. Если антиген определенного вида уже являлся причиной иммунной реакции, то элементы системы навсегда остаются в модифицированном, в отношении этого антигена, состоянии. В большинстве случаев последующие контакты с антигеном сопровождаются усиленной или "адаптированной" реакцией (позитивная память). В некоторых случаях повторный контакт с антигеном заканчивается ослабленной реакцией (проявление толерантности или негативная память). Специфичность и память являются критериальными свойствами системы, позволяющими решить, является ли реакция организма на чужеродный агент иммунной или нет.

3. Кооперативность. Клеточные реакции иммунитета и образование антител являются следствием тесного взаимодействия различных клеток, а также клеток и цитокинов (биологически активные полипептиды, вырабатываемые клетками иммунной системы и регулирующие их физиологическую активность). Только такое взаимодействие обеспечивает максимальную эффективность системы.

4. Подвижность. Имунокомпетентные клетки, модуляторы их активности и антитела циркулируют в организме. Эффективность системы обеспечивается диссеминацией её элементов в органах и тканях. Местные иммунные реакция также сопряжены с действием подвижных элементов (например, в секрете слизистых оболочек дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, глаз содержится IgA).

5. Клональность. В организме миллионы оседлых и подвижных имунокомпетентных клеток, готовых участвовать в иммунном ответе. Однако только небольшая их часть способна распознать специфический антиген и вступить в фазу пролиферации (клонообразования). Это свойство иммунной системы лежит в основе амплификации специфичных клеток и тем самым обеспечивает эффективность иммунного ответа.

6. Регуляция. Эффективный иммунный ответ регулируется от начала до конца. Регуляции подлежат интенсивность иммунного ответа, его продолжительность, соотношение гуморальных (антител) и клеточных элементов. Индивидуальные различия в выраженности иммунной реакции во многом детерминированы генетически. В эксперименте показано наличие специального гена, определяющего интенсивность иммунной реакции на широкий спектр антигенов (Ir-Gen). Этот ген ассоциирован с генным комплексом тканевой совместимости. Гены тканевой совместимости кодируют мембран-антигенные свойства ядросодержащих клеток (HLA). Каждому индивиду свойственен неповторимый набор генов (а, следовательно, и антигенов). В опытах на экспериментальных животных показано, что ген иммунореактивности (Ir-Gen) определяет характер взаимодействия клеточных элементов иммунной системы. Нередко наблюдающаяся высокая частота аллергических реакций у членов одной семьи на воздействие химических веществ, косвенно доказывает наличие этого гена и у людей.

Полагают, что гиперэргические иммунные реакции могут быть следствием нарушения механизмов регуляции.

1.4. Имунокомпетентность

Имунокомпетентность это функциональное состояние иммунной системы, при котором обеспечивается эффективная защита организма от инфекционных агентов и опухолевых клеток, а также химических веществ, обладающих антигенными свойствами.

Помимо иммунной системы резистентность к указанным факторам обеспечивается механическими барьерами (кожа, слизистые), выделением секретов, обладающих бактерицидными свойствами, воспалительной реакцией (врожденная резистентность). Уровень врожденной резистентности определяется функциональным статусом организма. Механизмы врожденной резистентности не различают отдельные типы "чужеродного", выраженность этих свойств, как правило, не возрастает при повторном контакте с чужеродным агентом. Врожденная резистентность обеспечивает быструю защиту от широкого спектра разнообразных неблагоприятных факторов. Она подкрепляется механизмами адаптивной резистентности.

В отличие от врожденной резистентности, механизмы приобретенной резистентности никак не проявляются до действия специфического антигена (например, высокомолекулярного вещества). Адаптивный иммунный ответ реализуется через специфические механизмы даже в том случае, если организм сталкивается с бесконечным многообразием антигенов. Адаптивные механизмы защиты обусловлены функциональной активностью антиген-специфичных лимфоцитов и специфичных антител, связанных между собой цепью идиотипических (up-regulatory)/антиидиотипических (down-regulatory) факторов. Адаптивные компоненты защитной системы организма существенно меняют силу ответной реакции при повторном контакте с антигеном. Интеграция врожденных и адаптивных (иммунных) механизмов резистентности необходима для поддержания состояния надежной имунокомпетентности. В целом это состояние организма определяется способностью:

1. Образовывать функциональные барьеры, обеспечивающие его единство и изоляцию от окружающей среды.

2. Распознавать, изолировать, нейтрализовать и отторгать то, что идентифицируется как "чужеродное".

3. Инициировать и организовывать формирование различных гранулематозных и воспалительных реакций в местах контакта с "чужеродным".

4. Генерировать "адаптивный" или усиленный иммунный ответ на повторно попавший в организм антиген.

5. "Выключать" иммунную реакцию тогда, когда "чужеродный" элемент удален из организма.

До появления синдрома приобретённого иммунодефицита (СПИД), состояния, связанные с нарушением иммунного ответа у человека рассматривались как редкие. Основными факторами окружающей среды, подавляющими иммунные реакции, считались лучевой (ионизирующее излучение) и химический.

2. Действие токсикантов на иммунную систему

2.1. Понятие иммунотоксичности

Иммунотоксичность можно определить, как свойство ксенобиотиков вызывать нарушения функций организма, проявляющиеся неадекватными иммунными реакциями. Неадекватными могут быть реакции на антигены, сам токсикант, его метаболиты и на комплексные антигены, образующиеся в организме при интоксикациях.

В основе нарушений могут лежать разнообразные эффекты, от грубого повреждения стволовых клеток костного мозга, до изменения продукции цитокинов и модуляции плотности рецепторов для молекул-регуляторов на мембранах иммунокомпетентных клеток (как в сторону уменьшения, так и увеличения). Нарушения могут быть количественными (уменьшение числа клеток вследствие селективной цитотоксичности ксенобиотика) и качественными (функциональные трансформации клеток или клеточных рецепторов). Поскольку неадекватные иммунные реакции нередко формируются при токсических повреждениях органов, не относящихся к иммунной системе, иммунотоксичность нельзя отождествлять со способностью веществ действовать исключительно на лимфоидную ткань.

Нормальной считается сбалансированная иммунная реакция организма на антигены. Следствиями иммунотоксического действия ксенобиотиков являются:

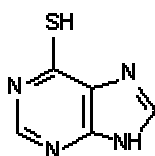
- угнетение иммунного ответа (иммуносупрессия);
- формирование гиперчувствительности к антигенам (аллергизация);
- инициация аутоиммунных процессов.

2.2. Иммуносупрессия

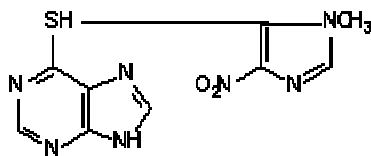
Иммуносупрессия - это подавление иммунного ответа организма на антигены. Свойствами иммуносупрессоров обладают многочисленные ксенобиотики, нарушающие процессы клеточного деления, клеточной дифференцировки, тормозящие синтез белка. К ним, в частности, относятся: алкилирующие агенты, аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, антагонисты фолиевой кислоты (антибиотики), кортикостероиды и др.

К числу алкилирующих агентов относятся, помимо отравляющих веществ (сернистый, азотистый, кислородный иприты), профессиональных вредностей (этиленоксид, этиленмин и др.) и некоторые лекарственные средства, например, циклофосфамид, хлорамбуцил, алкеран, бусульфан и т.д. Вещества этой группы подавляют как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Алкилирующие агенты атакуют протеины и нуклеиновые кислоты клеток (см. раздел "Механизм действия"), находящихся в любой из фаз клеточного цикла (цикло-неспецифические агенты). Результатом повреждения макромолекул (в зависимости от тяжести поражения и клеточной активности) являются: гибель, нарушение деления и созревания иммунокомпетентных клеток и их предшественников, угнетение синтеза антител и медиаторов иммунного процесса. В этой связи иммунотоксическое действие алкилирующих агентов в отношении специфического антигена отмечается при их однократном поступлении в организм в период от первых, до 15 суток после воздействия.

Наиболее известные иммуносупрессоры - аналоги пуриновых оснований, это 5-фторурацил, 6-меркаптопурин и азатиоприн (1-метил,4-нитро,5-имидазол)тиопурин (рисунок 2).



6-меркаптопурин



азатиоприн

Рисунок 2. Структура иммуносупрессоров - аналогов пурина

Механизм действия у веществ этой группы практически одинаков. Будучи структурными аналогами естественных метаболитов, лишёнными вместе с тем необходимых свойств последних, они блокируют метаболизм биологически активных веществ, замещают их в макромолекулярных комплексах, нарушая функции, выполняемые этими комплексами. В частности в организме нарушается биосинтез адениловой и гуаниловой кислот, ДНК и РНК, а также процессы, протекающие при участии ферментов, коэнзимами которых являются пуриновые основания. Чувствительными к действию токсикантов являются, прежде всего, клетки, в которых активизированы процессы синтеза ДНК (репликация) и РНК (транскрипция), т.е. находящиеся в фазе деления и активно синтезирующие белок. В этой связи при интоксикациях веществами этой группы в большей степени страдает клеточный иммунитет. Токсиканты повреждают пролиферирующие лимфоциты. Нарушается также и синтез антител, прежде всего IgG. Максимальный иммуносупрессивный эффект отмечается при их введении через 1 - 2 дня после действия антигена.

Антагонисты фолиевой кислоты (например, метотрексат, см. рисунок 3) угнетают образование тетрагидрофолиевой кислоты в организме, которая необходима для синтеза пурина, тимидиловой кислоты, некоторых аминокислот. Блок образования тимидиловой кислоты приводит к нарушению биосинтеза ДНК. В этой связи антагонисты фолиевой кислоты действуют на клетки находящиеся в стадии интенсивной пролиферации, блокируя их размножение.

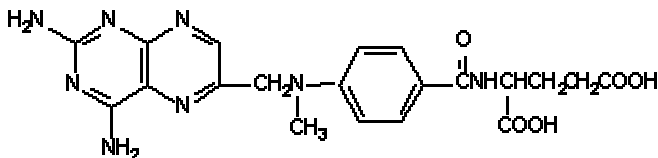


Рисунок 3. Антагонист фолиевой кислоты метотрексат (аметоптерин)

Механизм действия глюкокортикоидов и близких по строению веществ на иммунную систему до конца не выяснен. Эти вещества угнетают фагоцитоз, цитолизующую активность лимфоцитов, синтез антител (неспецифическое угнетение синтеза протеинов на рибосомах) и т.д.

Иммуносупрессивное действие большинства токсикантов, выявленное в эксперименте или в условиях клиники, до настоящего времени не объяснено.

Как механизмы врожденной резистентности, так и иммунитет могут быть существенно подавлены и даже полностью уничтожены действием некоторых отравляющих веществ, промышленных и экотоксикантов, лекарственных средств. Помимо структурных повреждений, ксенобиотики могут вызвать функциональные сдвиги со стороны иммунокомпетентных клеток, например, изменять их способность к дифференцировке, нарушать экспрессию или рестриktion основного антигенного комплекса тканевой совместимости, ослаблять способность плазматических клеток вырабатывать антитела (главным образом IgM, IgG) и т.д. Выявить эти изменения у людей порой бывает очень сложно, а их последствия могут иметь большое значение для состояния здоровья.

Последствия иммуносупрессии для организма варьируют в широких пределах, от угрожающих жизни состояний, до едва выявляемых с помощью специальных методов эффектов.

Так, при обследовании лиц, подвергшихся воздействию полигалогенированных бифенилов, обнаруживаются признаки стойкой, выраженной иммуносупрессии. При этом в группе со сниженным иммунитетом чаще встречались новообразования (10,7%, против 0,5% у лиц с нормальным иммунным статусом). Дальнейшее наблюдение за этими людьми позволило выявить и другие следствия иммуносупрессии, в частности склонность к инфекционным заболеваниям.

2.2.1. Иммуносупрессия и инфекция

У лиц с нарушенным иммунным статусом нередко развивается оппортунистическая инфекция. Установлено, что такие экополлютанты, как озон, оксиды азота, диоксид серы существенно повышают чувствительность организма к инфекции. Присоединение вторичной инфекции постоянно отмечалось у лиц, пораженных в ходе военных конфликтов сернистым ипритом. Поскольку клиренс экстрацеллюлярных патогенных микроорганизмов определяется взаимодействием лейкоцитов, антител и комплемента, а интрацеллюлярных в основном клеточными механизмами иммунитета, имеется возможность указать, какой тип инфекционных осложнений наиболее вероятен, если известен механизм повреждающего действия токсиканта. Повышение чувствительности к инфекции у отравленных может быть следствием повреждения и механизмов врожденной резистентности (см. выше).

2.2.2. Иммуносупрессия и канцерогенез

В настоящее время получены данные, подтверждающие связь между повреждением иммунной системой (иммуносупрессия, иммунодефицит) и вероятностью развития некоторых видов неоплазмы (см. раздел "Химический канцерогенез"). Ограничение опухолевого роста в организме обеспечивается механизмами врожденной и приобретенной резистентности. Ведущая роль в этом, как полагают, принадлежит клеткам - Т-киллерам. Двойную роль играют макрофаги: неспецифическую, как фагоциты, и специфическую, участвуя в активации лимфоцитов. Такие представления основываются на двух посылах: а). Клетки опухоли и нормальные клетки организма имеют различный антигенный портрет; б). Иммунная система реагирует с модифицированными клетками опухолей, как с клетками чужеродных тканей. Получены данные, согласно которым лимфоциты участвуют в регуляции процесса дифференциации целого ряда клеточных популяций. Это осуществляется путем постоянной оценки вновь образовавшихся в организме клеток и определения степени модификации их антигенных свойств. Селективно продвигая оборот не модифицированных клеток, лимфоциты препятствуют накоплению клеток даже с незначительными фенотипическими отклонениями. Опухолевый рост в таком случае может быть следствием "ускользания" модифицированных клеток из-под контроля лимфоцитов. Как в опытах на животных, так и в условиях клиники получены данные, свидетельствующие в пользу таких представлений. Так, отмечается высокий процент развития новообразований (лимфом, лейкозий, раков кожи и губ и др.) у больных с иммунодефицитом; выявляется тесная связь между действием факторов, подавляющих иммунитет, таких как тимэктомия, облучение, интоксикация, и увеличением скорости опухолевого роста и метастазирования у экспериментальных животных. Установлено, что канцерогены подавляют иммунитет. Так, при интоксикации бенз(а)пиреном отмечается существенное снижение показателей клеточного иммунитета (таблица 4). При этом лишенный канцерогенности аналог токсиканта - бенз(е)пирен, иммунитет не угнетает.

Таблица 4. Некоторые показатели иммунного статуса мышей, отравленных бенз(а)пиреном

Показатели	Выраженность (% от нормы)
Резистентность к трипаносомам	50
Реакция на митогены	50
Общий уровень иммуноглобулинов	норма
Содержание клеток-предшественников	80

2.3. Гиперчувствительность (аллергия)

2.3.1. Характеристика состояния гиперчувствительности

Нарушения, сопровождающиеся гиперчувствительностью к антигенам, являются наиболее частой формой проявлений иммунотоксичности у человека. Гиперчувствительность можно определить как избыточную по интенсивности реакцию организма на антиген или существенное понижение порога чувствительности к данному антигену. В настоящее время в мире состоянием гиперчувствительности страдают несколько десятков миллионов людей, причем около 10% нуждаются в медицинской помощи. Часто причиной патологии являются лекарственные вещества. Так, около 5% общего числа госпитализаций

связано с приёмом лекарств. Для обозначения реакции гиперчувствительности предложено несколько терминов.

1. Термин "аллергия" введен Pirquet в 1906 году. Этим термином обозначалась изменённая реакция организма на повторное действие фактора. В настоящее время термин "аллергия" иногда рассматривают как синоним термина "гиперчувствительность".

2. Термин "анафилаксия" предложен Porter и Richet в 1902 году для обозначения побочной реакции, возникавшей на лошадиную сыворотку, вводившуюся с лечебной целью инфекционным больным. В настоящее время под анафилаксией подразумевают острую реакцию организма на чужеродный агент, включающую как иммунный, так и воспалительный компоненты.

3. Термин "атопия" предложен Соса в 1920 году для описания многочисленных необычных реакций, развивающихся у людей на целый ряд агентов. Эти "странные" реакции сейчас рассматриваются как аллергические. В контексте современной иммунологии атопия обозначает конституциональную или наследственную склонность к развитию состояний хронической гиперчувствительности, такие как сенная лихорадка, астма и т.д., на факторы, у "нормальных" людей не вызывающих неблагоприятные явления.

Симптомы аллергических реакций на токсикант полностью отличаются от проявлений интоксикации этим же веществом. Более того, одно и то же вещество у разных лиц может вызывать различные проявления аллергоза, и напротив, вещества с совершенно разным химическим строением могут вызывать сходную картину аллергической реакции. Еще одной важной особенностью аллергии на токсикант является отсутствие зависимости между выраженностью реакции и величиной воздействующей дозы (отсутствие зависимости "доза-эффект"). Аллергические реакции являются наиболее индивидуальными формами проявления иммунотоксичности. Ксенобиотики, вызывающие аллергические реакции у одних, совершенно безвредны для других. В этой связи возникает проблема генетической предрасположенности к аллергии.

Формирование аллергического статуса связано с наличием скрытого периода после первичного контакта с аллергеном. Вслед за этим уже ничтожная доза вещества может вызвать появление симптоматики. Этому состоянию всегда предшествует этап, в ходе которого происходит проникновение антигена в организм (контакт с покровными тканями), его распознавания иммунокомпетентными клетками, сенсibilизация лимфоцитов и активация процесса их пролиферации, выработка антител, диссеминация их в организме, фиксация на клетках, не вырабатывающих антитела (тучные клетки, базофилы и др.).

В 1950 году Gell и Coombs предложили классификацию аллергических реакций, в соответствии с иммунными механизмами, лежащими в их основе. В настоящее время представления авторов лишь несколько модифицированы (таблица 5). 1 - 3 типы аллергических реакций связаны с механизмами гуморального иммунитета (называются реакциями немедленного типа), 4 - клеточного иммунитета (называются реакциями отсроченного типа).

Таблица 5. Типы аллергических реакций (по материалам Gell, Coombs)

Тип	Механизм	Проявления
1. Анафилактические или атопические реакции	Взаимодействие антигена с антителами (IgE, IgG ₄), связанными с поверхностью мембран клеток-эффекторов (тучные клетки, базофилы) ® высвобождение медиаторов иммунного ответа из клеток: гистамина, фактора активации тромбоцитов (ФАТ), серотонина, лейкотриенов, цитокинов, простогландинов) ® физиологическая реакция.	Анафилактический шок, Астма, Аллергический ринит, Уртикарная сыпь
2. Цитотоксические реакции	Взаимодействие антител (IgM, IgG, IgA) с компонентами клеточных мембран ® активация комплемента ® активация гранулоцитов, высвобождение цитокинов, лизосомальных энзимов ® гибель и разрушение клеток	Иммуноцитопении (агранулоцитоз, тромбоцитопения, гемолитические анемии)
3. Реакции, опосредованные иммунным комплексом	Образование иммунного комплекса антиген-антитело и его преципитация в тканях ® активация комплемента ® аттракция полиморфноядерных лейкоцитов ® высвобождение медиаторов иммунного ответа (катепсины Д и Е, цитокины, лизосомальные энзимы, O ₂ -радикалы) ® цитотоксические реакции	Реакция Артюса, Гломерулонефрит, Пневмониты, Сывороточная болезнь и т.д.
4. Реакции, опосредованные клеточными эффектами	Взаимодействие сенсibilизированных Т-лимфоцитов с антигеном ® аттракция макрофагов к месту взаимодействия ® высвобождение медиаторов иммунной реакции ® физиологическая реакция	Контактные дерматиты, Экзема, Аутоиммунные реакции

Аллергическая реакция первого типа протекает в три этапа:

- взаимодействие антигенов со специфическими антителами, фиксированными на клетках-эффекторах;
- активация клеток-эффекторов (тучные клетки, базофилы) и высвобождение ими биологически активных веществ, включая гистамин, серотонин, гепарин, арахидоновую кислоту и т.д.;
- действие этих веществ на клетки-мишени и формирование физиологической реакции: сокращение гладкой мускулатуры бронхов (бронхоспазм), расширение артериол (крапивница), падение артериального давления и т.д.

При системном действии антигена (попадание в кровь) реакция, как правило, носит общий характер (анафилактический шок, генерализованная сыпь на коже и проч.), при контакте с тканями (дыхательные пути, кожа и т.д.) - местный. Таким образом, характер патологии определяется органом, в котором протекает аллергический процесс (сосудистая система, печень, дыхательная система и т.д.). Предрасположенность органа к повреждению определяется как токсикокинетическими (способ аппликации, особенности распределения, метаболизма, выведения ксенобиотика), так и токсикодинамическими (особенности физиологии органа) факторами. Примерами аллергических реакций этого типа являются аллергический ринит, астма, atopические кожные реакции (например, крапивница) на действие некоторых химических веществ (например, вещества раздражающего действия).

Реакция второго типа проходит при участии комплемента и приводит к повреждению антителами клеточных мембран, модифицированных токсикантом (см. ниже). Процесс сопровождается активацией субпопуляции клеток-киллеров, фагоцитов, и завершается разрушением клеток и их фогоцитозом. Такой механизм лежит в основе поражения некоторыми ксенобиотиками форменных элементов крови.

Третий тип аллергической реакции обусловлен образованием стойкого, длительно персистирующего в организме комплекса антиген-антитело. Этот комплекс активирует систему комплемента, а затем макрофаги, нейтрофилы, тромбоциты и другие клетки, участвующие в формировании воспалительного процесса. Классическими примерами реакций данного типа являются реакция Артюса (местный процесс), сывороточная болезнь (системный процесс), аллергические пневмонии.

Гиперреактивный пневмонит (см. раздел "Пульмонотоксичность") это феномен, включающий целую группу состояний, связанных с аллергизацией организма органической пылью, а также некоторыми низкомолекулярными соединениями. Обычно больные жалуются на приступы удушья, лихорадку, кашель, общее недомогание. Симптомы появляются спустя 4 - 6 часов после воздействия аллергена и наблюдаются в течение 12 - 24 часов. На рентгенограмме выявляются признаки интерстициального отека легких, иногда участки инфильтрации ткани. Гиперреактивные пневмониты характеризуются рядом общих черт: а). Преимущественное вовлечение в патологический процесс дыхательных путей; б). Развитие интерстициального мононуклеарного инфильтрата, заполняющего альвеолы (Т-супрессоры, цитотоксические лимфоциты, макрофаги) и прогрессирующего в гранулему; в). Значительная активация в тканях Т-лимфоцитов и макрофагов; г). Заболеванию сопутствует высокий уровень преципитирующих антител к аллергенам в крови, а в бронхиальном лаваже повышено содержание IgG, IgA, IgM и лимфокинов. Формирование этого гранулематозно-воспалительного процесса в легких во многом обусловлено генетически детерминированным нарушением механизмов регуляции иммунной системы.

Аллергическая реакция четвертого типа связана с сенсибилизацией Т-лимфоцитов. Пассивную передачу состояния гиперчувствительности данного типа от одного экспериментального животного другому можно осуществить только с помощью трансплантации лимфоцитов, но не плазмы крови (в отличие от реакций 1 - 3 типов). Сенсибилизированные лимфоциты атакуют гаптен или продукт взаимодействия гаптена с белковыми структурами тканей, что сопровождается выделением лимфокинов - активаторов клеточных реакций, аттрактантов лейкоцитов и других биологически активных веществ. В итоге, при выраженном процессе в месте поражения образуются обширные инфильтраты, склонные к некротизации. При внутривенном введении антигена возможно развитие шокоподобного состояния. Местные реакции могут развиваться в различных органах, например, в щитовидной железе, надпочечниках, кишечнике, печени, нервной системе, коже и т.д. По этому механизму формируются в частности аллергические контактные дерматиты (АКД). У чувствительных людей целый ряд синтетических и встречающихся в природе веществ может вызвать АКД (см. раздел "Дерматотоксичность"). Антибиотики, мази, косметика, смеси растворителей, краски и др., все эти агенты могут стать причиной заболевания. Сенсибилизация может развиваться в результате однократного или повторного действия аллергена; в ряде случаев процессу предшествует многолетний контакт с веществом. Антигены, вызывающие данный тип реакции, как правило, высокоактивные соединения, растворимые в воде, способные конъюгировать с протеинами кожи с образованием комплексов антигенов, распознающихся иммунной системой как "чужеродное". Эпидермальные макрофаги (клетки Лангерганс), как полагают, играют ключевую роль в процессии антигена и презентации его Т-лимфоцитам. Ранние стадии АКД характеризуются эритемой и отеком. Межклеточный отек прогрессирует с образованием везикулярных элементов, которые, вскрываясь, образуют мокнущие поверхности. Тяжесть состояния может нарастать в течение нескольких суток после прекращения действия аллергена. Заживление проходит в течение 2 - 4 недель. Однажды возникнув, сенсибилизация сохраняется в течение длительного времени. Последующий контакт даже с малым количеством аллергена, запускает процесс. Системное поступление аллергена в организм может вызвать у сенсибилизированного человека тяжелую генерализованную кожную реакцию.

2.3.2. Псевдоаллергические реакции

Различные химические вещества, действуя на организм, порой вызывают состояния, чрезвычайно напоминающие аллергические реакции и проявляющиеся широким спектром нарушений от кожной сыпи до астмы и анафилаксии. При этом лабораторными методами не удаётся выявить участие в процессе иммунологических механизмов. Молекулярные механизмы таких феноменов в полной мере не ясны. Не исключено, что некоторые ксенобиотики обходят обычный двухстадийный процесс активации тучных клеток (фиксация на поверхности клеток антител; взаимодействие антигена с фиксированными антителами). В

этом случае дегрануляция и высвобождение биологически активных веществ происходит вследствие непосредственного разрушения тучных клеток (цитотоксическое действие).

2.3.3. Иммуногены и аллергены

Молекулы, вызывающие иммунный ответ организма, называются иммуногенами. Идентификация иммуногена может быть осуществлена с помощью моноклональных антител. Как правило, аллергия развивается при действии именно иммуногенов, то есть высокомолекулярных соединений, естественных полных антигенов. Однако становится все более очевидным, что многие низкомолекулярные вещества (производственные токсиканты, лекарства, косметика, экополлютанты и т.д.) также могут вызвать состояние гиперреактивности, т.е. выступить в качестве аллергенов.

Еще со времен Ландштейнера известно, что при определенных условиях возможно формирование иммунной реакции на введение низкомолекулярного вещества, однако при условии, что оно вступит во взаимодействие с высокомолекулярным носителем с образованием так называемого комплексного антигена. Таким образом, важными моментами, определяющими вероятность развития аллергии, являются химические свойства, сенсibilизирующая доза вещества и продолжительность контакта. Для того чтобы вызвать иммунный ответ низкомолекулярное вещество должно обладать свойствами гаптенов, т.е., с одной стороны, иметь возможность взаимодействовать с эндогенными структурами организма, обладающими антигенными свойствами, а с другой, так модифицировать их, чтобы сенсibilизированные этим комплексным антигеном лимфоциты вырабатывали антитела, способные распознавать именно токсикант. Не редко аллергенами являются не сами вещества, а продукты их метаболизма. По-видимому, существует прямая связь между химической реакционной способностью и сенсibilизирующей активностью вещества. Токсиканты, образующие обратимые связи с белками крови не являются аллергенами.

В настоящее время установлено, что в иммунном ответе на комплексный антиген принимают участие как Т-, так и В-лимфоциты. При этом В-клетки распознают гаптен, а Т-клетки - макромолекулярный носитель. Этот принцип реализуется и при формировании реакции на естественные антигены. Антигены, активирующие иммунную реакцию только через взаимодействие с Т-клетками, называются Т-зависимыми антигенами. Антигены, активирующие иммунологический процесс путем взаимодействия только с В-клетками, называются В-зависимыми антигенами. Количество веществ, действующих исключительно через Т- и В- лимфоциты, крайне мало.

Как указывалось выше, в качестве носителя гаптена могут выступать различные макромолекулы: белки, полипептиды, полисахариды. Особой реакционной активностью при образовании связей с носителем обладают соединения, имеющие в структуре амно-, нитро-, азо-, карбаминовые и некоторые другие группы. Как уже указывалось, во взаимодействие с носителем может вступать не исходный ксенобиотик, а продукт его метаболизма. Таков механизм формирования комплексного антигена, в частности, при действии на организм производных р-аминобензола. Предположительно в ходе метаболических превращений происходит гидроксилирование или окисление NH_2 -группы вещества. Образующиеся активные радикалы легко вступают во взаимодействие с сульфгидрильными и другими функциональными группами молекул-носителей с образованием ковалентных связей (рисунок 4).

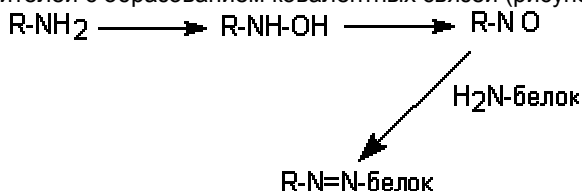
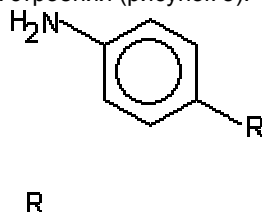


Рисунок 4. Взаимодействие лиганда с белком

Подобные вещества вызывают аллергические реакции на целую группу соединений, что объясняется близостью их строения (рисунок 5).



- CO-O-C₂H₅ - бензокаин
- CO-O-(CH₂)₂-N(C₂H₅)₂ - прокаин
- SO₂-NH-X - сульфаниламиды

Рисунок 5. р-аминобензол и его производные

Совокупность близких по строению аллергенов образует "парагруппу". К "парагруппе" производных аминобензола относятся, в частности, сульфаниламиды, производные фенотиазина, ацетанилиды, азокрасители, пикриновая кислота и др.

Другими хорошо известными аллергенами являются вещества, также способные образовывать прочные ковалентные связи с белками. Это цианаты, тиоцианаты, изотиоцианаты, альдегиды, галоген-содержащие вещества, тиогликолаты (таблица 6). К числу аллергенов принадлежат также ионы металлов Ni, Co, Zn, Hg, Ag, Cr и др.

Таблица 6. Строение некоторых низкомолекулярных аллергенов

Название	Строение
цианаты	R-OCN
тиоцианаты	R-SCN
изотиоцианаты	R-CNS
альдегиды	R-CH=O
тиогликолаты	R-C-SH

Особый вид аллергии, вызываемый ксенобиотиками, представляет фотоаллергия. В данном случае образование прочной связи между молекулой белка и гаптенем, накопившемся в коже, активируется в результате фотохимического превращения последнего, как правило, при действии ультрафиолетовых лучей. В клинической практике нередко встречаются с фотоаллергическими реакциями на хлорпромазин, псорален, сульфаниламидные препараты и др. (см. раздел "Дерматотоксичность").

Сенсибилизирующие свойства вещества могут быть оценены с помощью "индекса сенсибилизации", который представляет собой выраженную в процентах вероятность развития аллергии у лиц, контактирующих с веществом. Индекс сенсибилизации некоторых лекарственных веществ представлен в таблице 7.

Способность сенсибилизировать организм у разных веществ выражена не одинаково. Некоторые соединения (например фенилэтилгидантион, см. рисунок 6) в 90% случаев вызывают аллергизацию (появление экзантемы, отек кожи лица и слизистых оболочек, лихорадка), другие дают осложнение менее чем в 1% случаев.

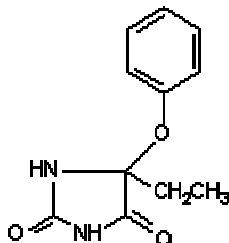


Рисунок 6. Структура фенилэтилгидантиона. Снотворное средство

Важен способ аппликации вещества. Так, пенициллин при приеме через рот вызывает аллергические реакции менее чем в 1% случаев, при парентеральных способах введения - в 3%, а при аппликации на слизистые - до 15%.

Таблица 7. Индекс сенсибилизации некоторых лекарственных веществ

По частоте аллергических реакций, вызываемых медикаментами, на первом месте стоит пенициллин. Механизм формирования реакции в основном изучен. Антитела формируются на метаболиты пенициллина, в частности пеницилловую кислоту, пеницилленовую кислоту, пеницилламин. Эти соединения взаимодействуют с белками с образованием прочных амидных связей. Возможна перекрестная аллергия к другим препаратам группы пенициллина. Высокой иммуногенностью обладает цефалоспорины. При расщеплении β -лактамного кольца препарата выявляются реактивные группы, обеспечивающие взаимодействие их с белками.

Свойствами аллергенов обладают производные салициловой кислоты, встречающиеся в виде примесей в лекарственных формах препарата (ангидрид ацетилсалициловой кислоты, цис-дисалицилид и др.).

Примерно у 3%, принимающих барбитураты, развиваются аллергические реакции. Как правило, отмечаются кожные проявления (экзантемы, эритема). Производные фенотиазина вызывают контактную сенсибилизацию кожи, аутоиммунный агранулоцитоз, отек Квинке. Наиболее часто реакция развивается у работающих на производствах по выпуску препаратов. Аллергенами также являются некоторые анестетики (новокаин, прокаин, бензокаин), рентгеноконтрастные вещества, вызывающие кожные реакции (эритема, уртикарная сыпь, буллезные изменения кожи, лихорадку), блокаторы адренорецепторов (поражение глаз, серозных оболочек).

У большинства людей при действии иммуногенов происходит сенсибилизация клеток, вырабатываются антитела. Однако далеко не у всех развиваются гиперреактивные реакции. Склонность к развитию гиперреактивных состояний, выявляемая у некоторой части популяции людей, объясняется генетически обусловленными особенностями человека (см. выше). Это еще более усложняет работу по контролю за качеством среды и обеспечению здоровья населения, поскольку у высоко чувствительных сенсибилизированных лиц неблагоприятные эффекты могут развиваться от доз токсикантов значительно ниже допустимых.

Механизмы действия аллергенов суммированы в таблице 8.

Таблица 8. Механизмы действия токсикантов, вызывающих аллергизацию организма и активацию аутоиммунных процессов

- вещество или его метаболиты являются полными антигенами;
- вещество или его метаболиты являются гаптенами, способными образовывать с белками крови иммуногены и аутоантигены;

- вещество или его метаболиты ковалентно связываются с макромолекулами легких, кожи, желудочно-кишечного тракта и т.д.;
- вещество непосредственно повреждает иммунную систему, активируя В-лимфоциты, Т-лимфоциты, увеличивая соотношение хелперов/ супрессоров;
- повреждение органа химическим веществом с высвобождением "скрытых" антигенов, превращающихся таким образом в аутоантигены;
- ксенобиотик и макромолекулы тканей организма имеют общие антигенные детерминанты;

2.4. Аутоиммунные процессы

Распознавание "чужеродного" и формирование биологической реакции на него - основная функция иммунной системы. Для того, чтобы реагировать на чужое, иммунная система должна распознавать и "свое". Поломки в механизмах, позволяющих иммунокомпетентным структурам отличать своё от чужого лежат в основе аутоиммунных процессов. Количество болезней и синдромов, в основе которых лежат аутоиммунные процессы неуклонно возрастает. Ранее в качестве пускового механизма рассматривали действие, прежде всего, инфекционного фактора. В настоящее время не меньшее значение придаётся химическим агентам.

Имеющиеся данные свидетельствуют, что аутоиммунные заболевания являются следствием количественных нарушений отдельных сторон и в норме протекающих процессов: увеличения количества пролиферирующих стволовых клеток, продуцируемых антител, образующихся комплексов антиген-антитело (иммунные комплексы). Полагают, что заболевания являются следствием сочетанного действия ряда причин, включая генетически обусловленную индивидуальную предрасположенность, сопутствующие воздействия среды, благоприобретенные дефекты механизмов регуляции иммунной системы. Так, у животных, с вызванным в эксперименте аутоиммунным процессом выявляется дефект клеток-супрессоров.

Аутоиммунные заболевания подразделяются на орган-специфичные и орган-неспецифичные. Оба процесса запускаются нормальными антигенами собственного организма, либо антигенами, модифицированными действием экзогенных факторов. Поскольку химические вещества могут с одной стороны, вступая во взаимодействие с макромолекулами организма изменять их антигенные свойства (см. выше), а с другой - существенно изменять процессы активации лимфоцитов, синтеза антител, продукцию цитокинов, не удивительно, что результатом взаимодействия организма и ксенобиотика могут стать аутоиммунные заболевания (таблица 9). Ртуть, дизлдрин, метилхолантрен - известные стимуляторы аутоиммунных реакций.

Таблица 9. Аутоиммунные болезни. Патология, обусловленная антителами

Синдромы	Соответствующие ассоциированные антигены
Системная красная волчанка	однонитевая и двунитевая ДНК, ядерные и цитоплазматические ассоциированные антигены
Миастения гравис	рецепторный белок к ацетилхолину
Аутоиммунный тиреоидит	Тириоглобулин
Аутоиммунная эндокринопатия	отдельные гормоны
Аутоиммунная гемолитическая анемия	ксенобиотик, присоединенный к мембране клетки крови
Иммунная гранулоцитопения	-
Иммунная тромбоцитопения	-
Пузырчатка	внутриядерные ассоциированные антигены
Сывороточная болезнь	модифицированные белки крови
Анафилаксия	-

Можно выделить три механизма, пока гипотетичных, инициации химическими веществами аутоиммунных заболеваний:

1. Прямое действие токсиканта на иммунную систему. Ксенобиотики могут оказывать действие на лимфоциты и макрофаги. В итоге, возможно, показанное в эксперименте, угнетение активности Т-супрессоров, усиление активности Т-хелперов, активация поликлональных В-лимфоцитов. Так, метилдофа, взаимодействуя с Т-супрессорами, провоцирует развитие аутоиммунной анемии у человека. Некоторые металлы, например, ртуть, вызывают стимуляцию поликлональных В-лимфоцитов.

2. Высвобождение аутоантигенов. Многие ксенобиотики могут нарушать целостность биологических структур и способствовать выходу в кровь тканевых антигенов, с которыми в норме иммунокомпетентные клетки не сталкиваются. Возможно простое увеличение количества антигенов, в норме циркулирующих в

крови. Хроническое воздействие некоторых металлов (ртути, золота, марганца, кобальта и т.д.) вызывая хронический воспалительный процесс в тканях, провоцируют развитие аутоиммунных реакций.

3. Модификация собственных антигенов. Ксенобиотики, взаимодействуя с макромолекулами тканей, могут изменять их конформацию, формировать в них новые детерминанты, вызывать экспрессию "спрятанных" детерминантных групп. В итоге эти структуры перестают восприниматься иммунной системой как "свои". Примером такого взаимодействия является действие дигидролазина (рисунок 7) на нуклеопротеины.

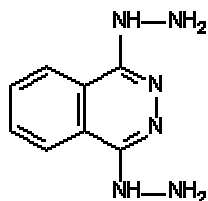


Рисунок 6. Структура дигидролазина. Мочегонное средство

Наиболее вероятно возникновение аутоиммунных заболеваний при длительном, хроническом действии токсикантов на организм. Эту возможность следует иметь в виду при обеспечении здоровья лиц, контактирующих с вредными факторами на производствах, проживающих в экологически неблагоприятных регионах.

3. Краткая характеристика токсикантов

3.1. Бериллий.

Хотя бериллий был открыт еще в 18 веке, его токсическое действие обнаружилось лишь в XX.

В 1945-50 годах в США регистрировались эпидемические вспышки острых и хронических интоксикаций бериллием на предприятиях по его производству, выплавке сплавов, изготовлению неоновых ламп, а также среди населения, проживающего близ этих производств. Первоначально патологию, вызванную металлом, принимали за саркоидоз, легочное и мультисистемное заболевание неизвестной этиологии. В настоящее время заболевания острым бериллиозом на предприятиях полностью ликвидированы. Однако экологи полагают, что в связи с увеличением объемов используемого в производстве бериллия возможен рост числа лиц, подвергающихся хроническому воздействию. Коварство бериллия, его способность вызывать реакцию сенсибилизации заставляют исследователей и практических врачей рекомендовать строгий контроль за состоянием здоровья всех людей, работающих с бериллием.

Заболевание, возникающее в результате длительного воздействия бериллием, называется хроническим бериллиозом и представляет собой гранулематозный процесс, проявляющийся преимущественно в легких, реже в других органах. В отличие от острого поражения, интенсивность хронического воздействия, по-видимому, не является важным фактором, определяющим тяжесть поражения. Дело в том, что в основе патологии лежит реакция гиперчувствительности к бериллию, выступающему в качестве антигена или гаптена. Недавние исследования показали, что сенсибилизация может развиваться даже при кратковременном действии металла в очень малых концентрациях. Скрытый период между моментом первого воздействия бериллием и развитием клиники заболевания продолжается от нескольких месяцев до 30 лет. Средняя продолжительность латентного периода 6-10 лет.

Нарушения функций легких при хроническом бериллиозе могут протекать в нескольких формах:

1. преимущественно обструктивный тип (примерно у трети отравленных);
2. рестриктивный тип (у одной четверти пострадавших);
3. снижение диффузионной способности легких (в тесте с CO) при неизмененных легочных объемах и проходимости бронхов (у одной трети пострадавших).

Наиболее ранний симптом - одышка при физической нагрузке. Часто присоединяются боли за грудиной, кашель, артралгии, повышенная утомляемость, потеря веса. При исследовании выявляются двухсторонние хрипы, цианоз, пальцы в форме барабанных палочек, лимфоаденопатия, поражения кожи. В запущенных случаях - правосторонняя недостаточность, *cor pulmonale*. У небольшой части отравленных отмечаются нарушения, выявляющиеся лишь при физических нагрузках в форме увеличения альвеолярно-артериального градиента рО₂; процесс без нарушения функций на фоне гранулемы в легких и бериллий-специфических иммунологических реакций лимфоцитов легочного лаважа.

При исследовании биоптатов легких у больных выявляются нераспадающиеся гранулемы, мононуклеарные клеточные инфильтраты в интерстиции легких и различной степени выраженности фиброз легких. В бронхоальвеолярном лаваже обнаруживается большое количество лейкоцитов, увеличенное число лимфоцитов, повышенное соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам.

Помимо легких, гранулемы обнаруживаются в печени, селезенке, региональных лимфатических узлах, миокарде, скелетных мышцах, почках, слюнных железах, костях, коже.

Хроническая интоксикация бериллием часто сопровождается гранулематозными изменениями кожных покровов даже в тех случаях, когда прямого действия металла на покровную ткань не было.

У 10% больных выявляется гепатомегалия. Реже в патологический процесс вовлекается ЦНС.

В литературе имеются данные о выздоровлении, наступившем без лечения. Однако на такой исход всегда мало надежды. У большинства больных постепенно прогрессирует дыхательная недостаточность и правожелудочковая недостаточность сердца. В запущенных случаях бериллиоза летальность может составить до 30%.

4. Определение иммунотоксичности ксенобиотиков

Стратегия определения иммунотоксичности состоит в последовательном изучении в эксперименте состояния элементов иммунной системы (от клетки до целостного организма), в условиях воздействия испытуемого токсиканта. Ни одна отдельно взятая методика не является в полной мере надежной и

достаточной для оценки потенциальной опасности ксенобиотика. Содержание одного из пакетов тестов представлено в таблице 10.

Таблица 10. Двухэтапный пакет тестов оценки иммунотоксичности ксенобиотика

Этап	Параметры	Методы исследования
1. Этап скрининга	Иммунморфология Гуморальный иммунитет Клеточный иммунитет Неспецифическая резистентность	Гематологические: общий анализ крови, формула крови; Вес тела, селезенки, тимуса, почек, печени, легких; Гистология: селезенки, тимуса, лимфатических узлов Подсчет колоний клеток, образующих IgM к Т-зависимым и Т-независимым антигенам и ответ на митогены Ответ на действие митогена и смешанный лейкоцитарный ответ на аллогенные лейкоциты Фагоцитарная активность клеток
2. Этап изучения механизмов	Морфология Гуморальный иммунитет Клеточный иммунитет Неспецифический иммунитет Оценка резистентности организма	Подсчет числа В- и Т-лимфоцитов в селезенке Подсчет колоний клеток, образующих IgG к Т-зависимым антигенам Функции цитотоксических лимфоцитов; Количество перитонеальных макрофагов и анализ их функциональной активности Прививка опухолевых тканей: саркома РУВ6 меланома В6F10 Бактериальные модели: <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Streptococcus spp</i> Паразитарные модели: <i>Trypanosoma musculi</i> <i>Plasmodium yoellii</i> Вирусные модели: вирус гриппа

Исследования первого этапа предназначены для выявления потенциальных иммунотоксикантов. Тесты второго этапа позволяют установить механизм иммунотоксичности и потенциальную способность вещества нарушать общую резистентность организма. Обычно токсикант вводится мышам в течение 14 дней, хотя в случае неясных результатов введение может быть продолжено до 30 и даже 90 суток.

Для изучения иммуносупрессорных свойств токсикантов в лабораторных условиях могут быть применены животные, зараженные патогенными микроорганизмами. С целью инфицирования используют: *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Trypanosoma musculi*, *Plasmodium yoellii*, вирус гриппа, вирус герпеса простого и т.д. В подобного рода исследованиях удаётся оценить состояние отдельных элементов иммунной системы. Продолжительность анализа - 2 - 3 недели.

Примером хорошо отработанного теста на иммунотоксичность ксенобиотика, является метод введения мышам, подвергшимся действию токсиканта, культуры трипаносом (*trypanosoma musculi*). Эти трипаносомы являются непаразитическими, эктрацеллюлярными микроорганизмами. Поражение мышей этими организмами на ранних этапах заражения контролируется врожденными механизмами резистентности, в частности фагоцитозом. В поздние стадии (10 дней инфекционного процесса) паразитемия контролируется механизмами антителообразования. Конечный этап (18 - 20 день) инфекционного процесса проходит под контролем как клеточного, так и гуморального иммунитета. Таким образом, в одном эксперименте можно определить влияние ксенобиотика на несколько элементов иммунной реакции (фагоцитоз, выработку антител, клеточный иммунитет). Вызванные токсикантом повреждения фагоцитоза, либо антителообразования, либо механизмов клеточного иммунитета, проявляются паразитемией в соответствующем периоде развития инфекции. Эта модель достаточно чувствительна и эффективна при оценке иммуносупрессорных свойств ксенобиотиков.

Оценка потенциальной способности веществ сенсibilизировать организм проводится в опытах на лабораторных животных, как правило, на морских свинках. В настоящее время используются три группы тестов: Draize; Buehler; Magnusson-Kligman. Тесты различаются способами введения токсикантов: внутрикожное, накожное и подкожное, соответственно; используемыми в исследовании адъювантами, промежутками времени между сенситизацией и провокацией реакции. В настоящее время как наиболее специфичный и точный рассматривается тест Magnusson-Kligman. С методикой проведения исследований можно познакомиться в специальной литературе.

5. Выявления иммунотоксических эффектов

Не смотря на многочисленные данные об иммунотоксических свойствах веществ, получаемых на экспериментальных животных, в силу сложности экстраполяции, сведения о влиянии веществ на человека порой противоречивы. Кроме того далеко не у всех лиц, с признаками иммунотоксического поражения органов (гломерулонефрит, пневмониты, астма, аллергические дерматиты, гепатиты и т.д.) удается легко выявить химическую природу этиологического фактора, определить источник воздействия. Достаточно сложно отличить дисфункцию системы, как следствие какого либо заболевания или недостаточности питания, от химически обусловленной патологии. Поэтому для выявления иммунотоксичности вслед за этапом оценки иммунного статуса обследуемых лиц, должен следовать этап поиска доказательства причинно-следственных связей между выявленными нарушениями и действием токсиканта.

Исследования должны начинаться с тщательного обследования и сбора анамнеза. Необходимо особое внимание уделять выявлению классических проявлений и симптомов иммунных нарушений. Сложные лабораторные тесты могут обеспечить детальную информацию о состоянии гуморального и клеточного компонентов иммунитета, комплемента, фагоцитарных функций, однако проведение этих тестов в подавляющем большинстве случаев совершенно излишне. Для оценки состояния иммунной системы часто вполне достаточно использовать простые скрининговые методы. Необходимо иметь в виду, что вследствие высокой лабильности иммунной системы, получаемые в ходе обследования результаты, характеризуют её состояние только в данный момент времени.

5.1. Оценка иммунологического статуса

Для оценки статуса человека с предполагаемой иммунной патологией Иммунологическая секция ВОЗ рекомендует использовать тесты, представленные на таблице 11.

Таблица 11. Тесты клинического иммунологического скрининга

- Подсчет числа форменных элементов крови. Формула крови
- Количественный электрофорез плазмы крови

Гуморальный иммунитет:

- Количество иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA, IgE)
- Титры изоантител

Клеточный иммунитет:

- Кожные тесты на отсроченную гиперреактивность

Аутоиммунный процесс:

- Титр аутоантител

Эти исследования следует проводить перед тем, как переходить к более сложным и дорогим диагностическим процедурам (таблицы 12, 13).

Таблица 12. Методы оценки состояния гуморального иммунитета

Функция иммуноглобулинов:

- электрофорез белков
- количество иммуноглобулинов в плазме крови
- титр специфических антител (изогамаглобулины, антистрептолизин О, антитела к возбудителям свинки, кори, полиомиелиту)

- антигенный ответ:

- первичное антителообразование
- вторичное антителообразование

Функция В-лимфоцитов:

- количество В-лимфоцитов с поверхностными иммуноглобулинами (нормальное содержание 4 -10%)
- активация В-лимфоцитов (реакция на митогены, инактивированные антигены, индукцию клеточного деления)
- пролиферация В-лимфоцитов (измерение интенсивности пролиферации путём изучения скорости инкорпорации тимидина, меченого тритием)
- дифференциация В-лимфоцитов (определение колоний антителосекретирующих клеток или определение количества антител в супернатанте культуры клеток; определение продукции иммуноглобулинов индуцированной митогенами Т- и В-лимфоцитов)

Таблица 13. Методы оценки состояния клеточного иммунитета

Подсчёт лимфоцитов

Тесты на трансформацию лимфоцитов:

- стимуляция митогенами
- воздействие антигенов
- смешанная культура лимфоцитов

Определение лимфокинов:

- фактор ингибирования макрофагов
- фактор угнетения миграции лимфоцитов
- лимфоцитарный хемотаксический фактор

Кожные тесты на отсроченную гиперчувствительность (антигены: свинка, трихофитон, тетанотоксид и др.)

Лимфоцитарная цитотоксичность, активность естественных киллеров

Субпопуляции Т-клеток: соотношение хелперы/супрессоры

Электрофорез белков позволяет быстро установить нормально ли у обследуемого содержание иммуноглобулинов, нет ли дисгаммаглобулинемии. Гипогаммаглобулинемия обычно является следствием вторичного иммунного дефицита. Определение иммуноглобулинов даёт прямую информацию о наличии или отсутствии моноклональной или поликлональной гаммаглобулинопатии. Основными типами иммуноглобулинов являются IgG, IgM, IgA, IgE их определение оправдано в тех случаях, когда частью клинического синдрома является аллергический компонент. Определение специфичных антител методологически сложно (методы энзимсвязанной иммуносорбции). Наиболее часто развивается дефицит IgA, причем в 50% случаев при этом отсутствуют признаки патологии. Функция этого иммуноглобулина - защита слизистых барьеров организма от инфекции.

Нарушение клеточного иммунитета можно выявить, ориентируясь на симптомы заболеваний, ассоциирующихся с функциями этого механизма резистентности. Как известно, к числу таких функций относятся: уничтожение внутриклеточных патогенных организмов, отторжение опухолевых клеток, отсроченные реакции гиперреактивности, в том числе контактные дерматиты, аутоиммунное повреждение органов и тканей. Наиболее часто дефицит клеточного иммунитета проявляется учащением инфекционных заболеваний вирусной и грибковой этиологии.

Любое уменьшение числа Т-лимфоцитов, выявляемое при подсчете формулы крови, до уровня 75 - 85% от нормального значения, называется лимфопенией. Определение числа Т-лимфоцитов различных типов производится путем подсчета розеток, образуемых с эритроцитами барана и с помощью флюоресцирующих моноклональных антител к зрелым Т-лимфоцитам.

Тест на трансформацию лимфоцитов можно провести *in vitro* с использованием митогенов (фитогемагглютинин и др.) и растворимых антигенов, добавляя их к культуре клеток.

Кожные тесты на отсроченную гиперреактивность могут быть выполнены с использованием обычных антигенов, таких как антиген возбудителя свинки, *Trichophyton*, *Candida albicans*. Эритематозная кожная реакция с индурацией ткани, размером более 10 мм, спустя 24, 48, и 72 часа после инъекции 0,1 мл антигена под кожу ладонной поверхности предплечья указывает на серьёзную модификацию клеточных механизмов иммунитета (антиген был распознан лимфоцитами, произошла его процессия, активированы Т-клетки, секретированы лимфокины, произошло привлечение в регион несенсиitized лимфоцитов). Позитивный кожный тест на 3 из 5 вводимых антигена выявляется у 95% населения и указывает на адекватную физиологическую реакцию иммунной системы. Отрицательный результат может быть следствием не только дефекта иммунной системы, но и неправильно выполненной пробы. Важнейшим элементом постановки кожного теста является стандартизация используемых антигенов.

Определение аутоантител может оказаться полезным при диагностике системных заболеваний соединительной ткани, активной фазы хронического гепатита, красной волчанки и т.д. Обычно выявляемые антитела специфичны в отношении ядер клеток, ДНК, структурных элементов гладкомышечных волокон, клеток щитовидной железы. Антитела к ядрам клеток иногда определяются у здоровых людей (особенно пожилого возраста), а также у больных ревматизмом. Проявления иммунной токсичности ксенобиотиков очень часто ошибочно принимаются за аутоиммунные заболевания и хронические воспалительные процессы иной этиологии.

С диагностическими целями может быть изучено содержание специфических антител к антигенам, с которыми человек, как правило, контактировал на протяжении жизни. К числу таких антител относятся изогемагглютинины, антистрептолизин-О, антитела к кори, свинке, полиомиелиту и т.д. Для оценки функционального состояния иммунной системы возможно использовать метод изучения иммунного ответа на первичный контакт с антигеном, а также выраженность вторичной иммунной реакции. Обычно исследование проводят путем повторного введения тетанотоксоида с измерением титра вырабатывающихся антител. К действию иммуносупрессоров более чувствительна иммунная реакция на первичный контакт с антигеном.

Дефицит отдельных компонентов системы комплемента может сочетаться с различными заболеваниями. Показаниями для изучения состояния комплемента являются: частые инфекционные заболевания, системные бактериальные инфекции, подозрения на аутоиммунный процесс. Ряд клинических синдромов связан с неадекватной активацией комплемента. Это, например, хроническая уртикарная сыпь, кожные васкулиты, пурпура, артралгии, артриты, лихорадочные состояния неизвестной природы, нефриты. Снижение содержания в сыворотке крови компонента С4 указывает на недостаточную активацию системы комплемента. Активация системы комплемента и наличие высокого титра антител указывает на патологию иммунного комплекса и аутоиммунный процесс. Позитивная реакция на иммунные комплексы, наличие аутоантител, активация комплемента - свидетельства органной патологии.

Полная оценка фагоцитарных функций иммунной системы включает:

- подсчет числа нейтрофилов в периферической крови;
- определение скорости восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) нейтрофилами;
- изучение хемотаксиса клеток;
- изучение фагоцитарной активности;

Для выявления нарушений нет необходимости проводить все указанные определения. Снижение количества полиморфноядерных нейтрофилов до уровня 1000 и ниже в 1мм³ крови сопряжено с увеличением риска развития инфекционного процесса.

Лейкопению вызывает большое число этиологических факторов, среди них инфекция, токсиканты, ионизирующее излучение. Причиной нейтропении при действии ксенобиотиков (см. раздел "Гематотоксичность") могут быть угнетение костного мозга и аутоиммунный процесс, развивающийся при повторном контакте с токсикантом.

ГЛАВА 6.2. ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ

Мутации - это наследуемые изменения генетической информации, хранящейся в ДНК клеток. Различные факторы химической и физической природы способны вызывать мутации. Наиболее изученными являются последствия действия ионизирующей радиации и таких веществ, как сернистый и азотистый иприты, эпоксиды, этиленимин, метилсульфонат и т.д. **Химические вещества, способные вызывать мутации называются мутагенами.**

Далеко не всякая модификация молекулы ДНК (мутация) является опасной для организма. Более того, эволюция была бы не возможна без мутаций, поскольку именно она лежит в основе изменчивости. Опасность представляет случайный, ненаправленный мутагенез, как правило, несущий для организма негативные последствия. Неблагоприятные эффекты мутагенеза определяются тем, в клетках какого типа он реализуется: половых или соматических, стволовых и делящихся или созревающих и зрелых. Результатом грубых мутаций половых клеток и делящихся клеток развивающегося плода являются: стерильность особи, врожденная патология у потомства, тератогенез, гибель плода. Мутации стволовых и делящихся соматических клеток сопровождаются структурно-функциональными нарушениями тканей с непрерывной физиологической регенерацией (система крови, иммунная система, эпителиальные ткани) и канцерогенезом. Повреждение токсикантом ДНК зрелой соматической клетки не приводит к пагубным последствиям для организма.

Основными видами мутаций, вызываемых химическими веществами, являются: 1) точечная мутация, связанная с модификацией одного нуклеотида в структуре ДНК, (замещение нуклеотида, выпадение нуклеотида из цепи, включение дополнительного нуклеотида в цепь); 2) хромосомные aberrации, т.е. изменение структуры хромосом (разрывы молекул ДНК, транслокации фрагментов ДНК) или числа хромосом в клетке.

1. Точечные мутации

1.1. Замещение нуклеотида

Минимальным повреждением ДНК является замещение нуклеотида или нуклеотидной пары, называемое точечной мутацией. Если нуклеотид замещается на другой нуклеотид того же типа, например, пуриновое основание на пуриновое основание или пиримидиновое - на пиримидиновое, мутация называется транспозицией. Если пуриновое основание замещается пиримидиновым или наоборот, говорят о трансверсии. При действии химических веществ на организм точечная мутация происходит тремя способами: путем химической модификации нуклеотида, действием на нуклеотиды алкилирующих агентов, включением в цепь ДНК токсиканта - аналога азотистого основания.

Примером химической модификации является изменение нуклеотида азотистой кислотой. HNO_2 способна превращать цитозин в урацил или аденин в гипоксантин (рисунок 1). Такой тип мутации выявлен в опытах с фагами, бактериями, микромицетами. У млекопитающих он возможен при действии активных в химическом отношении веществ, прежде всего на барьерные ткани (например, эпителий желудочно-кишечного тракта).

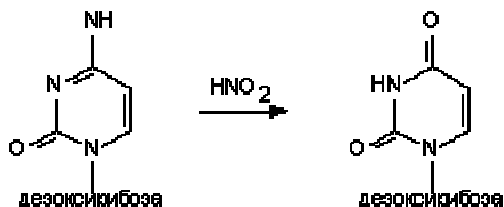


Рисунок 1. Превращение цитидина в уридин под влиянием азотистой кислоты

Алкилирующими агентами называются вещества, способные ковалентно присоединять алкильные радикалы к активным группам нуклеотидов ДНК. Такой способностью обладают сернистый и азотистый иприты, многие промышленные токсиканты, лекарственные (противоопухолевые) препараты (производные дихлорэтиламина: циклофосфамид, мелфалан; производные нитрозомочевины: кармустин, ломустин; алкилсульфонаты: бисульфан; цисплатин и т.д.) (рисунок 2).

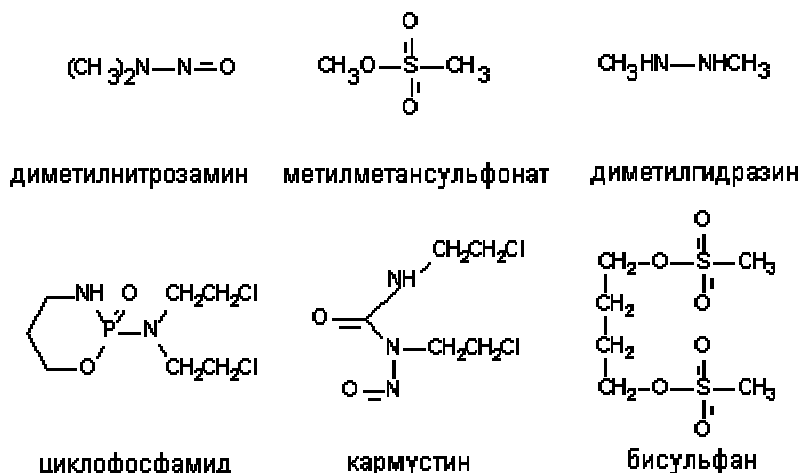


Рисунок 2. Структура некоторых алкилирующих агентов

К числу активных групп пуриновых и пиримидиновых оснований, способных к алкилированию относятся азот в 1, 3, 7 положениях молекулы аденина; азот - в 3,7, и кислород в 6 положении молекулы гуанина; азот - в 3 и кислород - во 2 - цитозина; азот - 3 и кислород - 2 и 4 - тимина (рисунок 3). Помимо азотистых оснований алкилированию могут подвергаться фосфатные группы молекулы ДНК.

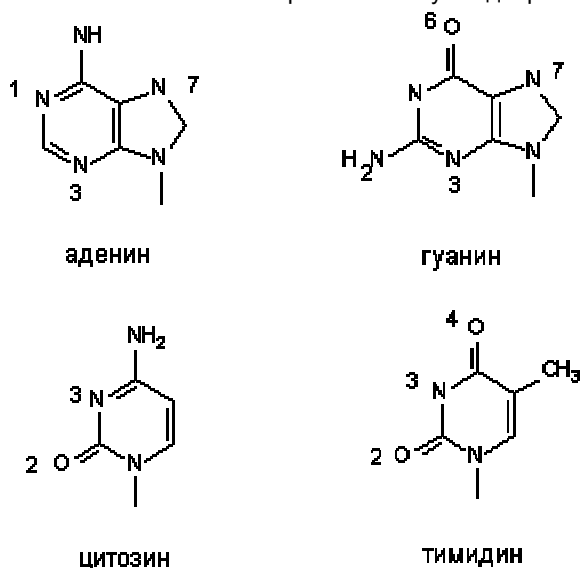


Рисунок 3. Участки наиболее вероятного алкилирования ДНК в физиологических условиях

Некоторые вещества, используемые в настоящее время в качестве противоопухолевых средств, являются структурными аналогами пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в ДНК. Поступая в организм, они включаются в синтез ДНК опухолевыми клетками, замещают генуинные нуклеотиды, вызывая летальные мутации. Результатом этого является гибель быстро делящихся клеток опухолей. К числу таких веществ относятся 5-бромурацил, 5-фтордезоксифуридин, 2-аминопурин, 6-меркаптопурин и т.д. Поражение этими веществами здоровых клеток организма, находящихся в фазе деления, может приводить к их мутациям (и пагубным последствиям для организма).

1.2. Выпадение или включение дополнительного нуклеотида

Выпадение или включение дополнительного нуклеотида в структуру ДНК кардинальным образом изменяет триплетный код, с помощью которого храниться информация о последовательности аминокислот в синтезируемом белке. Поскольку выпадение или включение основания приводит к "сдвигу" всей последовательности нуклеотидов (рисунок 4) последствия такой мутации, как правило, пагубны.

ACA* AAG AGU CCA UCA



ACA AGA GUC CAU CA

Рисунок 4. Выпадение аденина (A*) приводит к сдвигу цепи нуклеотидов влево и полному изменению триплетного кода

Некоторые токсиканты, например производные акридина, способны вызывать подобные изменения в структуре ДНК.

1.3. Репарация ДНК

Клетки обладают способностью корректировать и устранять повреждения ДНК. Вследствие этого лишь небольшое число мутаций, инициированных токсикантом, сохраняется в процессе репликации молекулы. Однако если мутация не распознана, извращенная информация транскрибируется в РНК, а затем экспрессируется в форме неполноценного протеина. Последствия этого для клетки могут быть либо незначительными, либо критичными, в зависимости от функций, выполняемых протеином.

Ряд ферментов, участвующих в репарации поврежденных ДНК, в настоящее время хорошо изучен (см. выше). Например, метилтрансферазы принимают участие в деметилировании О-6-метилгуанина. Гликозилазы расщепляют связи между азотом-9 пурина, подвергшегося алкилированию, образуя участки депуринизированной ДНК. Фрагменты нуклеиновой кислоты, состоящие, как правило, из 3 - 4 нуклеотидов, включая депуринизированный участок, вырезаются из цепи спомощью эндонуклеаз. В дальнейшем удаленные фрагменты заполняются при участии ферментов ДНК-полимераз и "встраиваются" в общую цепь с помощью ДНК-лигаз. Сбои в этом механизме могут приводить к повреждению генетического кода клеток.

2. Хромосомные aberrации

Для обозначения процессов, приводящих к делеции (выпадению), перестройке фрагментов хромосом или появлению дополнительных хромосом, которые выявляются с помощью световой микроскопии клеток, используют термин - кластогенез. Наиболее частой формой кластогенеза являются разрывы хромосом, которые вызываются, например, действием ионизирующего излучения и многих химических веществ. Алкилирующие агенты, особенно содержащие две функциональные группы в молекуле (сернистый,

кислородный, азотистый иприты и их производные и аналоги, бисульфан, кармустин и т.д.), образуя поперечные связи с обеими цепочками молекулы ДНК, могут вызвать её разрыв. В основе разрыва лежит депуринизация поврежденных нуклеотидов соседствующих фрагментов обеих нитей ДНК, с последующим их одновременным вычлениванием с помощью эндонуклеаз (см. выше). Ферментом, принимающим участие в последующей репарации поврежденной ДНК, является поли-АДФ-рибозилполимераза. Аккумуляция в ядре клетки фрагментов ДНК активизирует энзим. Субстратом для образования АДФ-рибозилата, необходимого для восстановления целостности макромолекулы, является никотинамидадениндинуклеотид (НАД). Если ДНК повреждается значительно, на её репарацию расходуется большое количество НАД, что приводит к истощению запасов нуклеотида в клетке и острому энергетическому дефициту. Полагают, что этот феномен также может лежать в основе гибели клеток, подвергшихся действию мутагенов (например, иприта).

В ходе "сшивания" двунитевых разрывов хромосом весьма вероятны ошибки. Основные виды нарушений, возникающих при этом, это делеция, транслокация и инверсия частей хромосом.

Увеличение числа хромосом в клетке может явиться следствием нарушения процесса их разделения в ходе митоза между двумя дочерними клетками. В итоге образуются клетки с большим или меньшим числом хромосом. Иногда кратно увеличивается весь набор хромосом. Это явление называется - полиплоидия. Ряд химических веществ вызывают полиплоидию. К числу наиболее изученных относится колхицин (рисунок 5), связывающийся с мономерами тубулина, блокирующий его полимеризацию и за счет этого нарушающий образование митотических веретен.

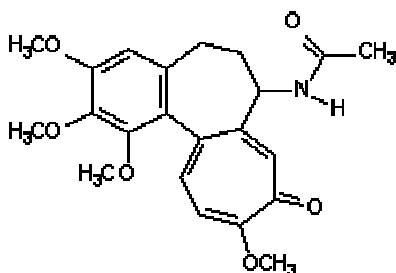


Рисунок 5. Структура колхицина

Колхицин блокирует митоз в метафазе, вызывая полиплоидию поврежденной клетки. Другими примерами веществ, действующих подобным образом, являются производные алкалоида винкамина (винкристин, винбластин) и подофилотоксин. Полиплоидия у млекопитающих, как правило, является летальной мутацией (в отличие от растений).

3. Условия действия мутагенов на клетки

Все клетки организма находятся в одной из фаз клеточного цикла:

1. Покоя (фаза G₀): клетка функционирует или покоится (большинство соматических неделящихся клеток);

2. Синтеза клеточных компонентов, необходимых для последующего синтеза ДНК (фаза G₁): идет накопление необходимого количества пуриновых и пиримидиновых оснований и других химических компонентов ДНК. В делящейся клетке процесс занимает до 40% общего времени цикла клеточного деления;

3. Синтеза ДНК (фаза S): осуществляется "сборка" новой молекулы ДНК из находящихся в клетке компонентов. Процесс занимает до 39% времени клеточного цикла.

4. Синтеза клеточных компонентов для митоза (фаза G₂). В частности синтезируются мономеры и полимер тубулина и т.д. Процесс занимает около 19% времени цикла делящейся клетки.

5. Митоза (фаза M): разделение генетического материала между вновь образующимися дочерними клетками; клеточное деление. Процесс занимает 2% времени.

Часть химических вещества способны вызывать мутации лишь тех клеток, которые находятся в определенной фазе цикла, это так называемые цикло-специфичные вещества. Другие действуют на генетический аппарат не зависимо от того, в каком периоде клеточного цикла находится клетка (цикло-неспецифичные). Такая особенность в действии веществ определяется механизмом, посредством которого токсикант повреждает ДНК (см. выше). К числу цикло-неспецифичных принадлежат мутагены, способные вызывать химическое повреждение нуклеотидов (алкилирующие агенты и химические модификаторы нуклеотидов). Все остальные мутагены являются цикло-специфичными.

4. Изучение мутагенной активности

Изучение мутагенной активности химических веществ осуществляется в опытах *in vitro* на прокариотических и эукариотических клетках, путем непосредственного изучения степени повреждения ДНК, и выявления хромосомных aberrаций у животных, подвергшихся действию токсикантов.

4.1. Исследования в опытах на прокариотах. Тест Эймса

В основе теста, разработанного Брюсом Эймсом, лежит способность мутагенов вызывать обратную мутацию измененного штамма *Salmonella typhimurium*, неспособного к биосинтезу гистидина. Микроорганизмы данного штамма не растут в среде, не содержащей гистидин, однако под влиянием мутагенов вновь приобретают эту способность, свойственную исходному штамму сальмонелл (обратная мутация). В настоящее время созданы специальные штаммы, позволяющие выявлять мутации типа "замещение основания" (штамм TA-1531) и типа "сдвиг цепи нуклеотидов" (штамм TA-1537, TA-1538).

Тест осуществляется на суспензии бактериальных клеток в расплавленном при 45° агаре. В инкубационную среду (не содержащую гистидин) добавляют токсикант. К части проб добавляют также фракцию микросом, выделенных из гепатоцитов крыс, предварительно обработанных полихлорированными бифенилами, с целью индукции цитохромов P-450 (фракция S-9). Смеси разливают по чашкам Петри. Число

бактерий, приобретших вследствие обратной мутации способность синтезировать гистидин, оценивают путем подсчета колоний, развившихся в инкубате. Исследуемое вещество оценивается в нескольких концентрациях (установление дозовой зависимости эффекта). В итоге получается информация о наличии мутагенности у исходного вещества (среды без фракцииS-9) и его метаболитов (среды, содержащие фракциюS-9). Недостатком метода является сложность получения количественных характеристик мутагенной активности обследуемых веществ для млекопитающих и человека.

В настоящее время тестирование проводят и на других биологических объектах (прямая и обратная мутация *Escherichia coli*, прямая мутация сальмонелл).

4.2. Исследования в опытах на клетках млекопитающих

Первоначально считалось, что культуры клеток млекопитающих будут идеальным объектом для изучения мутагенной активности токсикантов. Однако в процессе работы, вскрылись обстоятельства поколебавшие эти представления. Прежде всего клетки многих тканей трудно культивировать, у многих из них практически отсутствует способность к клонированию, метаболическая активность клеток недостаточна. В настоящее время в исследованиях предпочтение отдают культурам клеток перевиваемых линий (например, овариальные клетки китайского хомячка, клетки мышины лимфомы и т.д.). Однако чувствительность этих клеток к ксенобиотикам уже отличается от чувствительности клеток первичных тканевых культур.

Исследования по оценке мутагенности обычно проводят, изучая изменения резистентности клеток к: 8-азагуанину или 6-тиогуанину (определяется активностью гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы - ГГФРТ); бромдезоксигуанидину или трифтортимидину (определяется активностью тимидинкиназы - ТК); оуабаину (определяется активностью Na/K-АТФазы).

ГГФРТ регулирует инкорпорацию пуринов из среды в клетку. Мутация локуса ДНК, ответственного за синтез энзима, приводит к угнетению ферментативной активности, прекращению транспорта пуринов в клетку, в том числе и их токсичных аналогов. Мутировавшие клетки выживают в среде, содержащей аза- и тиогуанины.

ТК активирует транспорт пиримидинов. Мутация лкуса ДНК, ответственного за синтез ТК, делает клетку не чувствительной к токсическому действию токсичных аналогов пиримидина.

Оуабаин убивает клетки, взаимодействуя с Na/K-АТФазой. Мутация локуса, ответственного за синтез этого энзима изменяет его сродство к токсиканту, увеличивает резистентность клетки к яду.

Наиболее часто используется модель мутации ТК локуса в опытах с культурой клеток мышины лимфомы (иногда с добавлением в инкубационную средуS-9 фракции гепатоцитов). После воздействия исследуемого токсиканта оценивается количество клеток, способных образовывать колонии в среде, содержащей бромдезоксигуанидин.

В настоящее время описано множество других тест-объектов, на которых можно проводить подобные исследования.

4.3. Оценка индукции синтеза ДНК клетками млекопитающих

Принцип метода заключается в оценке интенсивности репаративных процессов, инициируемых химическим повреждением ДНК. В основе метода лежит автордиографическое определение степени инкорпорации меченного тритием тимидина в ядра клеток, предварительно обработанных обследуемым веществом.

Исследования обычно выполняются на гепатоцитах взрослых крыс самцов, диспергированных в инкубационной среде с последующей спонтанной адгезией на стеклянные подложки. В качестве положительного контроля используют гепатоциты, обработанные веществами, вызывающими повреждение ДНК и стимулирующими процесс её репарации: афлатоксином В₁ или 2-ацетиламинофлюореном; отрицательные контроли - гепатоциты не подвергавшиеся воздействию. Перед исследованием клетки на определенное время помещают в среду, содержащую обследуемый токсикант. Выбор концентрации вещества осуществляется в ходе предварительных опытов, путем определения кривой зависимости "доза-эффект" по показателю жизнеспособность клеток (окраска обработанных веществом клеток трипановым синим). После воздействия клетки отмывают и помещают в среду, содержащую тимидин, меченый тритием. После инкубации их высушивают, фиксируют и покрывают эмульсией для автордиографического исследования. Спустя определенный экспозиционный период (обычно несколько недель) производят подсчет числа оптически плотных гранул над областью ядра клеток, отражающих степень инкорпорации тимидина. Поскольку гепатоциты обладают высокой способностью к репарации, чем выше степень инкорпорации тимидина, тем большее повреждение ДНК вызвал исследуемый агент.

Недостатком метода является то, что с его помощью невозможно оценить, приводит ли процесс репарации к формированию ошибок генетического кода (формируются ли мутации), то есть решить, является ли инициированное повреждение ДНК пагубным для клетки.

4.4. Исследование ковалентного связывания токсикантов

Поскольку многие мутагены способны образовывать ковалентные связи с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями молекул ДНК (аддукты ДНК), выявление аддуктов ДНК является прямым свидетельством генотоксичности ксенобиотика. Нейнвазивные методы предполагают выявление аддуктов в моче животных, подвергшихся воздействию токсикантов; инвазивные - выделение органов и тканей отравленных животных, экстракцию из гомогенатов тканей ДНК и нуклеотидов, с последующим их химическим (иммунохимическим) анализом.

4.5. Изучение хромосомных aberrаций

Хромосомные aberrации, вызванные действием химических веществ, могут быть выявлены путем окрашивания клеток и последующего изучения с помощью обычного светового микроскопа. Для исследования могут использоваться культуры клеток (например, яичника китайского хомячка), обработанные изучаемым токсикантом по одной из схем, описанных выше, клетки костного мозга или лимфоциты периферической крови млекопитающих, которым токсикант вводили *in vivo*. Виды выявляемых

мутаций при этом включают: выпадение хроматидов, разрывы хромосом, делеции хромосом, появление хромосомных фрагментов, транслокации, полиплоидии.

Одним из широко используемых методов выявления генотоксичности является так называемый "микронуклеарный тест". Микроядра представляют собой фрагменты хромосом или целые хромосомы, не включенные в состав ядра, в ходе митотического деления клетки. Как правило, образование микроядер провоцируется веществами, вызывающими разрывы хромосом (кластогенные агенты) и токсикантами, повреждающими белки митотического веретена (см. выше). Токсиканты обычно вводят в дозах, составляющих 0,1 или 0,5 ЛД₅₀. Контролем служит растворитель. У животных (как правило, мышей), подвергшихся действию химического вещества, после умерщвления, осуществляют забор костного мозга, окрашивают препарат и подвергают его микроскопии. Забор материала производят в течение определенного времени с интервалом 2 суток после прекращения (или на фоне продолжающегося) введения токсиканта. Количество клеток, содержащих микроядра, в препаратах костного мозга, полученных от животных разных групп, подсчитывают и сравнивают.

Повреждение герменативного эпителия (нарушения сперматогенеза) токсикантом может быть выявлено в опытах на крысах, мышах, хомячках. Самцам лабораторных животных изучаемый токсикант вводят в течение времени, необходимого для реализации полного цикла сперматогенеза, периодически (раз в неделю), спаривая их с самками разных групп. Самки умерщвляются спустя 2 недели после спаривания. Исследуются: состояние желтых тел яичников, соотношение живых и погибших эмбрионов. Конечными характеристиками оценки мутагенеза являются: индекс оплодотворяемости (отношение оплодотворенных самок к общему числу, спарившихся с самцами), преимплантационные потери (соотношение числа имплантировавшихся эмбрионов к числу желтых тел в яичниках), количество животных с мертвыми имплантатами относительно общего числа беременных самок, количество погибших имплантатов к общему количеству имплантатов.

Наследуемые мутации могут быть выявлены путем прямого исследования клеток потомства (на различных стадиях развития) самок или самцов, подвергшихся воздействию токсикантов.

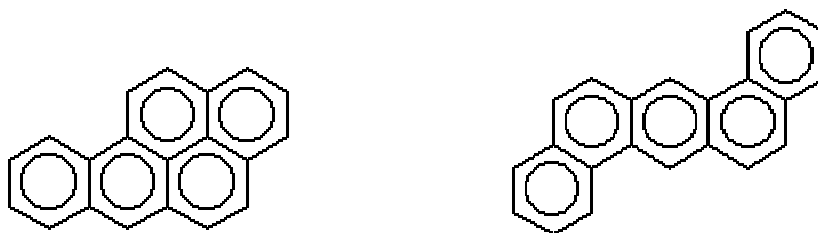
Описание других, более сложных методов исследования, можно найти в специальной литературе.

ГЛАВА 6.3. ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Канцерогенами называются химические вещества, воздействие которых достоверно увеличивает частоту возникновения опухолей или сокращает период их развития у человека или животных.

Судьба этих веществ в организме, как и других ксенобиотиков, подчиняется общим законам токсикокинетики. Однако в действии на организм им присущ ряд особенностей. Так, развивающиеся под их влиянием эффекты носят отсроченный характер и являются следствием, как правило, длительного кумулятивного действия в малых дозах. Активность рассматриваемой группы веществ в отношении молекул - носителей наследственности в известной степени уникальна.

Первым, кто осознал возможность химической этиологии рака, был Percival Pott. В 1775 году им описан рак мошонки у ряда пациентов. Все они били трубочистами, что и натолкнуло доктора Pott на мысль, что длительный контакт кожи с сажей, может приводить к развитию рака. 100 лет спустя высокая частота рака кожи была выявлена у немецких рабочих, имевших длительный контакт с каменноугольной смолой - основным ингредиентом сажи. Позже было установлено, что веществами, содержащимися в смолах, и обладающими канцерогенной активностью, являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Характерные особенности строения этих соединений отражают структуры классических представителей группы: бензо(а)пирена и дибенз(а,һ)антрацена (рисунок 1).



бензо(а)пирен дибенз(а,һ)антрацен

Рисунок 1. Типичные представители группы полициклических углеводородов

В 1935 году была доказана канцерогенная активность целого ряда азокрасителей. В 1937 году в опытах на собаках удалось показать, что ароматические амины, и в частности 2-нафтиламин, способны вызывать опухоли мочевого пузыря. Высокая частота случаев этого новообразования у рабочих, контактировавших с некоторыми красителями, была показана ещё в 19 веке.

Следует различать понятия "канцерогенная активность" ("канцерогенность") и "канцерогенная опасность" вещества. Канцерогенная активность свидетельствует о способности вещества индуцировать развитие злокачественных новообразований, позволяет осуществлять сравнение веществ по этому признаку при непосредственном воздействии их на биологический объект. Канцерогенная опасность включает в себя дополнительные условия: распространенность вещества, возможность контакта с ним, его стабильность в окружающей среде или в местах потенциальных контактов и др.

1. Краткая характеристика канцерогенов

В настоящее время около 20 веществ, достаточно широко используемых в промышленности, отнесены к числу канцерогенов для человека (однако этот список постоянно увеличивается). Кроме того, убедительно доказано, что работа на целом ряде производств сопряжена с риском канцерогенеза, хотя конкретные причины (вещества), провоцирующие процесс не установлены. Это производства по синтезу аминов (рак мочевого пузыря), обработка изделий из хрома (рак лёгких), кадмия (рак простаты), никеля (рак слизистой полости носа и лёгких), резины (рак легких), гематитовые шахты (рак лёгких). Данные о смертности от новообразований, сопряженных с профессиональной деятельностью противоречивы. По оценкам специалистов США она может составлять от 5 до 20% всех смертей от рака в этой стране.

В ряде случаев канцерогенез есть результат сочетанного действия ксенобиотиков. Так, ведущим канцерогенным фактором для человека является табачный дым. Показано, что около 90% случаев рака лёгких есть следствие неумеренного курения. До 30% смертей от рака мочевого пузыря и желудочно-кишечного тракта также связано с этой привычкой.

Канцерогенными свойствами обладают некоторые вещества природного происхождения, например афлатоксины (провоцируют развитие рака печени). Высокое содержание афлатоксинов отмечается в продуктах питания, потребляемых жителями некоторых регионов мира (Африка, Восточная Азия). Здесь эти вещества поступают в организм человека в дозах, во много раз превосходящих канцерогенные для экспериментальных животных.

В материалах, опубликованных Международной Ассоциацией Исследований Рака (МАИР), содержится указание на более чем 60 вероятных и 150 возможных веществ, факторов и производств, контакт с которыми сопряжен с реальным риском развития новообразований (таблица 1). Национальный перечень содержит большее количество веществ (таблица 2). Еще обширнее перечень веществ, являющихся канцерогенами для животных. Все они также рассматриваются как источник потенциальной опасности для человека.

Таблица 1. Некоторые вещества и химические факторы, канцерогенные для человека (группа 1 по классификации МАИР)

Химический фактор		Органы-мишени
ПРИРОДНЫЕ	И	ПРОМЫШЛЕННЫЕ
КАНЦЕРОГЕНЫ		
1. 4-Аминобифенил		Мочевой пузырь

2. Асбест	Легкие, плевра, брюшина, желудочно-кишечный тракт, гортань
3. Афлатоксины	Печень, легкие
4. Бензидин	Мочевой пузырь
5. Бензол	Кроветворная система
6. Берилий и его соединения	Легкие, ЦНС
7. Бисхлорметиловый эфир и технический хлорметиловый эфир	Легкие
8. Винилхлорид	Печень, кровеносные сосуды, мозг, легкие, лимфатическая система
9. Горчичный газ (сернистый иприт)	Глотка, гортань, легкие
10. Кадмий и его соединения	Легкие, предстательная железа
11. Каменноугольные пеки	Кожа, легкие, мочевой пузырь, гортань, полость рта
12. Каменноугольные смолы	Кожа, легкие, мочевой пузырь
13. Минеральные смазочные масла	Кожа, легкие, мочевой пузырь, желудочно-кишечный тракт
14. Мышьяк и его соединения	Легкие, кожа
15. 2-Нафтиламин	Мочевой пузырь, легкие
16. Никель и его соединения	Полость носа, легкие
17. Радон и продукты его распада	Легкие
18. Сажи	Кожа, легкие
19. Сланцевые масла	Кожа, желудочно-кишечный тракт
20. Тальк, содержащий асбестовые волокна	Легкие
21. Хром шесивалентный и его соединения	Легкие, полость носа
22. Эрионит	Плевра, брюшина
23. Этилен-оксид	Кроветворная и лимфатическая системы
КАНЦЕРОГЕННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ:	
24. Азатиоприн	Лимфатическая система, мезенхима, кожа, гепатобиллиарная система
25. Анальгетические смеси, содержащие фенацетин	Мочевой пузырь, почки
26. 1,4-Бутандиол диметансульфонат (Милеран)	Кроветворная система
27. Диэтилстильбестрол	Шейка матки, влагалище, яички, молочная железа, матка
28. Контрацептивы (пероральные, применяемые циклически)	Матка
29. Контрацептивы (пероральные, комбинированные)	Печень
30. Заместительная эстрогенотерапия	Матка, молочная железа
31. Мелфалан	Кроветворная система
32. 8-Метоксипсорален (Метоксален) в сочетании с УФ-облучением	Кожа
33. МОРР (комбинированная терапия азотистым ипритом, винкристином, прокарбазином, преднизолоном)	Кроветворная система

34. Нестероидные эстрогены	Шейка матки, влагалище, яички, молочная железа, матка
35. Стероидные эстрогены	Матка, молочная железа
36. Тамоксифен	Матка
37. ТиоТЭФ	Кроветворная система
38. Треосульфат	Кроветворная система
39. Хлорамбуцил	Кроветворная система
40. N,N-Бис(2-хлорэтил)-2-нафтиламин (хлорнафазин)	Мочевой пузырь
41. 1-(2-Хлорэтил)-3-(4-метилциклогексил)-1-нитрозомочевина	Кроветворная система
42. Циклофосфамид	Мочевой пузырь, кроветворная система
43. Циклоспорины	Лимфатическая система
КАНЦЕРОГЕННЫЕ БЫТОВЫЕ ФАКТОРЫ:	
44. Алкогольные напитки	Глотка, пищевод, печень, гортань, полость рта, молочная железа
45. Бетель для жевания с табаком	Полость рта, глотка, пищевод
46. Соленая рыба, приготовленная китайским способом	Полость носа, глотка, желудок, пищевод
47. Табак (курение, табачный дым)	Легкие, мочевой пузырь, полость рта, гортань, глотка, пищевод, поджелудочная железа, почки
48. Табачные продукты для жевания	Полость рта, глотка, пищевод
КАНЦЕРОГЕННЫЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ	
49. Выплавка чугуна и стали	Легкие, желудочно-кишечный тракт, кроветворная система, мочеполовая система
50. Газификация угля	Кожа, легкие, мочевой пузырь
51. Подземная добыча гематита с экспозицией к радону	Легкие
52. Производство и ремонт обуви	Полость носа, кроветворная система, глотка, легкие, печень, желудочно-кишечный тракт, мочевой пузырь
53. Производственная экспозиция к красителям	Легкие
54. Производство алюминия	Легкие, мочевой пузырь, лимфатическая система
55. Производственные воздействия аэрозолей, содержащих серную кислоту	Полость носа, гортань, легкие
56. Производство аурамина	Мочевой пузырь, предстательная железа
57. Производство изопропилового спирта	Полость носа, гортань
58. Производство кокса	Кожа, легкие, почки
59. Производство мебели	Полость носа
60. Производство фуксина	Мочевой пузырь
61. Резиновая промышленность	Мочевой пузырь, кроветворная система, легкие, желудочно-кишечный тракт, кожа, лимфатическая система

(Цит. по Худолей В.В., Мизгирев И.В., 1996)

Таблица 2. Национальный перечень канцерогенов (перечень веществ, продуктов, производственных и бытовых факторов, канцерогенных для человека. - Москва СССР. - №6054-91 от 19.11.1991.)

I. Соединения и продукты, производимые и используемые промышленностью; природные канцерогены:

- 4-Аминобифенил ^{1,2,3 *}
- Асбест ^{1,2}
- Афлатоксины В1, В2, С1, С2 ²
- Бензидин ^{1,2,3 **}
- Бензол ^{1,3}
- Бенз(а)пирен ^{1,2,3}
- Бериллий и его соединения ¹
- Бисхлорметилловый и хлорметилловый эфиры ¹
- Винилхлорид ^{1,2}
- Возгоны каменноугольных смол и пеков ^{1,2,3}
- Иприт сернистый ¹
- Каменноугольная и нефтяная смолы ^{1,3}
- Каменноугольный и нефтяной пеки ^{1,3}
- Минеральные масла неочищенные или не полностью очищенные ^{1,2} (используются для смазки, теплопередачи и т.п.)
- Мышьяк и его неорганические соединения (триоксид, арсенат кальция, арсенит натрия, пентоксид, сульфид) ^{1,2,3}
- 1-Нафтиламин технический, содержащий более 0,1% 2-нафтиламина ^{1,2,3}
- 2-Нафтиламин ^{1,2,3}
- Никель и его соединения (никеля оксид, гидроксид, карбонил, хлорид, субсульфид, карбонат, никелоцен, сульфид, хромфосфат) ¹
- Смеси соединений никеля (файнштейн, никелевый концентрат и агломерат, оборотная пыль очистных устройств) ¹
- Сланцевые масла ^{1,3}
- Тальк, содержащий асбестовые волокна ¹
- о-Толуидин ^{1,2,3}
- Хрома шестивалентного соединения (хроматы, бихроматы, оксиды, карбонил, фосфат, хлорид, ацетат, сульфат) ¹
- Эрионит ¹

II. Лекарственные препараты и методы лечения:

- Азатиоприн
- Анальгетические смеси, содержащие фенацетин
- Мелфалан
- Комбинированная химиотерапия с использованием азотистого иприта, винкристина, прокарбазина, преднизолона и других алкилирующих агентов
- Милеран
- Треосульфат
- Хлорамбуцил
- 1-(2-Хлорэтил)-3-(4-метилциклогексил)-1-нитрозомочевина
- Циклофосфамид
- Эстрогены стероидные (эстрадиол-17 и его эфиры, эстриол, эстрон, этинил эстрадиол, местранол, конъюгированные эстрогены)
- Эстрогены нестероидные (диэтилстильбестрол, диеноэстрола, гексэстрола)
- Эстрогенсодержащие контрацептивы орального применения

III. Производственные процессы, связанные с опасностью развития злокачественных новообразований у рабочих ***

- Деревообрабатывающее и мебельное производство (машинная обработка древесины и мебельных заготовок в закрытых помещениях, фанерование)
- Медеплавильное производство (плавильный передел, конверторный передел, огневое рафинирование)
- Производство 1-нафтиламина, содержащего примесь 2-нафтиламина
- Производство изопропилового спирта
- Производство кокса, переработка каменноугольной, нефтяной и сланцевой смол, газификация угля
- Производство резиновых изделий
- Производство технического углерода
- Производство угольных и графитовых изделий, производство анодных и подовых масс, а также предварительно обожженных анодов для электролизеров алюминия
- Производство чугуна и стали (агломерационные фабрики, доменное и сталеплавильное производство, горячий прокат) и литье из них
- Электролитическое производство алюминия с использованием самоспекающихся анодов, капитальный ремонт электролизеров

IV. Бытовые факторы:

- Алкоголь

Табачный дым
Табачные продукты бездымные

Примечания: - - цифры означают основные пути поступления вещества или смесей веществ в организм:
1 - ингаляционный, 2 - пероральный, 3 - через кожу.

-- - производство и применение запрещено.

--- - помимо перечисленных к таким производствам относят также те, на которых имеется воздействие на человека веществ и продуктов, перечисленных в разделах I и II.

2. Классификации канцерогенов

Предложено классифицировать канцерогены по происхождению, химической структуре, степени участия в различных стадиях развития рака, по степени доказанности их канцерогенной активности и т.д.

1. Происхождение канцерогенов.

Природные канцерогены, это вещества, содержание которых в среде не зависит от деятельности человека. Их вклад в онкозаболеваемость считается незначительным. Так, установлено, что ежедневно на поверхность Земли высеивается около 170 т метеоритной пыли, в составе которой обнаруживаются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ).

На планете в настоящее время действует около 520 вулканов, их ежегодный выброс составляет 3-6 млрд. т химических веществ (аэрозоли, пепел, лава, газы). С пеплом в атмосферу может поступить до 12-24 т только одного бенз(а)пирена, не считая других ПАУ.

Обнаружены и описаны природные источники таких канцерогенов как мышьяк, асбест, афлатоксины, радионуклиды и др. Так, значительное число злокачественных новообразований кожи наблюдается на юго-западном побережье острова Тайвань, где население потребляет воду с высоким содержанием мышьяка - до 1,8 мг/л (ПДК в России - 0,05 мг/л).

Иногда канцерогены естественного происхождения могут накапливаться в организмах живых существ и растениях и по пищевым цепям попадать в организм человека (токсины сине-зеленых водорослей, афлатоксины).

Канцерогены антропогенного происхождения появились тогда, когда люди научились пользоваться огнем (около 500 тыс. лет назад). По-видимому, первыми искусственными канцерогенами были продукты пиролиза белков. Накопление канцерогенов в биосфере возрастало параллельно интенсификации промышленного производства. Процесс ускорился в последние десятилетия XX века. Например, производство бензола, вызывающего у людей лейкозы, составляет ежегодно 12 млн. т. Полихлорированных бифенилов произведено к настоящему времени 1,2 млн. т. Несмотря на запрещение выпуска и использования ПХБ их концентрация во всех средах биосферы и биообъектах не снижается. Суммарное поступление этих токсикантов в окружающую среду достигает 35% от произведенной массы. Из этого количества лишь 4% подвергается естественной деградации.

2. Химическая структура.

К канцерогенам относятся вещества, имеющие совершенно различное химическое строение (рисунок 2). Среди них ПАУ и гетероциклические соединения, ароматические азосоединения, ароматические аминокислоты, нитрозоамины и нитроамины, металлы, металлоиды и неорганические соли и др.

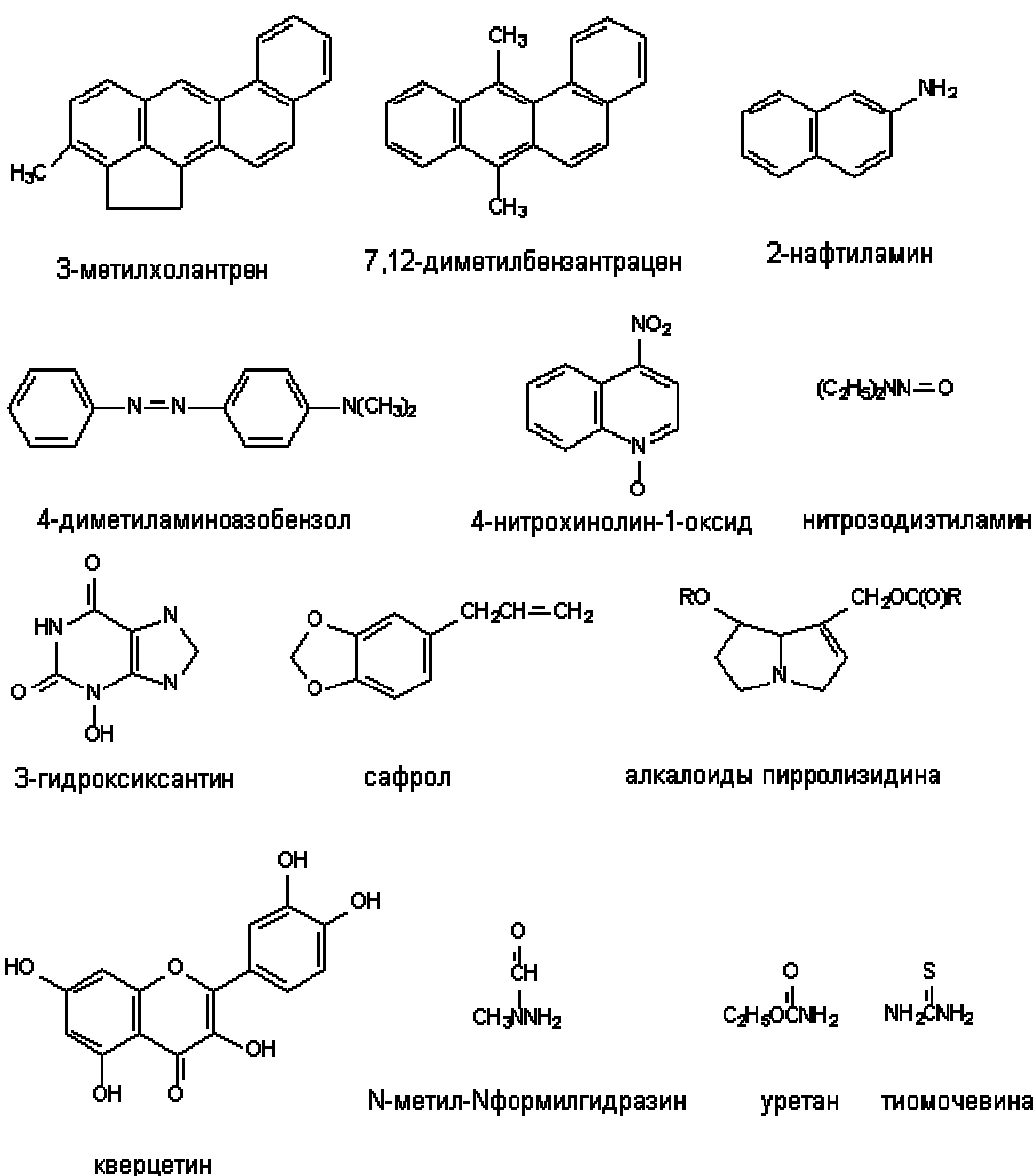


Рисунок 2. Структура некоторых канцерогенов, синтетических и естественного происхождения

3.Участие в различных стадиях развития рака (см. ниже).

4.Степень доказанности канцерогенной активности вещества.

Наиболее полный перечень веществ, исследованных на их канцерогенную активность, и соответственно их классификация принадлежит Международному Агентству Изучения Рака (МАИР, Лион, Франция). В нем представлены данные по более чем 800 соединениям. Список непрерывно пополняется.

Первая группа включает вещества, производственные или иные факторы, для которых имеются безусловные доказательства опасности возникновения опухолей у человека, то есть как минимум убедительные эпидемиологические данные (список веществ 1-й группы приведен выше). В эту группу вошло более 60 факторов, причем не только отдельные соединения, применяющиеся в быту, медицине, сельском хозяйстве, промышленности, но и сами производственные условия.

Вторая группа включает те факторы, которые "вероятно" (т.е. с высокой степенью доказанности) или "возможно" (с меньшей степенью доказанности) канцерогенны для человека. Эта группа делится на 2 подгруппы: 2А - 51 фактор (акрилонитрил, формальдегид, диметилсульфат, нитрозодиэтиламин и др.) и 2Б - 192 фактора (кобальт, ДДТ, акриламид, нитропирены, ПХБ и др.).

Третья группа включает 446 химических веществ, которые сегодня, на основании имеющихся данных, не могут быть отнесены к факторам канцерогенного риска для человека.

Четвертая группа - агенты, для которых существуют убедительные доказательства отсутствия канцерогенной опасности для человека (до недавнего времени здесь числилось только одно вещество - капролактан).

Перечень МАИР постоянно изменяется в результате проведения все новых и новых исследований. Он носит рекомендательный, а не обязательный характер. На территории Российской Федерации действует иной список канцерогенов, утвержденный Минздравом (приводится выше).

3.Стадии химического канцерогенеза

Индукция опухолевого роста химическими веществами - сложный, многостадийный процесс, включающий взаимодействие факторов окружающей среды и эндогенных факторов. Особенностью химического канцерогенеза является длительный период, отделяющий воздействие вещества,

вызывающего опухолевый рост, от появления опухоли. Длительность периода не может быть объяснена медленным процессом созревания опухоли, т.е. превращением её из микро- в макрообразование. В ходе этого периода в "поврежденной" клетке осуществляются сложные процессы, течение которых иногда не возможно без действия дополнительных веществ (или факторов), приводящие, в конечном итоге, к её неопластической трансформации. Канцерогенез проходит через несколько стадий перед тем, как окончательно сформируется собственно опухоль. В эксперименте, как правило, выделяют три таких стадии развития опухоли: инициации, промоции, прогрессии.

Инициация опухолевого роста. Процесс непосредственного действия канцерогена на клетки, запускающий их трансформацию, называется инициацией опухолевого роста.

Впервые термин инициация был предложен в 1941 году Rous и Kidd для обозначения манипуляции, состоящей в аппликации смолы на кожу уха кролика, с целью вызвать в дальнейшем опухолевый рост. Как правило, в эксперименте для провокации неоплазмы, лишь инициации недостаточно. Необходимы и другие условия, которые определяются видом экспериментального животного, факторами окружающей среды.

Стадия инициации включает быстрое, практически необратимое повреждение генетического материала клеток, предрасполагающее их к последующему неопластическому развитию (см. разделы "Механизм действия", "Мутагенез"). Поврежденные клетки называются "иницированными" и нуждаются в периоде репликации генетического материала, с тем, что бы зафиксировать вызванные изменения (мутации). В соответствии с существующими представлениями, иницированная клетка может длительное время оставаться в состоянии покоя, не проявляя агрессии, до тех пор, пока не подействует другой (другие) фактор, побуждающий клетку к делению, клонообразованию и, тем самым, формированию опухоли.

Характерными особенностями действия инициаторов являются:

- необратимость;
- куммулятивность;
- отсутствие морфологических проявлений;
- зависимость эффекта от особенностей метаболизма клетки и фаз её клеточного цикла;
- беспороговость.

Промоция опухолевого роста. Процесс, в ходе которого иницированная клетка завершает неопластическую трансформацию называется промоцией.

Промоторы, это вещества, в строгом смысле слова, не являющиеся канцерогенами, однако их воздействие необходимо для развития опухоли. Полагают, что промоторы осуществляют экспрессию трансформировавшихся генов, что и приводит в последующем к манифестации неопластического превращения иницированной клетки. В качестве промоторов могут выступать гормоны, лекарственные препараты, продукты жизнедеятельности растений, которые вступают во взаимодействие с клеточной мембраной, рецепторными структурами ядра или цитоплазмы иницированной клетки и побуждают её к делению. Примеры структур некоторых промоторов представлены на рисунке 3.

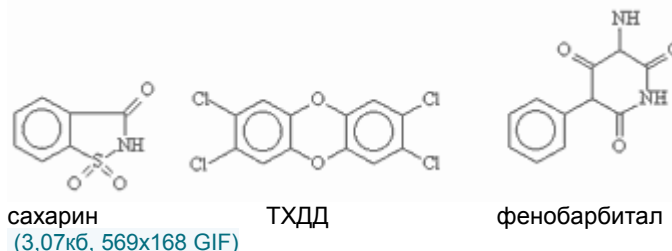


Рисунок 3. Примеры химического строения некоторых промоторов

Многие промоторы являются органо-специфичными. Так, сахарин - промотор экспериментальных опухолей мочевого пузыря крыс, иницируемых метилнитрозомочевинной; фенобарбитал, ТХДД - промоторы опухолей печени. Помимо указанных на рисунке 3, промоторами являются, например, эфиры форбола, (промотируют опухоли кожи), желчные кислоты (промоторы опухолей толстой кишки у экспериментальных животных), некоторые гормоны (пролактин ускоряет в эксперименте развитие опухоли молочной железы, иницируемой диметилбензантраценом), пищевые жиры, табачный дым, асбест, галогенированные углеводороды, алкоголь, и т.д.

Классический пример действия промоторов может быть представлен в эксперименте. На кожу спины мышам апплицируют диметилбенз(а)антрацен в количествах практически не увеличивающих вероятность появления опухоли в течение всей жизни животных. Спустя неделю (и более) на пораженный участок начинают периодически наносить эфиры форбола (например, 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат). В результате опухоли начинают появляться уже спустя 5 - 6 недель после начала действия промотора, а у большинства животных опухолевый рост выявляется в течении 12 недель.

Целый ряд канцерогенов являются одновременно и инициаторами и промоторами опухолевого роста (полные канцерогены) (рис. 3).

Действие промоторов характеризуется следующими особенностями:

- обратимостью и неаддитивностью;
- наличием морфологических проявлений опухолевого роста;
- пороговостью;
- модулируемостью факторами окружающей среды.

У человека развитие неоплазмы, по сути, может быть в основном следствием действия средовой промоции.

Прогрессия. Этим термином обозначают процесс малигнизации до того доброкачественной опухоли. Полагают, что в его основе лежит дальнейшая трансформация генетического материала клеток.

4. Механизмы действия

Как сказано выше, к числу канцерогенов в настоящее время причисляют любое вещество, которое ускоряет развитие опухолей или увеличивает частоту появления новообразований в популяции. В этой связи канцерогенами, в широком смысле слова, являются и инициаторы и промоторы опухолевого роста, а следовательно и механизмы канцерогенного действия веществ чрезвычайно разнообразны. По современным представлениям, следует выделять генетические и эпигенетические механизмы химического канцерогенеза. Вещества, действующие на геном клетки называются "генотоксическими агентами", вещества провоцирующие опухолевый рост через иные механизмы - "эпигенетическими агентами". К числу эпигенетических эффектов следует отнести повреждение механизмов генной экспрессии, иммуносупрессию (см. раздел "Иммунотоксичность"), нарушение гормонального баланса и др. (см. таблицу 3).

Таблица 3. Некоторые примеры генотоксических и эпигенотоксических канцерогенов

Генотоксические канцерогены	Эпигенотоксические канцерогены
Алкилирующие агенты Бенз(а)пирен Винилхлорид Диметилнитрозамин Мышьяк, никель, хром Радиация	Асбест Эстрогены, андрогены Эфиры форбола Желчные кислоты Хлорорганические соединения Сахарин

Для многих канцерогенов, действующих на геном клетки, первичной мишенью является молекула ДНК (см. раздел "мутагенез"). В этой связи проводятся исследования по детализации механизмов взаимодействия потенциальных канцерогенов с нуклеотидами, их идентификации, характеристике формирующихся связей. У человека пока не доказана возможность канцерогенного действия веществ, не способных образовывать ковалентные связи с ДНК. Но у бактерий и обратимое связывание ксенобиотика вызывает мутации, что заставляет предположить, что значительно больший круг веществ, чем принято считать, может инициировать опухолевый рост.

В пользу того, что молекула ДНК является критической структурой канцерогенеза, говорят следующие факты:

- нарушения хромосомного аппарата клеток (мутации) выявляются при большинстве новообразований;
- большинству раков сопутствует нарушение процесса генной экспрессии;
- в основе развития многих опухолей лежит активация онкогенов;
- неоплазма самораспространяющийся процесс, т.е. раки формируются на клеточном уровне;
- некоторые нарушения генома предрасполагают к развитию новообразований;
- экспериментально доказано, что канцерогены образуют ковалентные связи с молекулой ДНК;
- нарушение механизмов репарации ДНК предрасполагает к канцерогенезу.

Определенные гены нормальных клеток обладают особой чувствительностью к действию химических канцерогенов. Это так называемые онкогены. По-видимому, их функция состоит в регуляции клеточного роста и дифференциации клеток. Химические мутации именно этих генов активно трансформируют клетку в сторону неопластических процессов. Механизмы такой трансформации до конца не выяснены. Полагают, что в основе процесса лежит синтез особых протеинов (или полипептидов), содержание которых в клетке оказывается критичным для инициации их роста и размножения. Видимо, функции этих белков связаны с механизмами передачи и восприятия многочисленных регуляторных сигналов, управляющих процессами роста и размножения клеток. К числу таких протеинов, в частности, могут быть отнесены: цитокины, белки-рецепторы цитокинов, факторы клеточного роста, рецепторы факторов клеточного роста, ГТФ-связывающие протеины, тирозинкиназы, серин/треонин киназы, ДНК-связываемые протеины и т.д.

В клетках существуют гены, ответственные за синтез белков, и так называемые гены-супрессоры клеточного роста. Если ген-супрессор мутировал, то в клетке не синтезируются белки, тормозящие её размножение, создаются условия для канцерогенеза. Наиболее изученным геном-супрессором является ген р53. Белок, синтез которого управляется данным геном, является регулятором других генов, от которых зависит реализация цикла клеточного деления. Мутация гена приводит к дефициту белка и клетка утрачивает способность блокировать процесс пролиферации.

Механизмы репарации генома замещают повреждённый участок молекулы ДНК с восстановлением её нормальных функций, поэтому далеко не любое взаимодействие нуклеиновой кислоты и ксенобиотика завершается канцерогенезом. Механизмы репарации многочисленны (см. соответствующие разделы). Идентифицировано более 100 генов, регулирующих процессы репарации. Для того, чтобы оказаться эффективной, репарация должна осуществляться до начала цикла деления поврежденной клетки. Если этого не происходит, нарушения генома наследуются клетками следующих поколений (закрепляются). Таким образом, вещества повреждающие процессы репарации не могут инициировать канцерогенез, но в состоянии значительно влиять на вероятность неопластических трансформаций. Особенно чувствительна молекула ДНК к действию токсикантов в период активации репродуктивных процессов в клетке. В это время наиболее вероятно формирование точечных мутаций, транспозиции генов, других генетических нарушений. С повреждающим действием химических канцерогенов на генетический аппарат клетки можно связать длительный временной интервал между действием канцерогена и манифестацией опухолевого роста.

Взаимодействие ксенобиотиков с протеинами, регулирующими экспрессию генов, также может сопровождаться трансформацией клетки. Репродукция повреждённых и трансформировавшихся клеток приводит к пренеопластическим состояниям, которые в ряде случаев выявляются даже клинически.

Помимо непосредственного действия канцерогенов на молекулы-мишени возможен еще один механизм их повреждения, это активация образования свободных радикалов в клетках организма. Косвенным доказательством значения свободнорадикального механизма в канцерогенезе является, показанная в эксперименте, способность антиоксидантов подавлять химический канцерогенез.

5. Коканцерогены

Коканцерогенами называются вещества, которые существенно увеличивают вероятность формирования новообразований, действуя на организм или совместно с канцерогенами, или до него. Промоторы отличаются от коканцерогенов тем, что реализуют эффект лишь при действии **после** инициатора опухолевого роста. В качестве коканцерогенов могут выступать гормоны, иммуномодуляторы, факторы питания и т.д. Возможные механизмы коканцерогенной активности представлены на таблице 4.

Таблица 4. Предполагаемые механизмы коканцерогенеза

- Увеличение скорости и объема захвата канцерогенов клетками
- Интенсификация процессов биоактивации проканцерогенов в организме
- Подавление процессов биологической детоксикации канцерогенов
- Угнетение механизмов репарации поврежденной ДНК
- Усиление процессов превращения повреждений ДНК в перманентное состояние

Действие некоторых коканцерогенов является доказанным в эксперименте. Например, пыль диоксида кремния является коканцерогеном бенз(а)пирена, вызывающего карциному гортани, трахеи, легких у экспериментальных животных.

Вещества, содержащиеся в табачном дыме, являются коканцерогенами асбеста. Так, у рабочих профессионально контактирующих с асбестом частота смертей от рака легких в пять раз выше, чем у лиц контрольной группы (не контактируют с асбестом; не курят). У курильщиков частота злокачественных заболеваний легких в 11 раз выше. У курящих рабочих асбестовых предприятий частота новообразований в 55 раз больше, чем у лиц контрольной группы. Хотя табачный дым содержит незначительное количество генотоксических канцерогенов, таких как полиароматические углеводороды и нитрозамины, в его составе обнаруживается целый ряд коканцерогенов и промоторов в форме катехолов и фенольных соединений, играющих большую роль в канцерогенезе у курильщиков.

Важную роль в модуляции канцерогенеза играют гормоны. Так, крысы самцы значительно более чувствительны к канцерогенному действию 2-ацетиламинофлюорена (рисунок 4), чем самки. Введение самцам эстрадиола снижает их чувствительность к канцерогену.



Рисунок 4. Структура 2-ацетиламинофлюорена

6. Метаболизм и биоактивация канцерогенов

Большое значение для развития опухолевого роста при действии ксенобиотиков имеют особенности их метаболизма (рисунок 5).

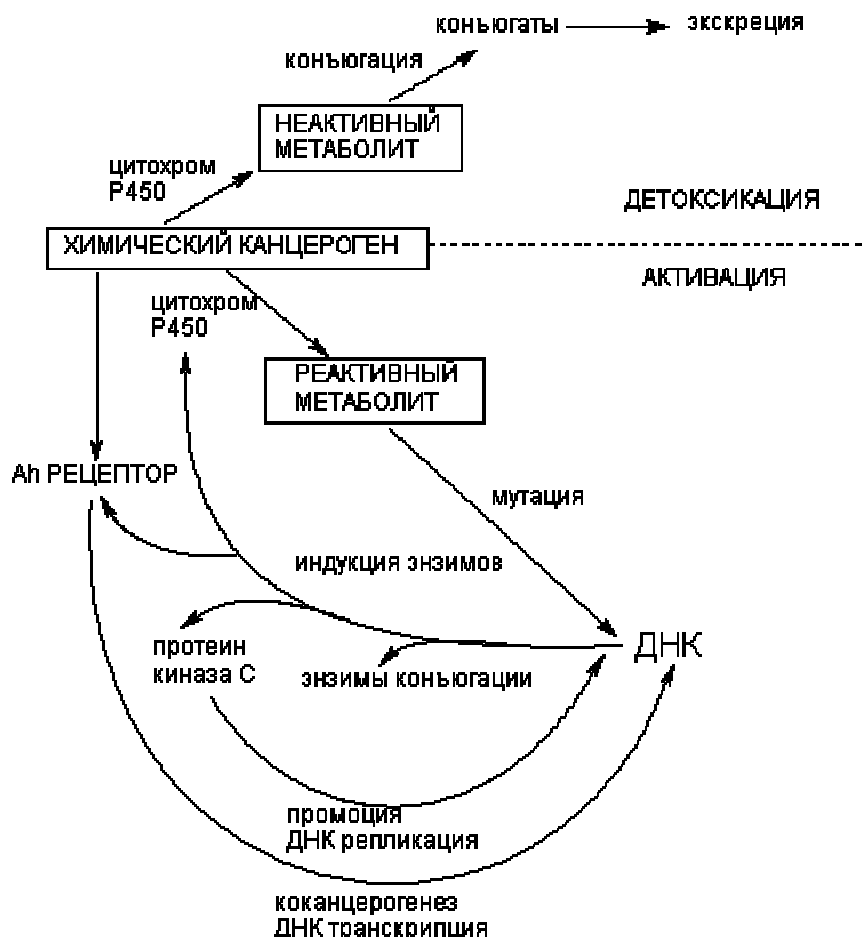


Рисунок 5. Роль цитохрома Р450 в процессах химического канцерогенеза

Общим свойством многих канцерогенов является их способность к биотрансформации с образованием высоко реакционноспособных соединений, активно взаимодействующих с макромолекулами. Реактивные метаболиты являются сильными электрофилами. Они неэнзиматически взаимодействуют с большим числом нуклеофильных сайтов клеточных макромолекул (пептидов, протеинов, РНК, ДНК и т.д.), образуя с ними ковалентные связи. Основным местом связывания являются белки. Так, в результате действия на организм азокрасителей их метаболиты оказываются ковалентно связанными с белками гепатоцитов. Метаболиты бенз(а)пирена образуют ковалентные связи с белками клеток кожи и т.д. Однако ДНК также является мишенью воздействия реактивных метаболитов в этих органах. Более того, установлено, что большинство "исходных" соединений канцерогенной активностью не обладает. Это позволило Elizabet и Miller ввести в практику такие термины, как "проканцероген" и "полный канцероген". **Вещества, приобретающие свойства канцерогенов в процессе метаболизма, называются проканцерогенами. Химические вещества, непосредственно взаимодействующие со структурными элементами клетки и вызывающие тем самым ее трансформацию, называются полными канцерогенами.**

Ряд веществ изначально обладают свойствами полных канцерогенов. Это активные в химическом отношении молекулы или вещества, приобретающие свойства сильных электрофилов в результате неэнзиматических превращений (рисунок 6). Как правило, непосредственно действующие канцерогены вызывают опухоли тканей на месте аппликации (кожи, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта).

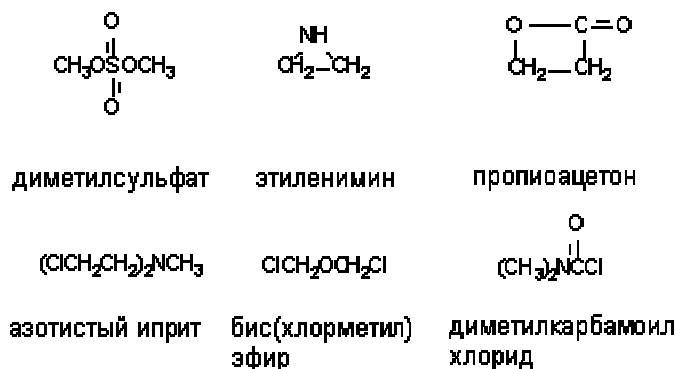


Рисунок 6. Структура некоторых первичных, полных канцерогенов

Метаболизм проканцерогенов и их биоактивация осуществляется в тех же органах и с помощью тех же механизмов, что и других ксенобиотиков (см. раздел "Метаболизм чужеродных соединений"). Естественно в

организме животных разных видов скорость и характер биопревращений существенно различаются. Сказанное позволяет объяснить выраженные видовые различия в чувствительности к канцерогенам.

Существует и еще один аспект этого явления. Как хорошо известно в ходе метаболизма ксенобиотиков активируются процессы перекисного окисления липидов и образования вторичных активных радикалов, что также может иметь значение в инициации канцерогенеза (см. выше).

7. Краткая характеристика токсикантов

7.1. Бензол

Бензол является исходным продуктом синтеза большого количества веществ и входит в первую десятку наиболее потребляемых промышленностью соединений.

Это бесцветная летучая жидкость со своеобразным ароматическим запахом; температура кипения около 80°, давление пара 100 мм Hg. Легко воспламеняется. Вещество ограниченно растворяется в воде (1 : 1420), но хорошо смешивается с маслами и спиртами. Впервые описано Фарадеем в 1825 году. Промышленное производство налажено в 1849 году.

Впервые случаи лейкозов, обусловленные действием бензола, описаны в 1897 году (Le Noir, Claud, 1897). Однако процент заболеваний, индуцированных веществом, в сравнении с общим количеством лейкозий был невелик. Повышение значения этого феномена связано с широким распространением бензола в современных технологических процессах. Анализ показывает, что многие вещества, угнетающие костный мозг, могут одновременно вызывать и лейкемии. В 60-е годы было отмечено существенное увеличение числа лейкозий у турецких рабочих, занятых в обувной и кожевенной промышленности и контактировавших с клеящими материалами на основе бензола. Публикация этих данных и сообщение об аналогичных наблюдениях на итальянских предприятиях, послужили поводом проведения серьёзных токсико-эпидемиологических исследований среди лиц, контактирующих с бензолом. В ходе этих исследований удалось подтвердить лейкемогенное действие бензола.

Помимо производства бензол оказывает действие на человека и через окружающую среду. Бензол нередко выделяется при горении различных веществ и является составной частью дыма при пожарах, сигаретного дыма, выхлопных газов. Содержание его в бензине от 0,5 до 2%. Бензол - естественный компонент овощей, фруктов, мяса, яиц. Содержание его в продуктах питания от 2 до 2100 мкг/кг. Вещество не способно к материальной кумуляции и потому его экологическое значение определяется количеством потребляемых продуктов, содержащих это соединение. С позиций концепции пороговости в действии токсикантов на организм значение бензола, как экологического фактора, ничтожно. Если допустить беспороговый характер действия вещества, хотя бы по способности вызывать лейкемию, можно говорить о некоторой его опасности, как "средового" фактора.

Спорным остаётся вопрос о вредном действии бензола, как компонента табачного дыма (последний содержит массу других токсичных веществ, среди которых: полиароматические углеводороды, 1,3-бутадиен и т.д.). Курильщик, в среднем, в сутки потребляет примерно в 10 раз больше бензола (1800 мкг/день для выкуривающего пачку сигарет), чем некурящий. Однако, если основываться на пороговости в действии токсиканта, это количество составляет ничтожную часть от дозы, вызывающей токсический эффект.

В настоящее время представления о пороговости лейкемогенного действия бензола не однозначны. По мнению ряда специалистов, способность вещества вызывать лейкемию носит стохастический беспороговый характер. При этом полагают, что кумуляция эффекта и развитие лейкемии могут произойти не независимо от действующей концентрации токсиканта. Риск развития лейкемии от контакта с веществом в той или иной дозе устанавливается путем экстраполяции данных, получаемых при действии высоких концентраций бензола, к условиям контакта с малыми дозами вещества (см. ниже).

Согласно другой точке зрения, порог лейкемогенного действия существует. В этой связи контакт с веществом в малых концентрациях объявляется неопасным. Накопилось немало клинических и экспериментальных данных, подтверждающих эту точку зрения. Показана высокая степень корреляции между возникновением лейкемии и наличием в анамнезе данных об интоксикации бензолом, проявившимся нарушениями со стороны системы крови. В многочисленных работах описаны случаи перерастания панцитопении, угнетения костного мозга, его гипоплазии и апластической анемии, вызванных бензолом, в острый миелоидный лейкоз. С другой стороны, практически отсутствуют описания случаев лейкозий, вызванных бензолом, без предшествовавшего им этапа (в анамнезе) панцитопении. Вместе с тем хорошо известно, что у лиц, перенёвших лучевую или химиотерапию по поводу новообразований, изменения со стороны костного мозга регистрируются в течение длительного времени, иногда годами после полной нормализации показателей периферической крови. Из этого следует, что нормальные показатели крови у лиц, контактирующих (контактировавших) с бензолом, ещё не являются свидетельством отсутствия его пагубного действия на организм.

Каким образом токсическое действие бензола перерастает в лейкемогенное остаётся неясным.

Как следует из имеющихся (порой противоречивых и не всегда в полной мере доказанных) наблюдений, наиболее частым типом лейкозий, вызываемых бензолом, являются острые миелоидные лейкозы (ОМЛ), особенно острая миелобластная лейкемия, мономиелоцитарная лейкемия и эритролейкемия. При диагностике последней формы следует проводить дифференциальный диагноз с компенсаторной эритроидной гиперплазией. Другие типы лейкозий встречаются при действии бензола значительно реже.

Не выяснен и механизм формирования лейкемии. Вероятными механизмами действия бензола могут быть мутации, возникающие либо в результате образования ДНК-аддуктов, либо хромосомной делеции или анеуплоидии вследствие нарушения процесса редубликации нитей ДНК и их распределения между дочерними клетками в процессе митоза. Строение бензола, его метаболитов и их химическая активность делают более вероятным второй механизм действия токсиканта. Так, в отличие от активных алкилирующих агентов бензол и его метаболиты не являются цикло-неспецифическими мутагенами или тератогенами. Не смотря на целенаправленные поиски, в клетках костного мозга отравленных не удалось обнаружить бензольных аддуктов ДНК. С другой стороны, установлена способность бензола блокировать клеточное

деление на стадии G2/ М митоза, угнетая процесс формирования клеточного веретена (объясняют действием метаболитов бензола на сульфгидрильные группы тубулина).

У рабочих, хронически подвергающихся действию бензола, обнаружено увеличение числа хромосомных aberrаций, в частности, количества анеуплоидных клеток.

7.2. 1,3-бутадиен

1,3-бутадиен - бесцветный газ, используемый в производстве резины. Ранние исследования, выполненные на экспериментальных животных, указывали на малую токсичность вещества как при остром, так и хроническом введении. Эпидемиологические исследования, выполненные в последние годы, напротив, установили очевидную причинно-следственную связь между хроническим воздействием токсиканта и нарушениями здоровья, в частности увеличением частоты новообразований. Сообщается о способности вещества инициировать лейкемии, однако только у лиц кратковременно контактирующих с бутадиеном.

В эксперименте показана высокая степень видовых различий в чувствительности животных к канцерогенному действию вещества. Крысы - относительно малочувствительный вид. Напротив, подострое действие токсиканта на мышей приводит к развитию мегалобластической анемии; хроническое воздействие - сопровождается увеличением более чем на 60% частоты случаев лимфоидной лейкемии в популяции подопытных мышей. В последние годы этот мощный эффект объясняют сочетанным действием бутадиена и ретровирусов, инфицирующих животных.

8. Выявление канцерогенной активности веществ

Вывод о канцерогенной активности того или иного вещества основывается на результатах двух видов исследований. Во-первых, это эксперименты на различных биологических объектах и лабораторных животных. Во-вторых - данные эпидемиологического обследования групп лиц, контактирующих или контактировавших с токсикантами.

8.1. Экспериментальная оценка

Экспериментальная оценка канцерогенной активности вещества - сложное многоэтапное исследование. Как правило, оно выполняется в опытах *in vitro* и *in vivo* в ходе подострого или хронического эксперимента на нескольких видах лабораторных животных (таблица 5).

Таблица 5. Протокол изучения канцерогенной активности вещества

- А. Оценка химического строения вещества
- Б. Исследования в опытах *in vitro*
 - 1. Мутагенная активность (см. "Мутагенез");
 - 2. Влияние на процессы репарации ДНК;
 - 3. Изучение клеточной трансформации.
- Оценка результатов и выбор условий дальнейшей работы
- В. Исследования в опытах *in vivo*:
 - 1. Индукция опухолей кожи у мышей;
 - 2. Индукция опухолей легких у мышей;
 - 3. Индукция опухолей молочной железы у мышей;
 - 4. Индукция опухолей других внутренних органов у грызунов;
 - 5. Оценка действия промоторов.
- Оценка результатов и выбор условий дальнейшей работы
- Г. Хронические исследования на животных разных видов.
- Оценка результатов
- Общее заключение

Исследование предполагает выявление мутагенной, тератогенной активности у веществ (см. соответствующие разделы), которые могут косвенно указывать на возможность его канцерогенности.

Изучение канцерогенной активности в хроническом эксперименте предполагает длительное (1,5 - 2 года) введение веществ лабораторным животным (грызуны, собаки, приматы и т.д.) с водой, пищей, ингалируемым воздухом. Испытываемые количества: 1,0 - 0,5 максимально переносимой дозы (МПД). Под максимально переносимой дозой понимают количество вещества, вызывающее не более чем 10% снижение веса животных (в сравнении с контролем), не вызывающее летальности в группе, клинических и патологических изменений, сокращающих среднюю продолжительность жизни. Животные содержатся в строго контролируемых условиях. Поскольку онкогенный потенциал химических веществ колеблется в очень широких пределах, большие требования предъявляют к чистоте исследуемых токсикантов. В случае наличия примесей, именно они, а не обследуемое вещество, могут стать причиной появления положительных результатов при тестировании.

Все погибшие за период исследований животные изучаются на предмет наличия опухолей. Часть животных, кроме того, умерщвляется через фиксированные интервалы времени (6, 12, 18 месяцев) для гистологических исследований органов и тканей. Все животные умерщвляются и обследуются по завершении эксперимента. Особое внимание уделяют изучению органов, чувствительность которых к токсиканту удалось выявить в ходе предварительных экспериментов. Большие трудности связаны с необходимостью получения статистически значимых различий частот спонтанного появления опухолей в контрольных группах и индуцированного роста, в группе получающих вещество животных. Как правило, для этого требуется включение в эксперимент большого числа животных. Обычно по 50 грызунов обоего пола в группе, т.е. минимум 300 животных: 50 самцов и 50 самок - 1,0 МПД; 50 самцов и 50 самок - 0,5 МПД и, соответственно, 100 животных в контроле. Нередко этого оказывается недостаточно, и результаты получаются малоубедительными, вызывающими сомнение. В таких ситуациях приходится либо значительно увеличивать число животных в группах сравнения, либо использовать в эксперименте более высокие дозы токсикантов.

В процессе работы оценивается видовая чувствительность к предполагаемому канцерогену, тип опухолевого роста, факторы, влияющие на канцерогенез (по возможности). Необходимо учитывать, что разные вещества могут вызвать образование опухоли одного и того же типа, и, напротив, одно и то же вещество может провоцировать развитие разных опухолей. При этом возможны 4 варианта эффектов:

- увеличение частоты "обычно" встречающихся опухолей;
- появление опухолей "нового" типа;
- новое сочетание опухолей;
- сокращение сроков развития опухоли.

Детальное описание методов выявления канцерогенной активности можно найти в специальной литературе.

Канцерогенная активность различных веществ, выявляемая в эксперименте, колеблется в широких пределах (рисунок 7).

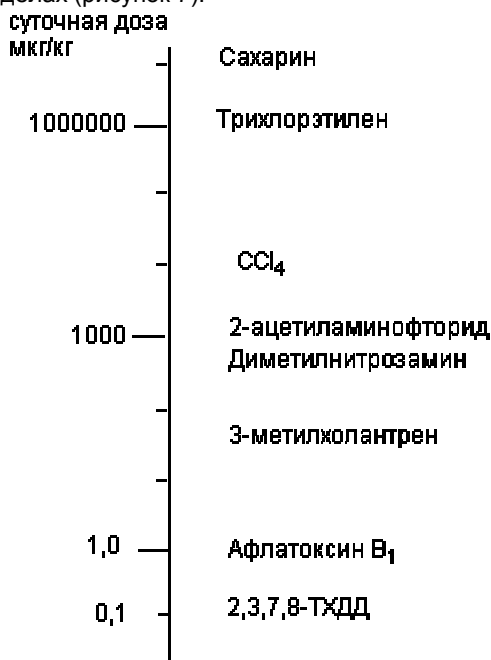


Рисунок 7. Канцерогенная активность некоторых химических соединений

Все вещества, для которых показана способность вызывать опухоли у животных, рассматриваются как опасные и для человека. Однако видовая чувствительность к канцерогенам выражена очень значительно. Можно считать доказанным, что:

- вещество, вызывающее опухоль у животных одного, двух и даже трёх видов, не обязательно канцерогенно для человека;
- зависимость "доза-эффект" (см. ниже), получаемая в ходе исследований на лабораторных животных, совсем не обязательно имеет аналогичные параметры для человека, отсюда и пороги безопасного действия токсикантов для животных и человека в строгом смысле могут быть разными;
- у животных канцерогены как увеличивают частоту возникновения опухолей, так и сокращают сроки их развития; у человека эти эффекты могут не воспроизводиться;
- органы-мишени для одного и того же канцерогена у лабораторного животного и человека могут быть различными.

С учетом сказанного становится понятным, почему канцерогены для животных автоматически не признаются канцерогенными для человека, и почему простая экстраполяция экспериментальных данных, полученных в опытах на животных, на человека невозможна.

8.2. Эпидемиологические исследования

Окончательное суждение о канцерогенности вещества для человека является результатом масштабных эпидемиологических исследований. Как правило, утверждение признается справедливым лишь при выполнении ряда условий:

- выявленное увеличение частоты новообразований в обследованной популяции не может быть объяснено действием случайных причин;
- аналогичные результаты получены в ходе нескольких независимых исследований;
- доказано, что частота появления опухолей изменяется при изменении дозы канцерогена и времени прошедшего от момента его воздействия.

Однако достаточно часто интерпретация получаемых результатов весьма затруднена целым рядом обстоятельств, таких как:

- мобильность человеческих популяций, что затрудняет верификацию факта воздействия потенциального канцерогена;
- продолжительность действия токсиканта и длительность скрытого периода. Латентный период злокачественных заболеваний крови у человека составляет 5 - 10 лет, тканей - 20 и более лет;
- изобилие личностных особенностей, влияющих на канцерогенез: курение, употребление различных препаратов, бытовые привычки (в том числе хобби) и др.;
- возможность работы на нескольких предприятиях;

- не всегда корректная документированность факта воздействия;
- дефекты диагностики опухолей;
- возможность действия на людей иных, не оцениваемых в исследовании факторов;
- возрастная зависимость патологии (более 60% раков встречаются у лиц старше 65 лет).

Вследствие сказанного, МАИР рекомендует относить данные, получаемые в ходе эпидемиологических исследований, к одной из следующих категорий:

- достаточные для утверждения, что канцерогенез является следствием воздействия конкретного этиологического фактора;
- ограниченно значимые для констатации канцерогенности ксенобиотика, так как в исследовании сомнителен контроль, не исключены возможные альтернативные объяснения выявленных эффектов;
- недостаточные для признания канцерогенности вещества, вследствие слабости проведенного исследования, либо отсутствия причинно-следственных связей между действующим фактором и частотой новообразований в обследуемой популяции.

Эпидемиологическое изучение канцерогенности вещества, действующего как профессиональный фактор или экополлютант должно строиться с учетом определенных принципов:

- учитываемые в исследовании случаи раков должны быть подтверждены документально на основании клинического или патологоанатомического материала;
- следует оговаривать сроки, в рамках которых оценивается частота возникновения новообразований в популяции. В группу регистрируемых, должны включаться лица, работавшие (проживавшие) в оцениваемый период времени в условиях, которые могут быть объективно охарактеризованы;
- выявленную частоту возникновения новообразований следует сравнивать с ожидаемой частотой. Эта характеристика может быть получена в административных структурах министерства здравоохранения, накапливающих информацию об онкологической заболеваемости населения. Сравнение должно быть стандартизовано по возрастным группам;
- после установления общей онкологической обстановки необходимо выяснить какие виды раков встречаются чаще в обследуемой популяции;
- анализ полученных данных необходимо проводить с учетом продолжительности скрытого периода в развитии опухоли. Если опухоль развилась спустя непродолжительное время после действия токсиканта, её развитие вероятно не связано с этим действием;
- в ходе обследования необходимо выявить возможность действия других факторов, влияющих на канцерогенез: курение, злоупотребление лекарствами, наследственную предрасположенность к новообразованиям, действие иных потенциальных канцерогенов и т.д.
- желателен мониторинг окружающей среды, либо информация о содержании вредных веществ на рабочем месте;

Конкретный метод установления причинно-следственных связей между действием оцениваемого фактора и развитием неопластических процессов выбирается в соответствии с общей методологией эпидемиологических исследований (см. раздел "Эпидемиологические методы исследования в токсикологии").

9. Оценка риска химического канцерогенеза

9.1. Проблемы оценки риска

Принципиальная задача оценки риска химического канцерогенеза - установление его количественных характеристик для лиц, контактирующих с малыми дозами потенциальных канцерогенов. Как указывалось ранее, на современных производствах целый ряд веществ может быть отнесен к числу опасных. Постановка задачи обусловлена необходимостью стандартизовать допустимые уровни воздействия этих токсикантов, с учетом вероятности развития опухолей у работающих. В настоящее время постулируется тезис: "Ни одно вещество не может быть признано абсолютно безопасным даже в диапазоне действия малых доз и концентраций, если в ходе экспериментов, или иным образом, установлено, что оно вызывает рак у человека или животных" (концепция беспороговости действия). Так как в ходе эпидемиологических исследований не представляется возможным установить количественные параметры зависимости "доза-эффект", этим методом характеристики риска развития опухолей при различных дозовых нагрузках найдены быть не могут. В этой связи основным является экспериментальный подход к решению задачи. Однако, как указывалось ранее, и здесь получаемые результаты сложны для интерпретации.

Противоречие состоит в следующем. Исследователя интересуют количественные характеристики увеличения частоты опухолевого роста при длительном действии вещества в малых дозах, в которых он может действовать в реальных производственных, бытовых, экологических условиях. Однако поскольку при действии в малых концентрациях положительный (канцерогенный) эффект в эксперименте выявляется редко, для получения статистически достоверного результата требуется, либо ввести в опыт очень большое количество животных, что трудно выполнимо, либо изучать зависимость "доза-эффект" при высоких дозах токсиканта, а затем математическими методами экстраполировать полученный результат к малым дозам. Опыты с "большими" дозами токсикантов могут быть выполнены на относительно малом количестве животных (см. выше) и в ограниченные сроки. Однако этап экстраполяции требует математического аппарата, адекватно описывающего характер зависимости "доза-эффект" во всем диапазоне действующих доз. Существует ряд математических, статистических и других подходов к анализу экспериментально полученного фактического материала, позволяющих, в известной степени, преодолеть эту трудность.

9.2. Математические модели, описывающие зависимость доза - эффект

Вероятность обнаружения опухоли данного вида в обследуемой группе, не контактировавших с канцерогеном особой всегда выше нуля. Это связано с действием разнообразных факторов окружающей среды, провоцирующих опухолевый рост. Математическое моделирование призвано предсказать вероятность развития рака (p), как функцию дозы действующего токсиканта (d), с учетом этого обстоятельства. Наблюдаемыми и количественно оцениваемыми в ходе эксперимента эффектами могут

быть смерть, потеря веса, число новообразований в группе. Непременными условиями моделирования являются:

- достаточное количество изученных доз (минимум четыре) и животных, протестированных на каждой дозе;

- учет "фоновых" значений оцениваемых параметров;
- математическая форма представления зависимости "доза-эффект";
- адекватные методы оценки параметров модели.

Возможны два способа учета "фона" при изучении зависимости "доза-эффект":

$$1. (P_d - P_0)/(1 - P_0) = F(d)$$

$$2. P_d = F(d + d_0),$$

где: P_0 - фоновая вероятность (частота) развития новообразования; P_d - вероятность развития новообразования при воздействии токсиканта в дозе d ; $F(d)$ - кумулятивное распределение позитивных ответов (канцерогенез) в зависимости от действующей дозы.

В первом случае исходят из допущения, что ответ на воздействие определённой дозы не зависит от фоновой ответной реакции. Этот подход используют наиболее часто. Во втором случае принимается допущение, что вероятность развития эффекта есть следствие суммарного действия "фоновой" и действующей доз. Как правило, указанное различие в подходах к оценке не сказывается существенным образом на получаемых результатах, особенно при действии веществ в малых дозах.

Для экстраполяции результатов, получаемых в опытах с действием больших доз, к условиям воздействия токсиканта в малых дозах, применяются математические модели разных видов. Наиболее часто используют логнормальную модель и модель логит-преобразования. Первая имеет вид:

$$\lg[P/(1-P)] = a + b \lg d,$$

где a, b - параметры уравнения.

Вторая математическая модель имеет вид:

$$Y(P) = a + b \lg d,$$

где $Y(P)$ - пробит, соответствующий частоте опухолей P ,

a, b - параметры уравнения.

Кроме указанных, используют и другие математические модели описания зависимости "доза-эффект" (таблица 5).

Таблица 5. Математические модели, описывающие зависимость "доза-эффект", применяемые для оценки риска химического канцерогенеза

Математические модели
$F(d) = 1/(1 + e^{a - b \log d})$
$F(d) = 1 - e^{-\lambda d}$
$F(d) = 1 - e^{-(\frac{a}{b} + bd)(\frac{a}{b} + bd)^{-1}}$ $F(d) = 1 - e^{-bd}$
$F(d) = 1 - e^{-\lambda - \lambda_d - \lambda_d}$

* d - доза токсиканта

8.3. Процедуры определения пороговых уровней риска

После экспериментального нахождения параметров зависимости "доза-эффект" в условиях действия больших доз канцерогена (коэффициентов a , b и т.д.) определение пороговых уровней риска химического канцерогенеза, как указывалось ранее, предполагает экстраполяцию полученных данных к малым дозам для определения вероятности появления новообразований в этом диапазоне дозовых нагрузок. Это осуществляется с помощью двух методических приёмов:

- на основе эмпирически найденных параметров принятой математической модели;
- линейной экстраполяции к малым дозам без учета математической модели зависимости "доза-эффект".

Процедура поиска параметров кривой зависимости "доза-эффект" аналогична для всех упомянутых ранее моделей. Преследуемая цель - получение максимального подобия эмпирически найденных результатов и теоретических представлений. Иными словами, осуществляется поиск аналитических параметров кривых, позволяющих наиболее корректно описать экспериментально полученные данные, при этом в ряде случаев приходится отказываться от выбранной изначально математической модели процесса.

Получив расчетную информацию о вероятной частоте формирования новообразований при низких, реально встречающихся в практике, уровнях воздействия потенциального канцерогена, можно установить либо предельно допустимую концентрацию токсиканта (ПДК) по канцерогенному эффекту либо условно безопасную дозу токсиканта (УБД) (virtually safe dose - VSD) (см. раздел "Оценка риска действия токсиканта").

Под ПДК канцерогенного вещества понимается такая его концентрация, при воздействии которой на персонал, работающий в контакте с этими веществами в течение всего периода трудовой деятельности, или на население, в течение всей жизни проживающего в районе расположения химического предприятия, гарантируется, с заданной высокой надежностью, отсутствие канцерогенных эффектов (которые можно было бы выявить современными методами эпидемиологических или экспериментальных исследований).

УБД представляет собой дозу токсиканта, при которой возможно лишь небольшое увеличение числа новообразований в сравнении с контролем. Обычно этот прирост принимается равным 10^{-5} - 10^{-8} (один дополнительный случай на 100 тысяч - 100 миллионов человек, подвергающихся воздействию).

Величина УБД не подлежит экспериментальной проверке. Её значение, в конечном итоге, определяется выбранной математической моделью.

Если количество канцерогена в окружающей среде существенно превышает величины ПДК или УБД можно говорить о высоком риске химического канцерогенеза в популяции. Степень риска тем выше, чем выше степень этого превышения.

Дополнительными подходами к процессу оценки риска канцерогенеза, являются учет времени между моментом действия токсиканта и развитием эффекта, а также фармакокинетических особенностей канцерогена. Учет временного фактора предполагает в ходе создания математической модели процесса рассматривать вероятность появления опухоли как функцию не только дозы, но и времени, прошедшего от момента действия. В зависимости от свойств канцерогенов, сроки развития опухолей могут быть существенно различными.

Значение фармакокинетических свойств препаратов обусловлено тем обстоятельством, что между вводимой дозой и содержанием в биологических средах, а следовательно и эффективностью действия, далеко не всегда существует линейная связь. Сопоставление получаемых эффектов (канцерогенез) с реально измеренным содержанием токсикантов в соответствующих органах и тканях, с учетом сроков их персистирования, позволяет уточнить значение ПДК и УБД.

Другое назначение фармакокинетического подхода к изучению канцерогенеза - корректное сопоставление результатов, получаемых на разных видах лабораторных животных и при разных способах аппликации токсиканта.

ГЛАВА 6.4. ТОКСИЧЕСКИЕ ВЛИЯНИЯ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ. ТЕРАТОГЕНЕЗ

Репродуктивная функция осуществляется как сложноорганизованная последовательность физиологических процессов, протекающих в организме отца, матери, плода. Токсиканты могут оказывать неблагоприятное воздействие на любом этапе реализации функции. Сложность феномена репродукции делает его весьма уязвимым для ксенобиотиков. Трудность познания феномена состоит в том, что нарушение репродукции может быть следствием даже острого токсического действия на различные органы и системы одного из "участников" процесса, в различные временные периоды, а проявляться лишь спустя многие месяцы, а иногда и годы, дефектами зачатия, вынашивания, развития плода и несостоятельностью растущего организма (таблица 1).

Таблица 1. Периоды реализации репродуктивной функции, уязвимые для действия токсикантов.

Предконцептивный период - половое созревание - половое влечение - формирование половых клеток (гамет) - транспорт гамет
Концептивный период - оплодотворение - имплантация яйцеклетки - развитие плаценты
Беременность - развитие эмбриона - созревание плода
Рождение - роды - постнатальный период - лактация
Рост и развитие ребенка - развитие половых органов - формирование интеллекта Трансплацентарный канцерогенез

1. Краткая характеристика анатомо-физиологических особенностей репродуктивных органов

Женская репродуктивная система состоит из 4 анатомических образований, функция которых регулируется гормонами, продуцируемыми гипофизом, яичниками, плацентой.

Яичники представляют собой миндалевидный парный орган, локализующийся по обе стороны матки. Функции яичников - овогенез, т.е. образование женских половых клеток (гамет - ооцитов) и продукция стероидных гормонов (эстроген, прогестерон). Оогонии формируются в периоде внутриутробного развития плода будущего женского организма. В организме женщины происходит лишь созревание яйцеклеток. Одна яйцеклетка (ооцит второго порядка) созревает попеременно то в левом, то в правом яичниках женщины раз в два месяца.

Фаллопиевы трубы - каналы, связывающие яичник с просветом матки. Это место слияния мужской и женской половых клеток и путь, по которому оплодотворивший ооцит перемещается в матку.

Матка - полый орган, с мощными мышечными стенками, расположенный в полости таза. Анатомически матка подразделяется на четыре отдела: дно, тело, перешеек, шейка. Стенка матки состоит из трёх слоёв: эндометрий (слизистая, выстилающая полость матки, в которую имплантируется и где созревает оплодотворенная яйцеклетка), миометрий (мышечная ткань, обеспечивающая выход плода при родах), брюшина.

Влагалище - образование, связывающее полость матки с внешней средой.

Мужская репродуктивная система состоит из четырёх органов, функции которых регулируются гормонами, синтезируемыми гипофизом и семенниками (яички).

Семенники - парный орган, располагающийся в мошонке, в котором образуются мужские половые клетки (сперматозоиды) и синтезируются стероидные гормоны (лейдиговы клетки синтезируют тестостерон). Развивающийся спермий проходит стадии сперматогония, сперматоцита первого порядка, сперматоцита второго порядка, сперматиды и спермия. У человека процесс созревания спермия занимает примерно 70 суток.

Придаток яичка - извитая тубулярная структура, связывающая яичко с выносящим канальцем (канал, обеспечивающий выход сперматозоидов в уретру). Функция придатка - обеспечение условий для созревания сперматозоидов и их выхода.

Уретра - канал, в котором выделяют два отдела: простатический и проходящий в половом члене. Уретра связывает выносящий каналец с внешней средой.

2. Развитие плода

Оплодотворение происходит в фаллопиевых трубах и состоит в слиянии женской половой клетки и сперматозоидов. Оплодотворенное яйцо переносится в матку, где имплантируется в эндометрий (период имплантации). В этом периоде, продолжающемся около 2 недель, клетка, в силу большой автономности от

организма матери, мало чувствительна к действию токсикантов. Если в этом периоде организм матери повреждается в значительной степени, яйцеклетка погибает, спонтанно abortируется и беременность не диагностируется. После имплантации клетки начинается эмбриональный период развития, продолжающийся до 6 - 7 недели после зачатия. В этом периоде чувствительность к токсикантам особенно велика. В случае их действия на организм матери возможно формирование крупных морфологических дефектов развития плода или его гибель. Вслед за эмбриональным периодом следует период роста плода (фетальный период). В этом периоде чувствительность развивающегося организма к токсикантам постоянно изменяется. Каждый орган плода, формируясь в различное время, имеет свой критический период наивысшей чувствительности к ксенобиотикам. Обычно органогенез завершается в первый триместр беременности, однако развитие гениталий и центральной нервной системы продолжается и после рождения ребенка.

3. Особенности действия токсикантов на репродуктивные функции

Точно выявить механизм, лежащий в основе репродуктивных нарушений, порой практически невозможно, так как ксенобиотик мог подействовать либо на обоих родителей, либо только на одного из них, либо на мать и плод.

Неблагоприятное действие токсикантов (и их метаболитов) на мужские и женские органы репродуктивной системы может быть обусловлено либо нарушением механизмов физиологической регуляции их функций, либо прямыми цитотоксическими эффектами. Так, нарушение гормональной регуляции функций яичников может быть следствием конкуренции ксенобиотиков с половыми гормонами (андрогены, контрацептивные средства), действия на рецепторы эстрогенов (хлорорганические и фосфорорганические соединения), изменения скорости продукции половых гормонов, их метаболизма и выведения (ДДТ, ТХДД, ПХБ, хлордан). Например, полигалогенированные бифенилы нарушают метаболизм половых гормонов. При введении новорожденным крысам, эти вещества существенно изменяют функции печени, значительно изменяя уровень циркулирующих в крови половых гормонов. В последующем это приводит к нарушению оплодотворяемости животных.

Цитотоксичность, как правило лежит в основе поражения половых клеток отца или матери и клеток эмбриона.

Механизм действия многих токсикантов остается неизвестным (сероуглерод, углеводороды). Некоторые из опасных веществ, способных нарушать репродуктивные функции, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Вещества, предположительно нарушающие репродуктивные функции

1. Стероиды
- андрогены, эстрогены, прогестины
2. Противоопухолевые препараты
- алкилирующие агенты, антиметаболиты, антибиотики
3. Психоактивные препараты, вещества, действующие на ЦНС
- летучие анестетики (галотан, энфлюран, метоксифлюран, хлороформ)
4. Металлы и микроэлементы
- алюминий*, мышьяк, бор*, бериллий, кадмий, свинец (органические и неорганические соединения), литий, ртуть (органические и неорганические соединения), молибден, никель, серебро*, селен, таллий
5. Инсектициды
- гексахлорбензол, карбаматы (карбарил), производные хлорбензола (метоксихлор, ДДТ), альдрин, дильдрин, ФОС (паратион), другие (хлордекон, этиленоксид, мирекс)
6. Гербициды
- 2,4-Д; 2,4,5-Т
Родентициды
- фторацетат*
7. Пищевые добавки
- афлатоксины*, циклогексиламин, диметилнитрозамин, глутамат, производные нитрофурана, нитрит натрия
8. Промышленные токсиканты
- формальдегид, хлорированные углеводороды (трихлорэтилен, тетрахлорэтилен, ТХДД*, полихлорированные бензофураны*), этилендибромид, этилендихлорид, этиленоксид, этилентииомочевина, этиленхлоргидрин, анилин, мономеры пластмасс (капролактан, стирол, винилхлорид, хлоропрен), эфиры фталиевой кислоты, полициклические ароматические углеводороды (бенз(а)пирен), растворители (бензол, сероуглерод, этанол, эфиры гликолей, гексан, толуол, ксилол), оксид углерода, метилхлорид, диоксид азота, цианокетоны, гидразин, анилин
9. Другие продукты
- этанол, компоненты табачного дыма, средства пожаротушения (трис-(2,3-дибромпропил)фосфат), радиация*, гипоксия*

* - фактор, действующий главным образом на мужчин

Вещества, вызывающие преимущественное повреждение репродуктивных органов мужчины, представлены в таблице 3.

Таблица 3. Вещества, вызывающие преимущественное повреждение репродуктивных органов мужчины

Мишень	Токсикант
Сперматогонии	Бисульфид, прокарбазин
Сперматоциты	2-метоксиэтанол, прокарбазин
Сперматиды	Метилхлорид
Клетки Сертоли	Динитробензол, гександион

Клетки Лейдига Эпидидимоциты Добавочные половые железы	Этан диметилсульфонат Хлоргидрин, метилхлорид, этан диметилсульфонат Имидазол

На репродуктивные характеристики в постнатальном периоде могут оказывать влияние ксенобиотики, попадающие в организм кормящей матери и выделяющиеся с грудным молоком. Такие вещества, как металлы (ртуть, свинец), тетрахлорэтан, галогенированные ароматические углеводороды (дибензофураны, бифенилы, диоксины), пестициды (ДДТ, диэльдрил, гептахлор и т.д.) могут поступать в организм новорожденного этим путем в больших количествах.

Наиболее часто при нарушениях репродуктивной функции сталкиваются с полигенным (действие на различные органы и системы), многофакторным (действие нескольких токсикантов), синергическим (однаправленное спонтанное и индуцированное токсикантом нарушение развития) действием.

Основными проявлениями токсического действия химических веществ на органы и ткани, ответственные за репродуктивные функции организма, и непосредственно на плод, являются: бесплодие и тератогенез.

3.1. Тератогенез

Дословный перевод термина "тератогенез" означает "рождение монстров", от греческого *teras*, означающего "монстр". В древние времена полагали, что рождение деформированного ребенка с аномалиями развития является следствием кровосмешения человека и божества. В средние века, случившийся факт рассматривали как результат происков дьявола, и, как правило, дитя и мать приговаривали к смерти.

Современная тератология как наука начала формироваться в сороковых годах двадцатого века после работ Warknau и сотрудников, показавших, что влияние факторов окружающей среды, таких как диета матери или действие радиации, существенно сказываются на внутриутробном развитии плода млекопитающих и человека. Более ранние исследования, выполненные на рыбах, амфибиях, куриных эмбрионах, показали высокую восприимчивость живых существ к действию неблагоприятных факторов среды, однако оставляли сомнения в том, что и млекопитающие подвержены подобным влияниям. Полагали, что плацента надежно защищает плод от вредных воздействий. В 1950х - 60х годах концепция непреодолимости плацентарного барьера была поколеблена рождением тысяч детей с врожденными дефектами развития, женщинами, принимавшими во время беременности, как казалось, практически безвредный седативный препарат талидомид. Проблема химического тератогенеза стала реальностью.

Тератогенным называется действие химического вещества на организм матери, отца или плода, сопровождающееся существенным увеличением вероятности появления структурно-функциональных нарушений у потомства. Вещества, обладающие тератогенной активностью, называются тератогенами. Существует представление, согласно которому практически любое химическое вещество, введенное в организм отца или матери, в тот или иной период беременности, в достаточно большой дозе, может вызывать тератогенез. Поэтому тератогенами в узком смысле слова следует называть лишь токсиканты, вызывающие эффект в концентрациях, не оказывающих заметного действия на организм родителей. В ходе лабораторных и эпидемиологических исследований установлено, что многие ксенобиотики имеют достаточно высокий потенциал репродуктивной токсичности. Из обследованных примерно трех тысяч ксенобиотиков около 40% обладают свойствами тератогенов.

Существует четыре типа патологии развития плода: гибель, уродства, замедление роста, функциональные нарушения.

Действие токсиканта, сопровождающееся гибелью эмбриона, чаще обозначается как эмбриотоксическое.

3.1.1. Закономерности тератогенеза

В ходе изучения тератогенеза, удалось выявить ряд закономерностей, среди них основными являются: 1) токсикокинетические; 2) генетической предрасположенности; 3) критических периодов чувствительности; 4) общности механизмов формирования; 5) дозовой зависимости.

Особенности токсикокинетики. Тератогенным действием на плод обладают лишь вещества, хорошо проникающие через плацентарный барьер. Многие тератогены подвергаются в организме матери или плода биоактивации (см. раздел "Метаболизм ксенобиотиков").

Генетическая предрасположенность. Чувствительность к тому или иному тератогену существенно различается у представителей различных видов, подвидов и даже индивидов одного и того же вида. Так, кролики и мыши очень чувствительны к кортизону, вызывающему у потомства расщепление неба. У крыс этот дефект при действии вещества не выявляется. К тератогенному действию талидомида чрезвычайно чувствительны люди, высшие приматы, некоторые линии развития кроликов-альбиносов; отдельные линии крыс и мышей реагируют только на очень высокие дозы вещества. Большинство млекопитающих - резистентны к действию токсиканта.

Отчасти этот феномен связан с существенными различиями токсикокинетики ксенобиотиков.

Критические периоды чувствительности. Сложный процесс эмбриогенеза включает пролиферацию, дифференциацию зародышевых клеток, их миграцию в развивающемся организме и, наконец, начало собственно органогенеза. Все эти явления должны следовать в определенном порядке и быть абсолютно согласованы. Первые 2 недели эмбриональной стадии развития человека - период интенсивной клеточной пролиферации. После оплодотворения клетки быстро делятся, формируя малодифференцированные клетки - бластоциты. Затем следуют периоды закладки зародышевых листков и органогенеза. На раннем этапе эмбрионального развития в период быстрой пролиферации клеток (первые 2 недели развития) их повреждение токсикантами, как правило, заканчивается гибелью эмбриона.

Период наивысшей чувствительности к тератогенам, в котором они оказывают наиболее значимое действие на плод и индуцируют появление грубых морфологических дефектов, это период закладки зародышевых листков и начала органогенеза (первые 12 недель эмбрионального развития). Период

органогенеза начинается после дифференциации зародышевых листков и завершается формированием основных органов. За периодом органогенеза следуют периоды гистогенеза и функционального созревания органов и тканей плода (таблица 4).

Таблица 4. Критические периоды эмбриогенеза человека. Примеры веществ, оказывающих патогенное действие на плод (J.V. Aranda, L. Stern, 1983)

Периоды	Анатомические образования/функции	Примеры веществ
Органогенез	- 2 - 7 недели: глаза, мозг, спинной мозг, сердце, дуга аорты, череп,	Талидомид
	- 3 - 8 недели: конечности, губы - 6 - 10 недели: урогенитальная система, зубы - 7 - 12 недели: пальцы, гениталии, брюшная стенка, небо	Дифенилгидантрон
Гистогенез		Алкоголь
Функциональное созревание	Внешние половые признаки; Вес тела; Поведение	Тетрациклин

Продолжительность периодов внутриутробного развития у различных видов млекопитающих представлена в таблице 5.

Таблица 5. Продолжительность периодов внутриутробного развития у различных видов млекопитающих (сутки). Последствия действия тератогенов

Вид	Имплантации	Эмбриональный	Фетальный
Человек	6 - 14	14 - 56	56 - 280
Кролик	6 - 8	8 - 16	17 - 34
Крыса	6 - 8	9 - 17	18 - 22
Мышь	5 - 7	7 - 16	17 - 20
Последствия	пренатальная гибель	грубые морфологические дефекты	физиологические и функциональные нарушения

Тип нарушения, вызванный веществом, определяется стадией развития плода и конкретным временем воздействия. Для того, чтобы некий тератоген вызвал повреждение конкретного органа, плод должен быть подвержен действию этого вещества в период формирования данного органа. Для развития различных органов "критические периоды" отмечаются в разное время после зачатия. Гистогенез и функциональное развитие органа начинаются до завершения периода органогенеза и продолжают в периоде роста плода. Неблагоприятные последствия действия тератогенов в этом периоде это уже не морфологические дефекты органов и систем, но различного рода функциональные нарушения.

Механизмы формирования. Различные вещества с различным механизмом токсичности, при действии на плод в один и тот же критический период, часто вызывают одинаковые виды нарушений. Из этого следует, что значимым является не столько механизм действия токсиканта, сколько сам факт повреждения клеточных элементов на определенном этапе развития организма, инициирующий во многом одинаковый каскад событий, приводящих к уродствам (рисунок 1)

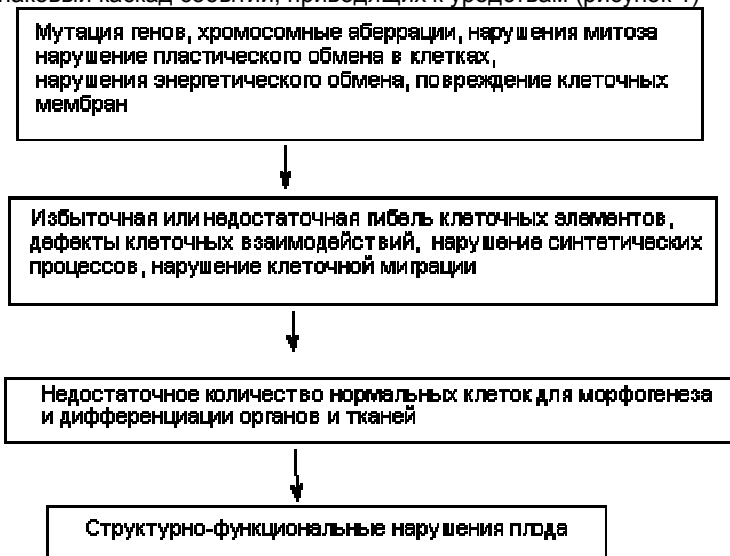


Рисунок 1. Предполагаемые этапы формирования дефектов развития при действии токсикантов на плод

Дозовая зависимость действия. Большинство тератогенов имеют некий порог дозовой нагрузки, ниже которого вещество не проявляет токсических свойств. По всей видимости, появление дефектов развития предполагает повреждение некоего критического количества клеток, выше того, которое эмбрион в

состоянии быстро компенсировать. Если количество поврежденных клеток будет ниже этого уровня, действие токсиканта пройдет без последствий, если значительно выше - произойдет гибель плода. Это положение может быть проиллюстрировано результатами исследований тератогенной активности ТХДД, выполненных Моог и сотрудниками (1973) (таблица 6).

Таблица 6. Частота случаев дефектов развития у новорожденных мышат линии C57BL/6 после скармливания беременным самкам ТХДД

Дни беременности	Доза (мкг/кг)	Расщепление неба (%)	Аномалии почек (%)	Двухсторонняя аномалия почек (%)
10 - 13	3	55,4	95,1	83,1
10 - 13	1	1,9	58,9	36,3
10	1	0	34,3	8,8
10 - 13	0	0	0	0

3.1.2. Особенности токсикокинетики тератогенов

Попав в организм матери, вещества распределяются в соответствии с токсикокинетическими свойствами ксенобиотика. Беременность существенно влияет на характер распределения (снижается связывание токсикантов белками, увеличивается объем распределения) и скорость выведения веществ (увеличивается мощность гломерулярной фильтрации) из организма матери. Активность ферментов I и II фаз метаболизма чужеродных соединений снижается.

Токсический эффект ксенобиотиков может зависеть от действия на структуры-мишени их метаболитов, образующихся в организме матери или/и плода. Основным органом биоактивации является печень матери. Однако, образующиеся в ходе метаболизма высоко активные в химическом отношении продукты, быстро реагируют со структурными элементами печени или органами и тканями матери, и не в состоянии достичь тканей плода. Таким образом, действовать на плод могут лишь более стабильные, т.е. более инертные в химическом отношении молекулы, образовавшиеся в организме матери, либо реактивные метаболиты, образующиеся непосредственно в тканях плода. Некоторые вещества метаболизируют в плаценте.

Попав в кровоток плода, токсиканты распределяются в его органах и тканях в соответствии с законами токсикокинетики. Многие из них подвергаются метаболизму. В настоящее время установлено, что хотя активность цитохром-Р450-зависимых оксидаз в эмбриональной ткани значительно ниже, чем в ткани печени женщины, она все же достаточна для образования токсичных метаболитов. Способность печеночной ткани плода к метаболизму чужеродных соединений постоянно меняется во времени. Гладкий эндоплазматический ретикулум развивается в клетках плода к 40 - 60 дню беременности. В середине беременности интенсивность метаболизма ксенобиотиков тканями плода составляет 20 - 40% от интенсивности в тканях взрослого человека. В эксперименте показана биоактивация эмбриональной тканью мышей, крыс, кроликов таких тератогенов как бензо(а)пирен, 3-метилхолантрен, диэтилстильбэстрол, 2-диметиламинофлюорен и т.д. Компоненты второй фазы метаболизма развиты у плода не одинаково. Уровень глюкуронидирования - низок; энзимы сульфатации, конъюгации с глицином и глутатионом достаточно активны. В связи со сказанным выше, чувствительность плода к токсикантам постоянно изменяется.

3.1.3. Механизмы действия тератогенов

Тератогенный эффект развивается при действии токсиканта в определенной дозе, на чувствительный орган, в определенный период его формирования. Выявлено множество механизмов, посредством которых ксенобиотики оказывают неблагоприятное воздействие. Понимание этих механизмов помогает предвидеть риск, сопряженный с контактом с веществом, корректно экстраполировать данные, получаемые в экспериментах на животных на человека.

Генерация мутаций (мутагенез) - явление модификации токсикантом последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК (см. выше). Установлено, что около 20 - 30% нарушений развития плода обусловлено мутациями половых клеток родителей, причем мутаций наследуемых. Мутации соматических клеток плода на ранних стадиях его формирования также чрезвычайно опасны, поскольку изменяют достаточное количество делящихся клеток, для инициации структурных и функциональных дефектов развития. Изменение наследственного кода сопровождается синтезом дефектных белков (ферментов, структурных протеинов), что в свою очередь приводит к функциональным нарушениям, часто не совместимым с жизнью.

Повреждение хромосом - явление разрыва хромосом или их слияния (нерасхождение в процессе митоза). Эти нарушения по современным оценкам являются причиной около 3% нарушений развития плода. Частота повреждения хромосом увеличивается с возрастом матери. Причиной эффекта, помимо химических воздействий, могут быть вирусные инфекции и действие ионизирующих излучений.

Повреждение механизмов репарации. Нарушение свойств генетического аппарата клетки может быть следствием угнетения активности ферментов, обеспечивающих репарацию спонтанно трансформирующихся молекул ДНК (гидроксимочевина, антагонисты фолиевой кислоты).

Нарушения митоза. Митоз - это сложный цитофизиологический процесс, посредством которого делящаяся клетка передает дочерним клеткам одинаковый набор хромосом. Многие токсиканты, действуя на специальный клеточный аппарат (клеточное веретено и т.д.) обеспечения нормального митоза, вызывают нарушения процесса (цитозин арабинозид, колхицин, винкристин).

Нарушение биосинтеза жизненно важных молекул может стать следствием действия токсикантов. Многие вещества способны нарушать синтез белка, блокируя процессы репликации (синтез ДНК), транскрипции (синтез РНК) и трансляции (собственно синтез белка). К числу таких веществ относятся многие цитостатики и некоторые антибиотики. По большей части, действие этих веществ приводит к гибели плода; уродства отмечаются значительно реже.

Вещества, затрудняющие поступление в организм матери необходимых для пластического обмена молекул-предшественников и субстратов, являются тератогенами. Нарушения диеты - дефицит в рационе витаминов, минералов, вызывает замедление роста плода, его гибель, приводит к тератогенезу. При этом изменения плода проявляются раньше, чем нарушения здоровья матери. Наиболее известным примером является эндемический кретинизм, характеризующийся замедлением физического и умственного развития в регионах с низким содержанием йода в воде и почве. Дефицитные состояния могут развиваться при поступлении в организм веществ-аналогов или антагонистов витаминов, аминокислот, нуклеиновых кислот и т.д. Некоторые вещества блокируют поступление необходимых элементов в организм матери и плода. Так, хроническая интоксикация цинком сопровождается существенным снижением поступления в организм меди.

Вещества, способные угнетать активность энзимов пластического обмена в клетках плода, нарушают его развитие.

Нарушение энергетического обмена может привести к тератогенезу или гибели плода. Причинами состояния могут стать блокада гликолиза, повреждение цикла трикарбоновых кислот (йод- и фторацетат, 6-аминоникотинамид), блок электрон-транспортной системы и разобщение процессов окисления и фосфорилирования (цианиды, динитрофенол).

Повреждение клеточных мембран. Нарушение проницаемости мембран клеток эмбриона может сопровождаться их гибелью и нарушением эмбриогенеза глаз, мозга, конечностей. Полагают, что в основе тератогенного действия таких веществ, как диметилсульфоксид (ДМСО) и витамин А, лежит именно этот механизм.

Таким образом, в основе тератогенеза могут лежать практически все известные механизмы токсического действия ксенобиотиков (см. раздел "Механизмы действия").

4. Характеристика некоторых токсикантов, влияющих на репродуктивные функции

4.1. Талидомид

Талидомид (рисунок 2) один из активнейших, известных, тератогенов для человека.

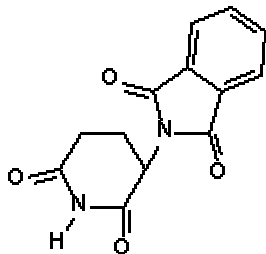


Рисунок 2. Структура талидомида

В 60х годах этот препарат использовали в медицинской практике Германии, Великобритании, других странах Европы и Австралии в качестве седативного средства. Вещество вызывало тератогенный эффект даже в тех случаях, когда применялось однократно с третьей по седьмую неделю беременности в дозах более 0,5 - 1,0 мг/кг. Наиболее частый вид нарушений - фекомелия - укорочение или полное отсутствие конечностей у новорожденных. Зарегистрировано более 10000 случаев фекомелии. Как указывалось выше, существует выраженная видовая чувствительность к препарату. Так, у мышей и крыс токсическое действие не выявляется даже при действии в дозах более 4000 мг/кг.

4.2. Ртуть

Это вещество является выраженным тератогеном для экспериментальных животных. Для человека этот вид токсического действия окончательно не доказан. Хлорид ртути вызывает аборт, однако, трансплацентарное поступление неорганических соединений ртути в организм плода не приводит к врожденным аномалиям. Пары ртути, действуя ингаляционно, вызывают нарушения менструального цикла. Элементарная ртуть также обладает способностью проникать через плацентарный барьер. Повышенное содержание ртути в плаценте и тканях плода обнаружено при обследовании женщин стоматологов, имевших контакт с ртутными амальгамами.

Метилртуть вызывает серьезное поражение мозга плода, сопровождающееся нейрональной дегенерацией и пролиферацией глии, особенно выраженной в коре мозжечка и конечного мозга. Глубина нарушений зависит от сроков беременности. Особенно опасно воздействие токсиканта во втором и третьем триместре беременности. Некоторые проявления патологических изменений выявляются сразу после рождения, другие, спустя несколько месяцев. Основные симптомы поражения: спастичность, гипотония, микроцефалия, нарушение движения глазных яблок (нистагм, стробизм), умственная отсталость, нарушение роста зубов. Отсутствуют данные о дозовой нагрузке, приводящей к патологии.

4.3. Свинец

То, что металл влияет на репродуктивные функции, известно более 100 лет. На 12 - 14 неделях беременности вещество начинает проникать через плаценту. При длительном действии на организм матери свинец накапливается и в тканях плода. Последствиями этого являются: аборт, преждевременные роды, перинатальная гибель. Имеются сообщения о неврологических нарушениях у детей, рожденных женщинами, в крови которых содержание свинца более 10 мг/ дл. Данные о способности свинца вызывать врожденные уродства отсутствуют.

Действие свинца на отцов также пагубным образом сказывается на развитии плода, однако пока не ясно, является ли это следствием прямого влияния на сперматогенез (хромосомные аберрации, снижение числа сперматозоидов, изменение их формы и активности). Не исключено, что в ряде случаев, причина нарушений - поражение матери в домашних условиях свинцовой пылью, приносимой отцом с производства.

Дети, подвергшиеся воздействию свинца в утробе матери, требуют длительного и постоянного контроля состояния их здоровья. Необходимо контролировать количество свинца в плазме крови, протопорфирины в эритроцитах, оценивать неврологический статус.

4.4. Кадмий

В лабораторных условиях периодически наблюдаются эффекты, связанные с действия кадмия на репродуктивные функции экспериментальных животных. Эффект зависит от дозы вещества, вида лабораторного животного, периода воздействия. Экстраполяция данных, в этой связи, на человека весьма затруднена. Основываясь на экспериментальных данных, полагают, что тератогенное действие Cd-содержащих веществ может быть связано с ингибированием активности карбоангидразы. Установлено также, что кадмий способен накапливаться в плаценте и вызывать её повреждение.

Данные, полученные при обследовании людей менее убедительны. Только при действии вещества в высоких дозах иногда отмечается повреждение семенников, тератогенез.

4.5. Полигалогенированные бифенилы (ПГБ)

Эта группа химических веществ включает более ста наименований. Соединения используются в качестве изолирующих жидкостей, теплообменников, химических добавок к маслам и т.д. Как правило, коммерческие препараты представляют собой смесь веществ, включая более токсичные дибензофураны.

В условиях лаборатории тератогенное действие ПГБ выявляется постоянно. Имеются данные, согласно которым поступление веществ в организм женщины в течение первого триместра беременности в дозе 1000 - 1500 частей на миллион, приводит к врожденным уродствам плода. Кроме того, отмечались: мертворождение, замедление внутриутробного развития плода, экзофтальм, гиперпигментация кожи, очаговая кальцификация костей черепа при рождении. Наблюдение за такими детьми показывает, что врожденные аномалии разрешаются в течение нескольких лет, однако признаки неврологических нарушений остаются. Возможно поражение ПГБ в постнатальном периоде, при поступлении веществ в организм с молоком кормящей матери. В литературе отсутствуют данные позволяющие установить количественные характеристики рассматриваемых эффектов у человека.

4.6. Органические растворители

В условиях опыта на лабораторных животных удается выявить неблагоприятное действие растворителей на репродуктивную функцию. В этой связи органические растворители рассматриваются как тератогены для экспериментальных животных.

Имеются единичные наблюдения, когда действие органических растворителей на женщин в период беременности приводит к появлению ряда врожденных дефектов, включая недоразвитие ЦНС, заячьей губы и малому весу новорожденных. По другим данным воздействие растворителей на мужчин сопровождается снижением либидо, импотенцией, аномалиями сперматозоидов, а на женщин - нарушением менструального цикла, понижением продуктивности, спонтанными абортами, преждевременными родами. Ни один из выявленных эффектов не является строго научно доказанным.

4.7. Цитостатики

Средства химеотерапии новообразований обладают свойствами тератогенов, если их действие приходится на ранний период беременности. Среди установленных тератогенов: алкилирующие агенты (бисульфид, хлорамбуцил, циклофосфан, мехлорэтамин) и антиметаболиты (аминоптерин, азасерин, азатиоприн, азауридин, цитарабин, 5-фторурацил, метатрексат). Риск родить ребёнка с врожденными дефектами у женщин, принимающих цитостатики в терапевтических дозах составляет 1 : 10 - 1 : 50, в зависимости от применяемого средства. Действие веществ проявляется спонтанными абортами, мертворождением, высокой смертностью новорожденных. Дефекты развития у детей включают нарушения со стороны ЦНС, костей лицевого и мозгового черепа, аномалии развития почек и мочеточников, конечностей. Отмечено, что среди медицинских сестер, родивших детей с аномалиями развития, вероятность контакта с цитостатиками в 2,6 раза выше, чем в группе сестер, родивших нормальных детей. У медицинских работников, постоянно контактирующих с цитостатиками, в клетках крови обнаруживается повышенная частота хромосомных aberrаций.

С другой стороны отсутствуют убедительные данные, указывающие на неблагоприятное действие цитостатиков (по показателю "увеличение риска тератогенеза") на организм отца до, или в период, зачатия.

5. Выявление действия токсикантов на репродуктивную функцию.

5.1. Экспериментальное изучение

Оценить токсическое действие веществ на репродуктивные функции чрезвычайно сложно, поскольку многообразны и сложны механизмы и условия, приводящие к неблагоприятному эффекту. В настоящее время разработано большое количество протоколов опытов, в рамках которых подобные исследования выполняются. Обычно они осуществляются в четыре этапа:

1. Изучение оплодотворяемости и общей репродуктивности - в опытах на **одном** поколении животных;
2. Изучение оплодотворяемости и общей репродуктивности - в опытах на **нескольких** поколениях животных;
3. Изучение тератогенной активности веществ;
4. Выявление перинатальной и постнатальной токсичности.

Опыты выполняются на животных, содержащихся в строго контролируемых условиях.

Изучение оплодотворяемости и репродуктивности. Опыты выполняют на лабораторных животных, как правило, крысах. Обычно 20 самцам (на каждую из исследуемых доз) вводят изучаемый токсикант в течение 60 суток до спаривания, а также 20 самкам - в течение 14 суток до спаривания. Временные периоды выбраны исходя из сроков завершения полного цикла процессов сперматогенеза и овуляции. После спаривания животных обработка токсикантом самок продолжается весь период беременности и до момента прекращения лактации.

Изучаемое вещество добавляют в корм или питьевую воду. Дозовая зависимость определяется в диапазонах: дозы, вызывающие пороговые токсические эффекты у животных-родителей (максимальная

исследуемая) - дозы, действующие в естественных условиях на человека (минимальная исследуемая). После спаривания самцов умерщвляют и исследуют; половину самок умерщвляют в середине периода вынашивания и обследуют на предмет оценки преимплантационной и постимплантационной летальности плода. Другой половине самок предоставляют возможность выносить и выкормить потомство. После завершения периода выкармливания крысят умерщвляют и подвергают обследованию с целью выявления дефектов развития. В контрольных экспериментах спаривают животных не подвергшихся действию токсикантов (только самцы, только самки, оба родителя).

Выраженность токсического действия исследуемого вещества на репродуктивные функции оценивают по следующим показателям:

- преимплантационная гибель - количество желтых тел в яичниках, относительно числа мест имплантации яйцеклеток в матке;
- постимплантационная гибель - количество участков резорбции яйцеклеток в матке, относительно общего числа мест имплантации;
- морфологические изменения в репродуктивных органах животных;
- продолжительность периода беременности;
- численность приплода и его состояние, соотношение живых и мертвых новорожденных крысят, вес крысят, наличие видимых уродств;
- характеристика развития новорожденных: прибавка в весе, смертность и т.д.
- наличие морфологических дефектов формирования органов и тканей у крысят после завершения выкармливания матерью.

Все показатели оцениваются количественно, обрабатываются статистически и сравниваются с контролями. Существенные, статистически достоверные нарушения хотя бы одного из оцениваемых показателей свидетельствует о репродуктивной токсичности исследуемого вещества.

Значительно более трудоемким является протокол исследования, предполагающий проследить неблагоприятный эффект в нескольких поколениях. Основная сложность состоит в правильном формировании исследуемых групп и групп сравнения. С содержанием таких протоколов можно познакомиться в специальной литературе.

Изучение тератогенной активности. В ходе исследования токсикант можно вводить весь период беременности, от зачатия до родов. Однако обычно ограничиваются изучением последствий действия вещества в период наибольшей чувствительности плода - период органогенеза. Опыты выполняют, как правило, на грызунах, чаще крысах. Способ назначения и дозы токсиканта - аналогичны, описанным выше. Наиболее типичная форма протокола представлена в таблице 7.

Таблица 7. Типовой протокол исследования тератогенной активности и перинатальной/постнатальной токсичности

ТЕРАТОГЕНЕЗ

Самки Самцы	СПАРИВАНИЕ	ВЫНАШИВАНИЕ Самкам в течение 6 - 15 дня беременности вводят токсикант. Мать и потомство умерщвляют на 20 сутки

ПЕРИНАТАЛЬНАЯ/ПОСТНАТАЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

Самки Самцы	СПАРИВАНИЕ	ВЫНАШИВАНИЕ Самкам, начиная с 15 дня беременности, вводят токсикант	ЛАКТАЦИЯ Введение токсиканта до завершения лактации (21 сутки). Умерщвление матери и потомства

В процессе исследования оценивают структурные нарушения развития плода (таблица 8), величину эмбрио-фетальной летальности.

Таблиц 8. Некоторые аномалии развития, выявляемые входе оценки тератогенности ксенобиотиков

А. Дефекты, выявляемые при общем осмотре

1. Череп, головной и спинной мозг

- энцефалоцеле - протрузия мозга через дефекты костей черепа
- экзэнцефалия - отсутствие костей черепа
- микроцефалия - малые размеры головы
- гидроцефалия - увеличенные объемы желудочков мозга
- spina bifida - несращение дуг позвонков

2. Нос

- увеличение носовых ходов
- отсутствие носовой перегородки

3. Глаза

- микрофтальмия - малый размер глаз
- анофтальмия - отсутствие глаз
- отсутствие век

4. Челюсти

- микрогнатия - малый размер нижней челюсти
- агнатия - отсутствие нижней челюсти
- аглоссия - отсутствие языка
- астомия - отсутствие ротового отверстия
- расщепленная губа

5. Небо

- расщепленное небо
- 6. Конечности
- микромелия - укорочение конечностей
- гемимелия - отсутствие отдельных костей конечностей
- фокомелия - отсутствие всех длинных костей конечностей

Б. Дефекты внутренних органов

1. Кишечник
 - пупочная грыжа
 - эктопия кишечника - экструзия кишечника за пределы брюшной полости
2. Сердце
 - декстрокардия - расположение сердца в правой стороне грудной полости
3. Легкие
 - увеличение легких
 - уменьшение размеров легких
4. Почки
 - гидронефроз - почки увеличены, заполнены жидкостью
 - агенезис - отсутствие одной или обеих почек
 - нарушение формы органа

В. Нарушения скелета

1. Пальцы
 - полидактилия - наличие дополнительных пальцев
 - синдактилия - срастание пальцев
 - олигодактилия - отсутствие одного и более пальцев
 - брахидактилия - укорочение пальцев
2. Ребра
 - дополнительные ребра
 - сросшиеся ребра
 - разветвление ребер
3. Хвост
 - укорочение хвоста
 - отсутствие хвоста
 - нарушение формы хвоста

Поскольку практически все выявляемые нарушения встречаются и у интактных животных, а также могут быть вызваны факторами не химической природы, большое внимание необходимо уделять формированию репрезентативных контрольных групп и статистической обработке получаемых результатов.

В качестве дополнения к предлагаемому протоколу рассматривается возможность использования методов оценки функционального состояния животных, родившихся от самок, подвергшихся воздействию исследуемого химического вещества. Постнатальная оценка функционального состояния животных включает определение скорости роста, состояния почек, печени, сердечно-сосудистой, дыхательной систем, ЦНС.

Изучение перинатальной и постнатальной токсичности. Исследование выполняют на беременных самках белых крыс (таблица 7). 20 животным (на каждую исследуемую дозу) вводят исследуемый препарат в течение последней трети беременности и периода лактации. Способы введения и дозы испытываемых веществ подбирают по общим правилам (см. выше). Оценивают продолжительность беременности, число и размеры новорожденных, скорость роста приплода и т.д. Целесообразно использовать морфологические и физиологические методы оценки состояния здоровья крысят. Результаты обрабатывают статистически и сравнивают с контролями.

Установление тератогенности ряда токсикантов рождает представление о том, что основной причиной дефектов развития являются производственные факторы и факторы окружающей среды. На самом деле это не так. Реальная оценка потенциальной опасности токсиканта для человека - сложная задача. Хотя в опытах на животных проделана большая работа по выявлению тератогенов, мутагенов, веществ нарушающих репродуктивную функцию, полностью переносить полученные данные на человека не представляется возможным. Такой перенос невозможен в силу целого ряда обстоятельств: различий в строении генома у представителей видов лабораторных животных и человека; различий чувствительности развивающихся тканей к отдельным токсикантам; межвидовых различий токсикокинетики ксенобиотиков, включая особенности метаболизма (это имеет значение поскольку у разных видов возможно образование различных метаболитов одного и того же токсиканта, могут существенно различаться временные параметры действия веществ); различием физиологических механизмов реализации репродуктивной функции, продолжительности отдельных периодов развития плода и т.д.

5.2. Оценка риска поражения

Теоретически оценить риск нарушения репродуктивной функции можно только с учетом дозовых нагрузок ксенобиотика, поскольку, как сказано выше, практически отсутствуют вещества безопасные при любых условиях воздействия и в любых дозах. Однако на практике сделать это применительно к человеку в настоящее время не представляется возможным. Чрезвычайно сложная методология получения данных для построения зависимостей "доза-эффект", применительно к рассматриваемой проблеме, не позволяет накопить необходимую для этого информацию.

В этой связи оценка риска поражения и диагностика действия токсиканта на репродуктивную функцию людей строятся на комплексном изучении состояния здоровья, конкретных обстоятельств жизни и работы обследуемых.

Признаки нарушения репродуктивных функций могут быть различными, но всегда следует брать под контроль любой выявленный случай. Возможны, в частности, обращения к врачу по поводу получения информации об опасности тех или иных токсикантов, с которыми отцу или матери приходится сталкиваться на производстве. При этом, работающий может предъявлять жалобы на состояние здоровья, что, по его мнению, указывает на пагубное действие некоего вещества (веществ). Достаточно часто за консультацией обращаются бесплодные супружеские пары, с просьбой решить не является ли причиной их беды тот или иной токсикант, с которым контактирует один или оба супруга. Наконец, поводом для исследования могут стать просьбы родителей проконсультировать их о возможных причинах дефекта развития их ребенка.

Во всех подобных случаях врачу необходимо обследовать пациента, документировать все предъявляемые жалобы, выявить последовательность появления симптомов, степень их выраженности, продолжительность. Желательно опросить, и в случае необходимости, осмотреть сослуживцев пациента на предмет выявления у них аналогичных проявлений. Следует обращать внимание на возможность действия на женщину "непроизводственных токсикантов" в быту (растворители, моющие средства, косметика, вредные привычки, приём лекарств и т.д.). Важной информацией для принятия решения являются данные о возрасте, профессии пациентов, перенесённых заболеваниях.

Ретроспективная оценка возможного токсического воздействия не всегда разрешимая задача, поскольку информация предъявляемая пациентами, как правило, носит субъективный характер. Лица с нарушением репродуктивной функции значительно чаще вспоминают факт воздействия "вредности", чем лица, без такового. Выявление времени воздействия токсиканта и установление, в каком периоде беременности это произошло, также основывается, как правило, на опросе, и потому весьма затруднено.

При изучении условий труда обследуемых необходимо обращать внимание на перечень потенциально опасных действующих токсикантов, их количественные характеристики на рабочем месте, принимаемые меры защиты (технические, организационные и т.д.).

Важно установить отсутствие генетических дефектов у родителей и родственников обследуемых. Наиболее часто встречающиеся "спонтанные" нарушения у человека это: анэнцефалия, spina bifida, дефекты конечностей, расщепленное небо, заячья губа, врожденный вывих бедра, пилоростеноз.

Медицинское обследование беременной женщины, подвергшейся (подвергающейся) действию токсикантов, должно быть тщательным и включать исследование состояния плода, особенно его подвижность, частоту сердечных сокращений, размер.

Лучший способ оценки количества действовавшего токсиканта - определение его самого или метаболитов в биологических средах организма матери (крови, моче), биологических маркеров действия токсикантов (активность ферментов, картина крови, содержание биологически активных веществ и т.д.).

Полезными методами оценки репродуктивных функций мужчины являются: вес тела, размеры тестикул, анализ спермы (количество сперматозоидов, их подвижность, морфология), эндокринные функции (фолликулостимулирующий, лютеинизирующий гормоны, тестостерон, гонадотропин). При обследовании женщин оценивают: вес тела, эндокринные функции (гонадотропин, пролактин, хорионидный гонадотропин, эстроген, прогестерон), цитологические свойства цервикальной жидкости, анатомо-морфологические особенности органов половой системы. В ряде случаев возникает необходимость пренатального обследования плода (ультразвуковая диагностика, лучевая диагностика, фетоскопия, фетография, амниография, амниоцентез, исследование хориона, анализ фетальной крови, биопсия кожи и печени плода).

5.3. Эпидемиология токсического действия

5.3.1. Анализируемые показатели

Неблагоприятное действие химических веществ на репродуктивную функцию человека, а также частоту и распространённость нарушений и дефектов развития плода и ребенка, вызываемых токсикантами, изучается и эпидемиологическими методами. В ходе подобных исследований количественные данные получают с помощью специальных приемов.

Одним из часто оцениваемых показателей является **оплодотворяемость**, т. е. характеристика способности женщины стать беременной. Оплодотворяемость характеризует преимплантационные процессы (см. выше) и не позволяет различить токсическое действие веществ на репродуктивные системы мужчин и женщин. Другим показателем, поддающимся измерению, является **вынашиваемость**. Вынашиваемость определяется способностью выносить жизнеспособный плод и также является общей характеристикой репродуктивных функций в популяции. Этот показатель не различает токсические поражения мужчин и женщин, нормальные и патологические роды, не учитывает преждевременные роды или гибель ребенка после родов. Термин беременность обозначает период вынашивания плода до родов (38 - 40 недель) и характеризует постимплантационный период развития плода.

Оплодотворяемость и вынашиваемость (так называемые интенсивные характеристики репродуктивности) не являются исчерпывающими показателями при оценке неблагоприятного действия токсикантов на репродуктивную функцию. Далеко не всегда достаточно легко диагностировать беременность в ранние сроки и тем более констатировать факт зачатия, что сказывается и на корректности оцениваемых показателей. Установление факта потери плода зависит от корректности установления беременности. Любую тенденцию к увеличению числа аборт, следует оценивать с учетом количества спонтанных выкидышей, частота которых в "нормальных" условиях составляет 20 - 56%. Расчетная величина вероятности спонтанного аборта в различные сроки беременности представлена в таблице 9. Одной из частых причин абортов является формирование хромосомных нарушений у плода.

Таблица 9. Вероятность спонтанных абортов в различные сроки беременности

Время	после	Вероятность аборта	Время	после	Вероятность аборта

овуляции	(%)	овуляции	(%)
1 - 6 дней	54,6	14 - 17 недель	1,3
7 - 13 дней	24,7	18 - 21 неделя	0,8
14 - 20 дней	8,2	22 - 25 недель	0,3
3 - 5 недель	7,6	26 - 29 недель	0,3
6 - 9 недель	6,5	30 - 37 недель	0,3
10 - 13 недель	4,4	38 + недель	0,7

Третьим часто оцениваемым показателем является частота дефектов развития плода и ребенка. Эти дефекты могут выявляться сразу после родов или спустя достаточное время после рождения. Дефекты могут быть анатомическими, физиологическими (нарушения метаболизма) и поведенческими. Дефекты развития у человека - частое явление. Отдельные типы нарушений выявляются в 5 -15% случаев всех родов. В 2% случаев изменения выражены настолько, что требуют специального лечения. Наиболее часто выявляются дефекты развития ушных раковин, нетипичная пигментация кожных покровов. В целом, частота дефектов развития ненадежная характеристика тератогенного потенциала токсиканта. Дело в том, что дефекты, связанные с действием ксенобиотиков, встречаются достаточно редко и потому статистически малозначимы. В большинстве случаев причины дефектов остаются невыясненными (таблица 10).

Таблица 10. Причины дефектов развития плода у человека

Неизвестна 65 - 70% Генетические дефекты 20% Токсиканты 4 - 6% Хромосомные нарушения 3 - 5%	Инфекция у матери 2 - 3% Метаболические нарушения у матери 1 - 2% Патологические реакции у матери до 1%

Общая оценка репродуктивной токсичности веществ для человека чрезвычайно сложна. Даже результат острого воздействия токсиканта проявляется в данном случае спустя длительное время, иногда годы. Затруднено изучение влияния токсикантов даже на гаметы. Так, оценить влияние токсиканта на сперматогенез можно лишь после созревания сперматозоидов и их эякуляции, а этот процесс растягивается на месяцы. Кроме того нарушения могут быть следствием длительного действия вещества в малых дозах, а проявляться плохо выявляемыми функциональными изменениями, например менопаузой, изменением полового поведения.

5.3.2. Методы сбора информации

Существует несколько методов сбора данных, позволяющих оценить влияние химических факторов окружающей среды на репродуктивную функцию человека. В частности, проводятся корреляционные исследования среди нескольких групп населения с разным уровнем воздействия ксенобиотиков по показателю "частота нарушений репродуктивной функции". Результаты, рассматриваются как свидетельство тератогенности вещества, если в группе с более высоким уровнем ксенобиотической нагрузки определяется более высокая частота дефектов репродуктивной функции. Исследования подобного типа бывают ретроспективными и проспективными (см. раздел "Эпидемиологические методы исследования").

В ходе ретроспективных исследований формируют группы сравнения, в одной из которых, у обследуемых, выявлены нарушения репродукции, в другой - представлены здоровые люди. В дальнейшем изучается в какой степени на представителей этих групп воздействовал оцениваемый фактор. Если интенсивность воздействия фактора на представителей группы риска достоверно выше (по частоте, продолжительности, дозе), делается предположительный вывод о возможном наличии у токсиканта тератогенных свойств. Недостатком исследования является элемент субъективизма, привносимый в метод тем обстоятельством, что формирование групп, в том числе и контроля, осуществляется исследователем.

Проспективные исследования предполагают сравнительное обследование лиц, имевших контакт с оцениваемым фактором и лиц, такового контакта не имевших (возможно сравнение людей, имевших различные степени воздействия), в плане наличия у них неблагоприятных изменений репродуктивных функций. В ходе исследования оценивается состояние исследуемой и контрольной групп за определенный период времени. Фактор рассматривается как значимо действующий, если дефекты репродуктивной функции выявляются значительно чаще в группе риска. Если формирование групп происходит случайным образом, то исследование называется рандомизированным. Результаты рандомизированных исследований в меньшей степени подвержены субъективизму. Однако и они имеют недостатки. Например, не всегда удается в полной мере выявить в группах редко встречающиеся нарушения.

Интервенционные исследования предназначены для установления частоты развития исследуемых нарушений в контрольной группе (подвергшиеся воздействию токсиканта) и группе лиц, в отношении которых проведены превентивные либо лечебные мероприятия. Если в контрольной группе нарушения встречаются чаще, делаются предварительные выводы о этиологической значимости вещества.

Основанием для проведения тщательного изучения тератогенности вещества часто являются сообщения о неблагоприятных последствиях его действия выявляемых в ходе плановых обследований. Сами подобные сообщения не могут рассматриваться как доказательства вредного действия ксенобиотика, поскольку они основаны во многом на субъективной оценке специалиста. Признать гипотезу фактом можно лишь на основании проведения специальных систематических исследований.

5.3.3. Контроль тератогенеза в популяции

Важным элементом деятельности медицинской службы является контроль тератогенного действия ксенобиотиков в человеческих популяциях. Этот контроль может осуществляться в соответствии с программами, удовлетворяющими разработанным критериям.

Уместность. Учитываемые дефекты развития должны быть клинически значимыми. Небольшие нарушения морфологии лица, конечностей и т.д. могут являться признаками, позволяющими выявить тератогенный эффект новых ксенобиотиков. Множественные дефекты развития представляют особый интерес, поскольку многие известные тератогены вызывают комплекс нарушений.

Временная корректность. Большинство уродств является следствием действия ксенобиотиков на плод в первые 2 - 4 месяца беременности и потому выявляются лишь через 5 - 9 месяцев (после рождения). В случае нарушения функций внутренних органов, развития ЦНС, поведенческих дефектов, то их диагностика может произойти значительно позже. Это требует оценивать состояние не только новорожденных, но и детей более старшего возраста.

Чувствительность. Предлагаемые методы обследований должны быть достаточно чувствительными для выявления умеренного увеличения частоты случаев возникновения дефектов (в два и менее раза). Для сравнения получаемой информации необходимы данные о величине исследуемых показателей в других регионах или в данном регионе до момента обследования. Такие данные должны накапливаться в течение достаточно продолжительного времени и включать информацию, подлежащую количественным методам сравнения. Случайно выявляемое увеличение частоты пороков развития в популяции происходит тем чаще, чем меньше статистика предшествующих наблюдений.

Выявляемость причин увеличения частоты нарушений развития. Увеличение числа нарушений развития может быть следствием:

- изменений состава популяции (возрастной состав, социо-экономический статус);
- изменением методологии выявления дефектов развития;
- появлением в среде тератогенных факторов.

Важным условием истинности суждения об увеличении исследуемого показателя является детальный анализ реальных случаев. Если удастся обнаружить меньшую частоту дефектов развития в обследуемой популяции (в сравнении с обычной), то следует выявить причины этого. Иногда это может помочь совершенствованию методов проведения превентивных мероприятий в обществе в целом.

Возможность выявлять многофакторные эффекты. Большинство дефектов развития плода многофакторные по своей природе. В этой связи необходимо учитывать, что совместное воздействие нескольких мутагенных факторов, может сопровождаться формированием патерна уродств, не характерных для каждого из действующих агентов. Работая в таких условиях порой сложно установить реальную причину нарушений. Вместе с тем, резкий подъем уровня выявляемых дефектов в популяции быстрее свидетельствует о единственной причине наблюдаемого феномена.

Сравнимость - свойство методологии, применяемой в ходе обследования, представлять данные, которые можно сравнивать с результатами, получаемыми из других источников или центров информации, является одним из важнейших требований к исследованию. Точность в описании и диагностики выявляемых нарушений во многом определяется квалификацией специалистов, привлекаемых к обследованию. В настоящее время приходится сталкиваться с тем, что различные источники (заключения патологоанатомов, педиатрических и хирургических клиник, консультаций), как правило, представляют данные, собранные с различной степенью тщательности и глубины.

Стоимость. Стоимость обследования в основном определяется числом охваченного обследованием контингента и затратами на материальное оснащение. Планируя работу, необходимо ориентироваться на финансовые возможности с тем, чтобы исследование могло быть доведено до конца.

РАЗДЕЛ 7. ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

ГЛАВА 7.1. РАЗДРАЖАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ

Раздражающим называется избирательное действие химических веществ на нервные окончания, разветвляющиеся в покровных тканях, сопровождающееся рядом местных и общих рефлекторных реакций и субъективно воспринимаемое, как неприятное чувство покалывания, жжения, рези, боли и т.д.

Наиболее чувствительными к раздражению являются покровные ткани, в которых плотность нервных окончаний выше, где они более доступны действию химических веществ. Это, прежде всего, конъюнктив глаза, слизистая дыхательных путей. Покровные ткани этих органов имеют особенности строения, иннервации и потому неодинаково чувствительны к различным веществам. Отдельные токсиканты вызывают преимущественное раздражение органа зрения и условно обозначаются как слезоточивые (лакриматоры), другие - слизистой дыхательных путей (стерниты).

1. Краткая характеристика химических и физико-химических свойств токсикантов

Раздражающее действие присуще огромному количеству веществ. К числу наиболее известных относятся галогены, альдегиды, кетоны, пары кислот, ангидриды кислот и др. Выраженность эффекта в каждом конкретном случае определяется строением токсиканта, его концентрацией и местом аппликации. К веществам с избирательным раздражающим действием можно отнести лишь те, для которых концентрация местного (раздражающего) действия в тысячи раз меньше среднесмертельной. Классическими представителями группы являются боевые и полицейские отравляющие вещества раздражающего действия.

Вещества, обладающие раздражающим действием, как правило, плохо растворимы в воде, но хорошо в органических растворителях. Они могут быть газообразными, жидкими и твердыми. Боевые отравляющие вещества при обычной температуре окружающего воздуха, по большей части, находятся в твердом состоянии. Их применение сопряжено с необходимостью использования специальных устройств для создания аэрозолей.

К числу веществ с высокой раздражающей активностью, прежде всего, относятся: 1. Алифатические и ароматические галогенированные кетоны; 2. Производные нитрилов; 3. Ароматические мышьякорганические соединения; 4. Эфиры форбола и дитерпеновые эфиры; 5. Другие ароматические и гетероциклические соединения.

По способности сообщать галогенированной молекуле кетона свойства лакриматора атомы галогенов располагаются в последовательности: $F < Cl < Br < I$. Среди алифатических кетонов наиболее активны бромпропанон, бромбутанон. Оба вещества - жидкости. Наиболее активным среди галогенпроизводных ароматических кетонов является хлорацетофенон.

Общая токсичность нитрилов снижается при введении в молекулу галогена. Раздражающее действие при этом усиливается. Среди производных нитрилов наиболее известно отравляющее вещество ортохлорбензальмалондинитрил (CS).

Ароматические производные трехвалентного мышьяка обладают выраженным раздражающим действием. Физиологическая активность веществ возрастает, если одна из валентностей мышьяка занята галогеном или CN-группой. Наиболее известным представителем группы является фенарсазинхлорид (адамсит).

С целью разработки эффективных раздражающих отравляющих веществ в различное время исследовались свойства таких соединений, как дибензоксазепин (CR), капсаицин, морфолид пеларгоновой кислоты, метоксициклогептатриен (CH) и др. (рисунок 1). Некоторые свойства ОБ раздражающего действия представлены в таблице 1.

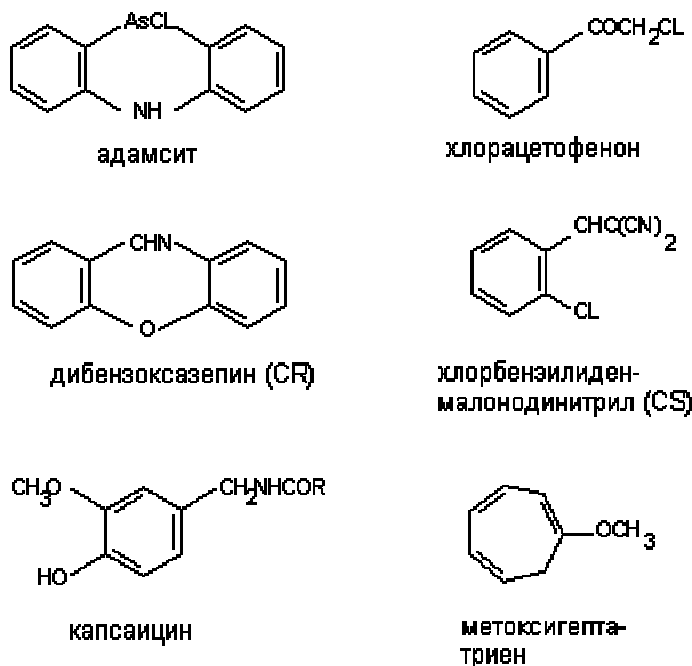


Рисунок 1. Структура некоторых веществ, обладающих выраженным раздражающим действием

Таблица 1. Свойства основных ОБ раздражающего действия

Свойства	Хлорацетофенон	Хлорбензилиденмалонодинитрил (CS)	Адамсит	Дибензосазепин (CR)
Агрегатное состояние	Твердое	Твердое	Твердое	Твердое
Растворимость в воде	$1 \cdot 10^{-1} \text{ г/м}^3$	Отсутствует	$5 \cdot 10^{-5} \text{ г/м}^3$	Плохая
Поражающая концентрация	$15 \cdot 10^{-3} \text{ г/м}^3$	$5 \cdot 10^{-3} \text{ г/м}^3$	$5 \cdot 10^{-3} \text{ г/м}^3$	$8 \cdot 10^{-4} \text{ г/м}^3$
Смертельная концентрация	85 г мин/м^3	25 г мин/м^3	30 мин/м^3	-
Преимущественное действие	Лакриматор	Лакриматор	Стернит	Лакриматор
Действие на кожу	+	++	0	++

2. Патогенез токсического эффекта

Нервные структуры воспринимают, передают, отражают действие раздражающих веществ на покровные ткани.

Первичным звеном в этой цепи являются чувствительные нейроны языкоглоточного, тройничного и блуждающего нервов при действии веществ на орган зрения, носоглотку, дыхательные пути. При контакте ядов с кожными покровами первичным центральным звеном восприятия нервной импульсации является сегментарный аппарат спинного мозга. Чувствительные волокна, в зависимости от их диаметра и скорости проведения нервного импульса, подразделяются на две группы: $A\alpha-\delta$ - волокна (1 - 20 мкм, 4 - 120 м/с) и C - волокна (0,3 - 1,5 мкм, 4 - 2 м/с). Наиболее крупные проводники ($A\alpha-\gamma$) обеспечивают проведение сигналов от мышечных веретен, восприятие чувства давления, прикосновения, а мелкие миелинизированные ($A\delta$) и немиелинизированные (C) волокна являются проводниками температурной и ноцицептивной (от лат. *nocere* - вредный) чувствительности. Возникающие при контакте с раздражающими веществами эффекты, по-видимому, являются следствием избирательного действия токсикантов на более тонкие, а следовательно и более уязвимые волокна. В высоких концентрациях вещества могут действовать на специализированные нервные окончания толстых волокон. Например тяжелое поражение адамситом приводит к раздражению рецепторов растяжения гладких мышц легочной ткани. Это сопровождается нарушением процессов регуляции акта вдох - выдох. Специализированный структурный аппарат нервных окончаний, воспринимающих раздражение и боль, до настоящего времени в покровных тканях не обнаружен.

Возможны два способа действия химических веществ на нервные окончания:

- прямое (ингибирование арсинами SH-групп структурных белков и ферментов; действие капсаицина на ионные каналы возбудимой мембраны и т.д.), приводящее к нарушению метаболизма в нервных волокнах и их возбуждению;
- опосредованное активацией процессов образования в покровных тканях брадикинина, простагландинов, серотонина и других биологически активных веществ, которые вторично возбуждают окончания ноцицептивных волокон (рисунок 2).

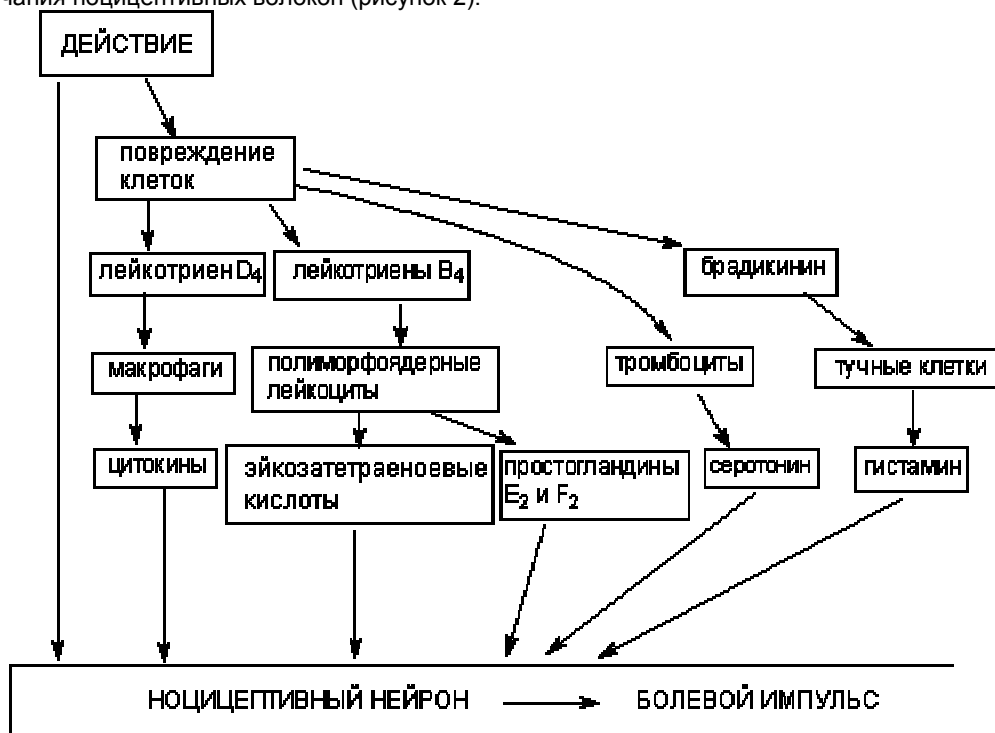


Рисунок 2. Упрощенная схема механизма действия раздражающих веществ на нервные окончания ноцицептивных волокон

Сигналы, воспринимаемые чувствительными нейронами, передаются на нервные окончания желатинозной субстанции и чувствительного ядра спинного мозга (кожа), а также тройничного нерва (глаза, носоглотка, дыхательные пути) - первичных центров обработки информации, поступающей с периферии. По существующим представлениям передатчиком нервных импульсов в синапсах здесь является полипептид - субстанция Р. Отсюда сигналы по нервным связям иррадируют в вегетативные и двигательные ядра среднего и продолговатого отделов мозга. Возбуждение последних приводит к замыканию нервных цепей, ответственных за формирование безусловных рефлексов, лежащих в основе клиники поражения раздражающими веществами: блефароспазма, слезотечения, ринореи, саливации, (ядра лицевого и глазодвигательного нервов), чихания, кашля (ядра солитарного тракта), замедления сердечной деятельности, частоты дыхания, рефлекса Геринга - Бреейра (ядра блуждающего нерва, дыхательный и сосудодвигательный центр).

Аксоны нейронов желатинозной субстанции и ядра тройничного нерва. Идущие в составе спинталамического тракта и медиальной петли, обеспечивают передачу сигналов в латеральный отдел таламуса - центр дальнейшей обработки информации. Таламус тесно связан со структурами экстрапирамидной и лимбической систем (как полагают, системой глутамат-чувствительных нейронов). Иррадиация нервного возбуждения из таламуса в эти структуры при тяжелом поражении веществами лежит в основе двигательных и психических нарушений, наблюдаемых при поражении раздражающими ОВ.

По таламокортикальному пути сигналы передаются в чувствительную зону коры головного мозга, где завершается интегративный процесс субъективного восприятия явлений, разыгрывающихся на периферии. Иррадиация возбуждения в коре приводит к потенцированию всех видов реакций структур головного мозга на поток импульсации, провоцируемой раздражением химическими веществами нервных окончаний.

Наряду со структурами, обеспечивающими восприятие, проведение и отражение ноцицептивного чувства (в форме безусловных, условных рефлексов и субъективного ощущения), в мозге имеется система, подавляющее это восприятие. Она представлена рецепторными структурами, локализованными на мембранах нейронов, участвующих в передаче болевых сигналов в ЦНС, и чувствительными к морфину и его аналогам. Эндогенными агонистами этих рецепторов является целая группа нейропептидов, обозначаемая как "опиопептины" (иногда используют термин "эндорфины" - эндогенные морфины). К этим веществам в частности относятся: мет-энкефалин, лей-энкефалин (пентапептиды), β -эндорфин и т.д. Опиопептины активируют μ -, δ -, κ -, σ -опиорецепторы и тем самым подавляют восприятие боли. Наибольшую роль в антиноцицептивном действии играют μ - и δ -рецепторы (каждый тип рецепторов имеет подтипы, например, μ_1 , μ_2 и т.д.). К сожалению, активация этих рецепторов сопровождается не только анальгезией, но и эйфорическим эффектом, повышением тонуса и ригидностью скелетной мускулатуры, угнетением дыхания, развитием физической зависимости от морфина и его аналогов. Наивысшая плотность рецепторов обнаружена в ядрах заднего рога спинного мозга, роstralной вентральной части продолговатого мозга, голубом пятне продолговатого мозга, околососудопроводном веществе (центральной серой субстанции) среднего мозга, ядрах таламуса и гипоталамуса и т.д. Интересно, что указанные области являются основными участками локализации в ЦНС тел норадренергических, дофаминергических и серотонинергических нейронов.

3. Основные проявления раздражающего действия

Наиболее подробно проявления поражений раздражающими веществами изучены на примере действия отравляющих веществ.

При воздействии на человека аэрозоля CS с размером частиц в среднем 1 мкм в течение 60 сек и концентрации 0,01 - 0,04 г/м³ развивается поражение легкой степени. Появляются ощущение жжения в глазах, иногда чувство боли, блефароспазм, в 5 - 10% случаев - светобоязнь. После прекращения действия токсиканта явления сохраняются не более 2 - 4 минут. При действии вещества в более высоких концентрациях присоединяются симптомы раздражения дыхательных путей, ощущение жжения во рту, носоглотке, в груди, ринорея, саливация, диспноэ, кашель. Иногда появляется боль в области лобных и гайморовых пазух. В более тяжелых случаях присоединяются тошнота и рвота. Как правило, продолжительность явлений не более 10 - 20 минут. Более продолжительна (до 2 - 6 часов) реакция на раздражающее действие дибензоксазепина (CR).

При действии раздражающих веществ в очень высоких концентрациях возможно развитие умеренной воспалительной реакции покровных тканей. Со стороны органа зрения выявляются изменения различной степени тяжести: от умеренного отека конъюнктивы, до отека роговицы с вовлечением в процесс всех её слоев, с последующей васкуляризацией и формированием стойкого помутнения; со стороны кожных покровов - от легкой эритемы, до буллезного дерматита. Токсодоза CS, в которой вещество вызывает поражение кожи, равна 14 г мин/м³, CR - в 20 раз меньше.

При тяжелых поражениях адамситом явления раздражения слизистых сопровождаются мучительными ощущениями. Поражаются глубокие участки дыхательных путей. Субъективно это проявляется чувством удушья. Болевой синдром выражен очень сильно. Боль иррадирует и ощущается в ушах, спине, суставах, мышцах конечностей. Появляются рвущие, царапающие за грудиной боли. На этом фоне наблюдается психомоторное возбуждение, двигательные расстройства (подергивание отдельных групп мышц, шаткая походка, слабость в ногах), нарушения психики (депрессия, сопорозное состояние). Сильное раздражение дыхательных путей может привести к рефлекторной остановке дыхания и сердечной деятельности.

В крайне тяжелых случаях поражения раздражающими веществами (LCt₅₀ CS равно 25 - 150 г мин/м³) возможно развитие токсического отека легких.

Для уменьшения явлений раздражения необходимо промыть глаза и полость рта чистой водой или 2% раствором гидрокарбоната натрия. При стойком болевом синдроме целесообразно использование местных

анестетиков (1% раствор дикаина или 2% раствор новокаина - в конъюнктивальный мешок; смазывание слизистой носоглотки 1% раствором новокаина). Стойкий болевой синдром иногда удается устранить лишь с помощью наркотических анальгетиков. Лица, подвергшиеся воздействию раздражающих веществ в очень высоких концентрациях, нуждаются в мероприятиях по предупреждению токсического отека легких.

4. Экспериментальное выявление раздражающего действия ксенобиотиков

Наиболее широко применяемым тестом на выявление раздражающего действия ксенобиотиков на орган зрения является тест Дрейза (Draize). Эксперимент выполняется на лабораторных животных, предпочтительно кроликах-альбиносах. Тест состоит во внесении исследуемого вещества в конъюнктивальный мешок глаза нескольким животным. Другой глаз является контрольным объектом. После внесения вещества веки принудительно смыкаются на несколько секунд. Испытуемый материал остается в контакте с органом зрения в течение 24 часов. По прошествии этого времени глаз промывают, однако его состояние продолжают исследовать еще в течение, по крайней мере, 3 суток. Развивающиеся эффекты оцениваются субъективно по выраженности повреждения роговицы (помутнение), радужной оболочки (изменение цвета, реакции на свет), конъюнктивы (покраснение, инъекция сосудов) и век (отек). Проба с флюоресцеином обычно используется для выявления скрытых дефектов эпителия роговицы. Нарушения, вызванные исследуемым веществом, оцениваются в баллах, что позволяет осуществлять сравнение различных веществ.

Недостатками метода являются: необходимость испытывать вещества в объемах и концентрациях, значительно превосходящих реально действующие; высокая степень различий в индивидуальной чувствительности животных к токсикантам; существенные различия в чувствительности к токсикантам глаза человека и экспериментальных животных.

Попытки модифицировать метод, сопряжены с использованием в качестве тест-объектов другие биологические системы (простейших, культуры клеток и т.д.), стандартизацией условий аппликации веществ, объективизацией оценки результатов.

ГЛАВА 7.2. ДЕРМАТОТОКСИЧНОСТЬ

Дерматотоксичность - это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем, вызывать повреждение кожных покровов. Воздействие ксенобиотиков осуществляется двумя способами: путем прямого контакта кожных покровов с парообразными, жидкими, твердыми веществами (формальдегид, фенолы, амины, кислоты, щелочи, кантаридин, этиленоксид, металлы и т.д.) и резорбтивного действия, вследствие проникновения веществ во внутренние среды организма с развитием системных эффектов (полигалогенированные диоксины, дибензофураны, никель, бериллий и т.д.). Кожа - самый объемный орган тела человека, составляющий около 15% от массы тела и с площадью поверхности около 2 м² (у взрослого). С учетом большой поверхности и ранимости кожи не удивительно, что она очень часто страдает при действии токсикантов. Кожа состоит из двух основных слоев: дермы и эпидермиса. Толщина эпидермиса на разных участках тела не одинакова, но в среднем - около 100 - 200 мкм. Большая часть эпидермиса формируется из сквамозных, активных в метаболическом отношении, клеток, синтезирующих структурные протеины, которые составляют основу наружного, рогового, слоя эпидермиса. Роговой слой формирует барьер на пути токсикантов, действующих из окружающей среды. Элементы рогового слоя, обладая высокой липофильностью, не позволяют проникнуть в организм водо-растворимым соединениям. Буферная активность молочной кислоты, амфотерных аминов, слабых оснований, находящихся в ороговевающих клетках, обеспечивают известную защиту от кислот и оснований. Базальный слой эпидермиса, представленный постоянно делящимися клетками с высокой митотической активностью, является ростковым слоем. Остальная часть осязаемой на ощупь толщины кожи образована волокнистой соединительной тканью дермального слоя (основные белки: коллаген, эластин, ретикулан) и межклеточным веществом.

Токсический процесс может носить характер острого и хронического воспаления, функциональных нарушений кожи и её придатков (волосных фолликулов, потовых и сальных желез), неопластических изменений. Токсический процесс, развивающийся в результате местного действия токсикантов, и сопровождающийся воспалительной реакцией, называется химическим дерматитом. Патологические процессы в коже, формирующиеся вследствие резорбтивного действия токсикантов называются токсидермиями.

1. Химические дерматиты

1.1. Контактные химические дерматиты

Обычно химические дерматиты подразделяют на неаллергические контактные, аллергические контактные, неиммунологические везикулярные сыпи.

С точки зрения профессиональной патологии наибольшего внимания заслуживают контактные дерматиты, развивающиеся в результате прямого цитотоксического и прижигающего действия.

Цитотоксический эффект возможен лишь при взаимодействии токсикантов с реактивными (живыми) биологическими системами (клетками эпителия, капиллярами, нервными окончаниями). В зависимости от условий, раздражающие вещества вызывают поражение глаз, дыхательных путей, кожных покровов. При действии в достаточной дозе непосредственно на кожу, возможно её изолированное поражение. Атакуя и разрушая белки и липопротеиды эпидермального и дермального слоев, нарушая процессы деления клеток базального слоя, созревания клеток эпидермиса, изменяя кровоснабжение кожи, токсиканты вызывают местные эффекты, проявляющиеся различной клинической картиной.

В отличие от раздражающего, прижигающее действие характеризуется альтерацией покровных тканей, формирующейся вследствие физико-химических процессов, инициируемых токсикантами (резкий сдвиг pH, окисление, изменение ионного состава), а также грубых структурных изменений макромолекул (денатурация и растворение белков, разрушение липидов и полисахаридов и т.д.). Изменения макромолекул, вызываемые прижигающими агентами, могут проходить и *in vitro*, т.е. прижигающее действие не обусловлено взаимодействием яда с живыми биосистемами. Химические ожоги вызывают крепкие кислоты, щелочи, окислители и т.д. Химическое строение вещества оказывает влияние на характер поражения, однако важнейшими свойствами, определяющими поражающее действие токсикантов, являются степень диссоциации кислот и щелочей и окислительно-восстановительная способность агрессивных соединений. Для обозначения особенности поражения, химический дерматит, вызываемый прижигающими веществами, называется - химическим ожогом. В отличие от термического ожога, химическое вещество, попав на кожу, если не приняты меры, длительно действует на ткани.

После местного действия раздражающих и прижигающих веществ развивается каскад патологических процессов, включая трансудацию плазмы в эпидермис, образование везикул и пузырей, некроз тканей. Воспалительные изменения, связанные с раздражением кожи, формируются вследствие реакции организма на первичные изменения, происходящие в покровной ткани. Денатурация белков, разрушение клеточных и внутриклеточных мембран, активация лизосомальных энзимов, нарушение клеточного деления в базальном слое кожи - инициируют патологический процесс, активируют высвобождение медиаторов воспаления. Это приводит к дополнительной гибели клеток и деструкции тканей, с последующей локализацией очага поражения и инициации процессов репарации.

В зависимости от выраженности поражения, острые химические дерматиты могут выявляться в трех клинических формах:

1. эритематозной, проявляющейся более или менее выраженным покраснением и отеком;
2. буллезной или везикулярной, характеризующейся образованием на эритематозном фоне пузырей и пузырьков, подсыхающих в корочки или вскрывающихся с образованием эрозий;
3. некротической, протекающей с образованием струпа и изъязвления, заживающего с образованием рубца.

Тяжелейшие воспалительно-некротические изменения в коже развиваются при местном действии некоторых боевых отравляющих веществ, таких как люизит, сернистый, азотистый, кислородный иприт.

Схематически динамика процессов представлена на рисунке 1.



Рисунок 1. Схема развития токсического процесса в коже

Часто контактные дерматиты развиваются вследствие повторного действия веществ с умеренной и слабой раздражающей активностью. Считается, что при длительном воздействии практически любое вещество может вызвать контактный дерматит. Дерматиты, связанные с повторным действием раздражающих веществ, наиболее часто встречаются на производстве. Хронические дерматиты, возникающие под влиянием длительного воздействия относительно низких концентраций веществ, характеризуются пассивной гиперемией, инфильтрацией, лихенификацией и гиперкератозом, а в некоторых случаях - атрофическими изменениями кожи. Причинами кожных высыпаний нередко бывают лекарственные препараты, косметика, красители и т.д.

Факторы, определяющие картину поражения, и её выраженность, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Факторы, определяющие развитие поражений кожи токсикантами

- Токсический потенциал вещества:
 - физические свойства
 - химические свойства
 - агрегатное состояние
- Количественные характеристики воздействия:
 - концентрация
 - продолжительность воздействия
 - кратность воздействия
- Качественные аспекты воздействия:
 - окклюзия вещества на коже
 - температура кожи и окружающей среды
 - предшествовавшие повреждения барьерных свойств кожи
 - анатомическая область
- Чувствительность индивида:
 - гиперреактивность (аллергизация)
 - раса
 - пол
 - возраст

1.2. Аллергические дерматиты

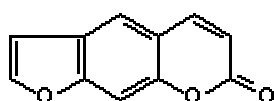
Особую группу патологических состояний составляют химические контактные дерматиты аллергической природы. Патология проявляется лишь после более или менее продолжительного контакта с соответствующим химическим веществом. При этом повышенная чувствительность не смотря на то, что сенсибилизатор контактирует с ограниченным участком кожи, возникает по всему кожному покрову. Клинически это проявляется высыпаниями различной локализации, включая открытые участки кожи: шею, руки, лицо; ощущением жжения, зуда и т.д. В ряде случаев отмечается сопутствующее поражение глаз. Высыпания проявляются в различной форме, причем один и тот же токсикант у разных людей способен вызывать неодинаковые формы поражения. Это обычные эритематозные, буллезные, микровезикулярные изменения, напоминающие экзему, уртикарные элементы, макуло-папулезные высыпания и т.д. Количество веществ, могущих вызвать развитие сенсибилизационных, аллергических дерматитов, очень велико. В производственных условиях наиболее часто аллергические сипы встречаются после воздействия скипидара, динитрохлорбензола, парафенилендиамина (урсол), формальдегида, соединений хрома или никеля. Причем, при поражении никелем кожа страдает как при системном, так и местном действии

токсиканта. У чувствительных к никелю людей может развиваться экзема. Сенсибилизаторами являются некоторые лекарственные средства, вызывающие развитие дерматита у медицинских работников, в частности: новокаин, препараты ртути, пенициллин, стрептомицин и т.д.

Тот факт, что сенсибилизация развивается лишь у отдельных людей, свидетельствует об их генетической предрасположенности к подобной патологии (см. раздел "Иммунотоксичность").

2. Фотодерматиты

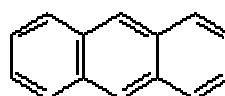
Ряд веществ обладают способностью повышать чувствительность кожных покровов к солнечным лучам. Такие вещества называются фотосенсибилизаторами. Они проявляют токсическое действие как при непосредственном контакте с кожей, так и при резорбции во внутренние среды организма. Фотосенсибилизаторы обладают способностью, во-первых, накапливаться в коже и, во-вторых, трансформироваться под влиянием ультрафиолетовых лучей в активные, реакционно-способные соединения. К ним относятся многие вещества растительного происхождения, в частности производные фурукумарина, нашедшие применение в клинической практике для лечения псориаза, грибкового микоза, витилиго (псорален, ксантоксин, бергаптен) продукты перегонки каменного угля и нефти (антрацен, антрахинон, фенантрен), некоторые красители (акридин и его производные), лекарственные вещества, в частности барбитураты (веронал, люминал) (рисунок 2). Некоторые вещества вызывают фотосенсибилизацию, нарушая порфириновый обмен и повышая содержание порфиринов в организме (соединения свинца, мышьяка, золота и т.д.). Поражения, возникающие вследствие фотосенсибилизации, выявляются чаще всего в форме обычной солнечной эритемы (иногда буллезного дерматита) на открытых участках кожи.



фурукумарин



акридин



антрацен

Рисунок 2. Структура некоторых фотосенсибилизирующих агентов

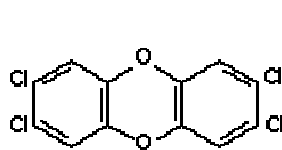
3. Токсидермии

Токсидермии развиваются при системном действии токсикантов. Отдельные вещества вызывают поражение кожи у всех лиц, контактирующих с ними (облигатные токсиканты), другие - лишь у людей, с повышенной индивидуальной чувствительностью, возникающей, как правило, при длительном контакте с веществом (факультативные токсиканты).

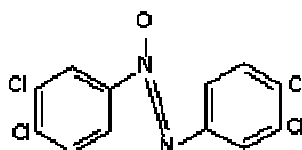
К облигатным токсикантам относятся, в частности, полигалогенированные полициклические углеводороды (ПГУ) следующих химических групп (рисунок 3):

- 1) хлорнафталены;
- 2) полихлорированные бифенилы;
- 3) полихлорированные дибензофураны;
- 5) тетрахлоразобензол;
- 4) полихлорированные дибензодиоксины;
- 6) тетрахлоразооксибензол.

Бромпроизводные этих соединений также обладают дерматотоксичностью. Большинство указанных веществ образуются в виде примесей при производстве других химических соединений, таких как хлорированные фенолы, дихлоранилин, дихлор- и трихлорфеноксиуксусные кислоты, широко используемых в промышленности и сельском хозяйстве. Указанные соединения встречаются в форме многочисленных изомеров. Токсичность изомеров существенно зависит от положения атомов галогенов в молекуле. Так, диоксин имеет более 100 изомерных форм, однако наибольшей физиологической активностью обладает 2,3,7,8-тетрахлордибензо-p-диоксин.



2,3,7,8-тетрахлордибнзодиоксин



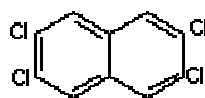
3,3',4,4'-тетрахлоразоксибензол



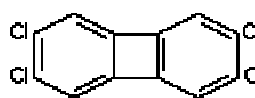
2,3,7,8,-тетрахлордибензофуран



3,3',4,4'-тетрахлорбифенил



2,3,6,7-тетрахлорнафтаден



2,3,6,7-тетрахлорбифенилен

Рисунок 3. Структура некоторых полигалогенированных полициклических углеводов, вызывающих токсидермию

Клиническая картина поражения кожных покровов ППУ определенного строения, характеризующаяся акне-формными высыпаниями, в настоящее время в литературе обозначается, как хлоракне, хотя причинами патологии могут быть и бромпроизводные ППУ. Высыпания наиболее часто формируются на коже лица, половых органов, спины, плеч, живота. Кожа конечностей вовлекается в процесс лишь в крайне тяжелых случаях. Морфологической основой хлоракне является сквамозная метаплазия эпителия сальных желез и превращение их в кератин-содержащие цисты. Процесс развивается медленно в течение недель и месяцев, начавшись на лице, он постепенно захватывая новые участки кожи. При легком поражении выздоровление наступает через несколько месяцев после прекращения контакта с токсикантами. Однако в случае тяжелой интоксикации проявления сохраняются в течение многих лет (по некоторым данным до 20 лет и более). Хотя механизм токсического действия ППУ до настоящего времени окончательно не выяснен, есть основания полагать, что развивающиеся нарушения связаны с изменениями в обмене стероидов, в частности, глюкокортикоидов, повышением активности гормонов этой группы, сенсибилизацией к их действию соответствующих цитозольных и ядерных рецепторов тканей организма.

К числу факультативных токсикантов, вызывающих токсидермию, относятся многочисленные лекарственные препараты, в частности, антипирин, салицилаты (аспирин), антибиотики (пенициллин, стрептомицин, синтомицин, биомицин), сульфаниламидные препараты, а также соединения мышьяка, ртути, таллия и т.д. Клиническая картина аллергических токсидермий разнообразна. Она может проявляться в форме пятнистой или разлитой (иногда универсальной) эритемы, эритематозно-буллезных, везикулезных и пустулезных поражений, узелковых высыпаний, пурпуры, очагов гиперпигментаций и т.д. Как правило, клинике предшествует период относительно продолжительного контакта с веществом.

Механизм возникновения токсидермий изучен недостаточно, по всей видимости, он не одинаков для разных веществ и у разных лиц. Среди возможных причин иммунотоксические эффекты ксенобиотиков (см. раздел "Иммунотоксичность"), врожденная непереносимость токсиканта (идиосинкразия), кумуляция токсиканта в коже и инициация хронического процесса (кератодермии ладоней и стоп при хроническом отравлении мышьяком).

4. Краткая характеристика некоторых токсикантов

4.1. Поражение органическими растворителями

В качестве органических растворителей наиболее часто используют вещества, относящиеся к одной из следующих групп: алифатические углеводороды, ароматические углеводороды, галогенированные алифатические углеводороды. Углеводороды являются продуктами перегонки нефти. Большая их часть - насыщенные (предельные) углеводороды, однако применение находят и ненасыщенные (непредельные) и ароматические соединения. Эти вещества используются очень широко и потому отравления ими встречаются достаточно часто.

Органические растворители, будучи липофильными соединениями, легко проникают в кожу и всасываются в кровь. Они обладают раздражающим действием на кожу. Поражения, в зависимости от условий, представленных на таблице 1, проявляются контактным дерматитом различной степени тяжести, от легкой эритемы, до некроза эпидермиса, экзематозными высыпаниями, ожогом кожи. Жидкие углеводороды (бензин) и некоторые ароматические углеводороды (бензол, ксилол) - обезжиривают и высушивают кожу и при длительном воздействии, особенно в сочетании с трением, могут привести к развитию воспалительного процесса, выражающегося в покраснении и шелушении кожи, образовании трещин. Высокомолекулярные, маслянистые жидкости (керосин, минеральные масла) чаще являются причиной развития так называемых масляных фолликулитов, нередко наблюдаемых у шоферов.

На клеточном уровне органические растворители действуют как сосудистые яды, повреждая клетки эндотелия. После обработки кожи органическими растворителями существенно нарушаются её барьерные свойства - она становится проницаемой для многих токсикантов (явление "фенестрации").

При попадании растворителей на кожу их следует удалить путем обмывания пораженного участка водой с мылом. С целью профилактики, работа с растворителями должна проводиться в средствах защиты кожи.

4.2. Поражения мышьякорганическими соединениями

В этой группе наиболее хорошо изучены соединения, рассматривавшиеся ранее, как возможные боевые отравляющие вещества (БОВ), в частности, метиларсиндихлорид, этиларсиндихлорид, фениларсиндихлорид, хлорвиниларсиндихлорид, дихлорвинилхлорарсин, трихлорвиниларсин (смесь последних трех соединений получила название "люизит"). Это маслянистые летучие жидкости, легко проникающие через биологические барьеры, и потому вызывающие поражение глаз, органов дыхания и общетоксические эффекты. В основе токсического действия лежит способность трехвалентного мышьяка взаимодействовать с сульфгидрильными группами, вызывая структурные нарушения белков, угнетение активности ферментов. В частности, взаимодействуя с липоевой кислотой, они угнетают активность пируватоксидазного комплекса энзимов, кофактором которого является кислота. Поэтому токсичность органических производных трехвалентного мышьяка определяется их липофильностью и сродством к сульфгидрильным группам. Очень чувствительной к действию мышьякорганических соединений является стенка сосудов. Под влиянием веществ расширяются артериолы, венулы, капилляры, резко усиливается их проницаемость, что приводит к выходу в ткани плазмы крови и форменных элементов. В итоге кровоснабжение ткани нарушается.

При действии люизита на кожу уже в течение 30 минут на месте аппликации появляется эритема. Через 12 часов формируются мелкие пузырьки, которые, сливаясь, формируют один большой пузырь, наполненный мутноватой, слегка опалисцирующей жидкостью, содержащей следы мышьяка, и большое количество лейкоцитов. В случае тяжелого поражения процесс прогрессирует. После вскрытия пузыря обнажается длительно незаживающая язва.

С целью оказания помощи с пораженного участка кожи удаляют токсическое вещество (использование воды с мылом, спиртовой настойки йода, хлорамина, 3% раствора соды, содержимого специального противохимического пакета). Лечение проводят с помощью мази, содержащей димеркаптопропанол (британский антилюизит - БАЛ; 10%); после образования пузырей - помощь оказывают по общим правилам комбустиологии.

4.3. Поражение сернистым ипритом

Дихлордиэтилсульфид (иприт) со времен первой Мировой войны находился на снабжении армий многих стран мира в качестве БОВ. Это маслянистая липофильная жидкость, плохо растворимая в воде, с запахом горчицы. Помимо поражения кожи вызывает при местном действии поражения глаз, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, а при резорбции симптомокомплекс, в основе которого лежит глубокое нарушение обмена веществ, угнетение кроветворения. Токсичность вещества для человека при действии на кожу составляет 10 - 50 мг/кг.

Иприт является алкилирующим агентом, т.е. это вещество способно образовывать ковалентные связи с нуклеофильными, реакционно-способными группами (RO-, RS-, RN-), входящими в состав молекул аминокислот, нуклеотидов, коэнзимов (NAD), белков, РНК, ДНК. Особенно большое биологическое значение имеет алкилирование ДНК. Причем, связывание токсиканта с азотом молекулы гуанина в 7 положении составляет около 90% поврежденной ДНК. Эта реакция лежит в основе целой цепи событий, приводящей к нарушению клеточного деления, синтеза белка, клеточной гибели. Иприт - классический генотоксикант. В наибольшей степени при отравлении ипритом страдают ткани с высокой митотической активностью (костный мозг, кожа, слизистые оболочки, лимфоидная ткань). В коже поражению также подвергаются, прежде всего, быстро делящиеся клетки базального слоя эпителия. Около 10% проникшего в кожу иприта связывается с этими клетками.

При контакте иприта с кожей человека до 80% испаряется, 20% пенитрирует, из которых - 10% фиксируется в коже, остальное количество распределяется в организме. У животных с шерстяным покровом иприт оказывает более выраженное резорбтивное действие, поскольку слой эпидермиса у них тоньше, в сравнении с человеком, выше плотность волосных фолликулов.

Поражения развиваются в две стадии. Острая стадия включает разрушение фибробластов, эндотелия поверхностных капилляров и венул, путем прямого цитотоксического действия. Отсроченная стадия характеризуется распадом клеток базального слоя эпидермиса, усилением сосудистой проницаемости, миграцией нейтрофилов, образованием пузырей. При микроскопировании в коже обнаруживается вакуолизация клеток базального слоя, гиалиновые включения в отдельных клетках, отслоение клеток базального слоя от дермы, образование внутри-, а затем и субэпидермальных пузырей.

Наиболее чувствительными участками кожи являются область подмышечной впадины, ягодицы, мошонка. Выделяют три степени тяжести (формы) поражения кожи ипритом.

Легкая (эритематозная форма). После латентного периода, продолжающегося 6 - 8 часов, на месте аппликации появляется покраснение, напоминающее солнечный ожог, припухание кожи, сильный, порой непереносимый, зуд. Заболевание разрешается в течение 5 - 10 дней. В последующем отмечается шелушение и гиперпигментация места поражения в течение нескольких месяцев. Гиперпигментация связана с резким увеличением числа хроматофоров, содержащих повышенное количество меланина. Эти клетки образуют обширные отложения в верхних слоях дермы и эпидермисе, насыщают пигментом кератициты. Большие включения меланина обнаруживаются во всех слоях эпидермиса, включая роговой. Кроме того, в верхних слоях дермы области поражения обнаруживаются меланофаги, наполненные грубыми гранулами меланина.

Средняя степень тяжести (поверхностная буллезная форма). Область поражения существенно припухает. Спустя 24 часа после воздействия по краю эритемы появляются пузырьки. Место поражения очень болезненно. Пузырьки постепенно сливаются, образуя пузырь, диаметром до нескольких дециметров. К 4-му дню развивается вишнево-красная окраска области воспаления, которая постепенно заменяется коричневой пигментацией (6 - 8 недель). Пигментация усиливается и на отдельных участках кожа приобретает черный цвет. После вскрытия образуется эрозивная поверхность. Эпителизация в течение 4 и более недель.

Тяжелое поражение (глубокая буллезная форма). В области поражения формируется сначала пузырь, затем болезненная язва, захватывающая все слои кожи. Эпителизация с рубцеванием в течение 2 - 3 месяцев.

При гистологическом исследовании области поражения выявляются участки с разрушенным эпителием, покрытые фибрином, в основании пораженной области - бактериальные колонии. Венулы и капилляры расширены, особенно вокруг потовых желез и волосных фолликулов и в гиподерме. В венулах обнаруживается фибрин. Артерии и артериолы, как правило, без изменений. Воспалительная инфильтрация ограничена. Эти изменения отличаются от картины химического ожога кожи (см. ниже), где преобладают признаки денатурации, коагуляции, сморщивания тканей с выраженным тромбозом сосудов.

Для оказания помощи на догоспитальном этапе в вооруженных силах с целью удаления вещества с пораженной поверхности кожи используют жидкость специальных индивидуальных противохимических пакетов. Кроме того после механического удаления капель ОВ можно использовать хлорамин-Т в виде пудры или 5 - 10% раствора, раствор соды или гипохлорита кальция, в виде 10% раствора. В случае развития патологии помощь оказывают по общим правилам комбустиологии, так как специфические противоядия иприта до настоящего времени не разработаны.

4.4. Поражение альдегидами

Альдегиды, это вещества, содержащие в молекуле карбонильную группу -НСО, способные к восстановлению до спиртов или окислению до кислот. Среди альдегидов наибольшей алтерерирующей способностью обладают формальдегид, акролеин, глутаровый альдегид. Эти вещества широко используются в химическом синтезе, производстве пластмасс, текстильной и кожевенной промышленности.

Большинство альдегидов - летучие жидкости, одновременно вызывающие поражения (помимо кожи) глаз и дыхательных путей (см. соответствующие разделы).

Действие альдегидов на кожу сопровождается явлениями раздражения, эритемой. Повторные контакты с веществами вызывают сенсibilизацию тканей. Развиваются аллергические контактные дерматиты, экзематоз. Формальдегид - наиболее частая причина аллергических контактных дерматитов на производствах. Различные изделия, содержащие формальдегид, также провоцируют развитие дерматита. К числу таковых относятся: пластики, клеи, фунгициды, консерванты, искусственная кожа, древесный дым, фиксирующие смеси в гистологии и анатомии, фотографические материалы. Лучший способ профилактики - избегать прямого контакта с альдегидами.

Акролеин и глутаровый альдегид - сильно раздражают слизистые оболочки глаз и дыхательных путей. Повторный контакт с веществами также может вызывать алергизацию, хотя и реже, чем формальдегид. Перекрестная аллергическая реакция на альдегиды различного строения не отмечается.

4.5. Поражение эпоксидными смолами

Система эпоксидных смол, как правило, состоит из собственно смолы, отвердителя и реактивного агента. Иногда в систему добавляют красители, полластификаторы, стекло и т.д. Эпоксидные смолы широко используются в качестве клеев для металла, пластмасс, керамики, в том числе и в быту.

Основной формой патологии, вызываемой смолами, являются контактные аллергические дерматиты. Более 90% лиц, имеющих контактную аллергию на клеи, специфически сенсibilизированы смолой. Проявления дерматита никогда не ограничиваются областью кистей рук, но распространяются и на предплечья. Часто в процесс вовлекается кожа лица и шеи. Лицам с аллергическим дерматитом следует менять работу, если она сопряжена с постоянным контактом со смолами.

4.6. Поражение щелочами

Неорганические щелочи это такие соединения как гидраты окиси натрия, калия, лития, бария, кальция. Эти вещества широко используют в быту и на производстве в качестве моющих средств, очистителей дренажных систем, средств для удаления красок с поверхностей. Гидрат окиси натрия может вызвать глубокие поражения кожных покровов вследствие способности омылять жиры, денатурировать протеины (в том числе коллаген), вызывать дегидратацию клеток и тканей. Щелочи приводят к образованию рыхлого желатиноподобного струпа коричневого цвета. Поражение щелочами обозначают как "калликвационный некроз". Поражение щелочами развивается постепенно. Поражение тканей обычно более глубокое, чем при поражении кислотами (см. ниже). Также как и при поражениях другими агрессивными жидкостями, степень тяжести зависит от концентрации веществ и времени контакта с покровными тканями. Исследование биоптатов кожи предплечья из области поражения 1N NaOH выявляет прогрессирующие воспалительные изменения, заканчивающиеся полной деструкцией эпителия в течение 60 минут.

Помимо кожи, щелочи могут вызывать поражение глаз, дыхательных путей, ЖКТ. Травма глаз может оказаться очень сильной, включая разрушение конъюнктивального и рогового эпителия, помутнение роговицы, полную слепоту.

Некоторые коммерческие сорта цемента представляют собой комбинацию силиката кальция с различным содержанием алюминия, алюмината кальция, оксида железа. При смешивании порошка с водой могут образовываться гидраты окиси натрия, калия, кальция, при этом pH раствора поднимается до 12 и выше. Контакт с таким цементом может приводить к поражению кожи в течение нескольких часов.

Оказание помощи начинается на догоспитальном этапе. Необходимо снять загрязненную одежду и обувь, а пораженную кожу обработать водой. При обширных ожогах необходима поддерживающая терапия, включая назначение кислорода, переливание жидкостей. В условиях госпиталя лечение осуществляется по правилам оказания помощи ожоженным.

4.7. Поражение кислотами

4.7.1. Поражение хромовой кислотой

Хромовая кислота широко используется в промышленности. Из различных валентных состояний хрома (+2; +3; +6) наиболее токсичны соединения шестивалентного хрома. Помимо действия как кислоты (изменение pH ткани) хром вызывает и окисление тканей, при этом его валентность изменяется с +6 до +3. Смесь хромовой кислоты с серной кислотой, часто используемая в электронной промышленности, токсичнее чистых веществ.

Относительно кратковременный контакт с кожей быстро приводит к её поражению и абсорбции вещества во внутренние среды организма. Если поражение сопровождается взрыв, то в процесс, как правило, вовлекаются обширные поверхности кожных покровов и слизистые оболочки. Глубокое поражение 1% поверхности кожи хромовой кислотой сопровождается общерезорбтивным действием яда (поражение почек). Если площадь поверхности достигает 10% и более - высока вероятность летального исхода. Пострадавшие предъявляют жалобы на боли в области ожога, общее недомогание. Отмечаются диарея, желудочное кровотечение, при обследовании - гемолиз, поражение печени и почек.

Оказание помощи начинается немедленно. Пораженный участок необходимо тщательно обработать водой. Если манипуляция не выполнена в течение нескольких минут - высока вероятность глубокого поражения кожи, абсорбции токсиканта. Местно целесообразно назначение тиосульфата, цитрата или лактата натрия. Некоторые авторы рекомендуют глубокое иссечение пораженных тканей. Системно назначают тиосульфат натрия, димеркаптол, кальциевую соль ЭДТА по общим схемам (см. соответствующий раздел). В эксперименте показан положительный эффект обменного переливания крови, гемодиализа.

4.7.2. Поражение плавиковой кислотой.

Плавиковая кислота (HF) - бесцветная летучая жидкость или пар с раздражающим едким запахом. Широко применяется в промышленности и быту в качестве чистящего средства. Вещество обладает выраженными коррозивными свойствами. В основе поражающего действия лежат два механизма. Первый свойственен всем кислотам - изменение pH ткани (диссоциация кислоты с образованием иона водорода),

второй обусловлен специфическим действием иона фтора, проникающего в клетки и ткани. Ион фтора при химическом взаимодействии с ионами кальция образует нерастворимую в воде соль, концентрация свободного кальция падает, что неблагоприятным образом сказывается на метаболизме клеток, целостности биологических мембран, приводит к гибели клеток. Как и при поражениях другими агрессивными жидкостями, тяжесть состояния определяется концентрацией кислоты, площадью поражения, продолжительностью контакта.

Пораженные плавиковой кислотой участки кожи имеют белесоватый цвет. Область - болезненна. Постепенно развивается отек, а затем и некроз тканей. Если концентрация кислоты менее 20% клиника поражения (боль и эритема) появляются спустя 20 и более часов. Кислота, концентрация которой равна 50% и выше, вызывает немедленный ожог, быструю некротизацию тканей.

Пострадавшие жалуются на сильную боль в области ожога. Не смотря на принимаемые меры поражение клеток, как правило, прогрессирует. Развиваются пузыри, а затем и некроз на месте действия кислоты. В крайне тяжелых случаях поражение охватывает и подлежащие ткани и даже кости (деминеализация костной ткани).

Оказание помощи при поражении плавиковой кислотой помимо общих мероприятий (см. выше) включает немедленную обработку пораженной поверхности растворами веществ, образующих нерастворимые соединения с HF, например раствор оксида магния, взвесь глюконата кальция, солей аммония. Более эффективным мероприятием является обкалывание места поражения раствором глюконата кальция. Требуемый объем препарата 0,5 мл/см² пораженной ткани. К сожалению, в таком количестве вещество может быть введено далеко не всегда (например, при поражении кожи пальцев). Прогрессивным считается метод внутриартериального введения препарата. После катетеризации артерии глюконат кальция вводят в течение 4 часов (10 мл 10% раствора в 50 мл физраствора). По данным авторов болевой синдром исчезает в течение 2 часов.

5. Оценка дерматотоксичности ксенобиотиков в эксперименте

Особое значение выявление дерматотоксичности имеет при определении переносимости веществ, специально предназначенных для нанесения на кожу: косметики, детергентов, лекарственных средств и т.д.

В эксперименте эффекты оцениваются путем аппликации ксенобиотика на поверхность кожи. Выделяют четыре категории исследований, направленных на выявление:

- непосредственного раздражающего (прижигающего) действия;
- сенсибилизирующего действия;
- фототоксичности;
- фотосенсибилизирующего действия.

Опыты для выявления раздражающего (прижигающего) действия производятся на лабораторных животных, желательнее кроликах. На спине животных освобождаются от волос две области, площадью около 5 см². Кожа на одной из областей слегка скарифицируется. На обе поверхности наносят исследуемое вещество в количестве 0,5 мл (г) после чего участки кожи покрывают марлевыми салфетками. Через 24 часа обработанные токсикантом участки кожи осматривают, обращая особое внимание на выраженность эритемы и отека ткани. Степень поражения кожи оценивают в баллах. Через 48 часов исследование повторяют.

Тесты по выявлению сенсибилизирующей активности основаны на способности веществ оказывать более выраженное действие на кожу при повторном воздействии. Реакция развивается на меньшие количества токсиканта и распространяется на области, непосредственно не контактировавшие с ним. В основе явления лежит иммунный механизм. Полагают, что в ходе первичного воздействия химическое вещество вступает во взаимодействие с белками кожи с образованием комплексного антигена; последний идентифицируется иммунной системой как чужеродный агент, на который вырабатываются антитела. Повторное воздействие токсиканта приводит к развитию аллергической реакции. Основным биологическим объектом, используемым в исследовании, являются морские свинки. Животные обрабатываются токсикантом в соответствующем растворителе. Контролем служит реакция животных на растворитель и известный сенсибилизирующий агент - 2,4-динитрохлорбензол в соответствующем растворителе. В периоде индукции на кожу морских свинок в течение 2х недель с интервалом 3 дня наносится токсикант. Затем, спустя 2 недели инкубационного периода, вещество апплицируется повторно (на 24 часа, по методике описанной выше). Выраженность эффекта оценивается на основании степени повреждения кожи и количества животных, у которых развилась положительная реакция на токсикант.

Модификации метода состоят в том, что в периоде индукции экспериментальному животному токсикант вводят внутрикожно совместно с адьювантом Фройнда (смесь веществ, усиливающих выработку антител), а разрешающую дозу наносят на поверхность кожи. Важно перед исследованием оценить непосредственное раздражающее (прижигающее) действие токсиканта, с тем, чтобы при оценке его сенсибилизирующих свойств использовать дозы, не вызывающие повреждения кожи.

Тесты на фототоксичность предназначены для оценки способности веществ вызывать повреждение кожи при совместном действии со светом (преимущественно ультрафиолетовой части спектра). Разработаны специальные пробы на выявление как фототоксичности, так и фотосенсибилизирующего действия. В обоих случаях предполагается, что энергия света вызывает возбуждение молекулы токсиканта, которая, возвращаясь в нормальное энергетическое состояние, генерирует в коже реактивные, свободно-радикальные продукты. В случае фототоксичности, образовавшиеся радикалы непосредственно повреждают клетки ткани, при фотосенсибилизации они взаимодействуют с протеинами с образованием комплексных антигенов. Последние стимулируют выработку антител, что и приводит к аллергизации организма. Эти тесты являются модификациями, описанных выше тестов, по выявлению раздражающего и сенсибилизирующего действия, отличающимися тем, что обработанные исследуемым веществом участки

кожи, подвергаются ультрафиолетовому облучению. Контролем являются животные, обработанные токсикантом, но не подвергшиеся облучению.

Недостатками методов являются: известный субъективизм при оценке эффектов и неопределенность, возникающая при аппроксимации данных, полученных на лабораторных животных, на человека.

ГЛАВА 7.3. ПУЛЬМОНОТОКСИЧНОСТЬ

Ппульмонотоксичность - это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем вызывать структурно-функциональные нарушения со стороны органов дыхания.

Обладая огромной площадью поверхности, лёгкие находятся в состоянии постоянного воздействия ксенобиотиков, содержащихся во вдыхаемом воздухе. В подавляющем большинстве случаев, когда концентрации веществ малы, такие воздействия никак не проявляют себя. Если же уровень воздействия достаточно высок, формируется токсический процесс, тяжесть которого колеблется в широких пределах от незначительных явлений раздражения (транзиторная токсическая реакция) до тяжелейших расстройств со стороны многих органов и систем (интоксикация). Пульмонотоксичность может проявляться как при местном, так и при резорбтивном действии токсикантов. Более того, не все вещества, действующие ингаляционно, обладают пульмонотоксичностью. Для многих токсикантов легкие лишь входные ворота, которые они проходят, не вызывая повреждений (монооксид углерода, мышьяковистый водород, стибин, ТЭС и т.д.). Вместе с тем к некоторым соединениям, проникающим в организм и другими путями (например, через желудочно-кишечный тракт) ткань легких чрезвычайно чувствительна. **Вещества, порог чувствительности к которым органов дыхания существенно ниже, чем других органов и систем, и клиника поражения которыми характеризуется нарушениями со стороны, прежде всего, органов дыхания, условно можно отнести к группе пульмонотоксикантов.**

Как следует из определения, не все вещества, вызывающие нарушения со стороны дыхательной системы обладают пульмонотоксичностью. Так, ксенобиотики, вмешивающиеся в механизмы центральной регуляции дыхания (наркотические анагетик, неэлектролиты, барбитураты и др.), отравление которыми сопровождаются выраженными функциональными нарушениями со стороны дыхательной системы, к числу пульмонотоксикантов в строгом смысле слова не относятся.

По большей части пульмонотоксичность проявляется при ингаляционном способе воздействия ксенобиотиков в форме газов, паров и аэрозолей. Перечень веществ, действующих на организм ингаляционно, очень велик и включает загрязнители атмосферного воздуха и воздуха рабочей зоны, гербициды, пестициды, сильнодействующие и ядовитые вещества (СДЯВ - при нештатных ситуациях на производствах), отравляющие вещества (ОВ - в ходе военных конфликтов) и т.д.

Некоторые вещества вызывают поражение уже вследствие однократного воздействия, другие провоцируют патологию только при длительной экспозиции или повторных воздействиях.

Каким бы образом не формировался токсический процесс, клинические эффекты группируются вокруг достаточно ограниченного числа типичных патологических состояний. К их числу относятся: явления обратимого раздражения верхнего и нижнего отделов дыхательных путей; стойкое поражение дыхательных путей; повреждение терминальных респираторных единиц легких (ацинусов) в форме воспалительных, пролиферативных процессов и нарушения проницаемости альвеолярно-капиллярного барьера; новообразования. Некоторые токсиканты способны вызывать множественные нарушения со стороны дыхательной системы. Так, асбест вызывает не только фиброз легочной ткани, но и рак легких. Сигаретный дым вызывает самый широкий спектр патологических состояний от хронического бронхита до эмфиземы и рака легких.

1. Краткая характеристика морфологии дыхательной системы

Выделяют три основных отдела дыхательной системы: назофарингиальный (полость носа, ротовая полость, гортань), трахеобронхиальный (трахея, первичные бронхи, вторичные бронхи), лёгочный (терминальные бронхи, респираторные бронхиолы, альвеолярные ходы, альвеолярные мешочки, альвеолы). Газообмен осуществляется в структурах, располагающихся ниже респираторных бронхиол (ацинус). В тканях лёгких и бронхов обнаружено более 40 типов клеток, каждый из которых обладает существенными морфо-функциональными особенностями и, следовательно, особой чувствительностью к действию токсикантов.

1.1. Назофарингиальный отдел

Назофарингиальная область дыхательной системы человека начинается в носовых ходах, продолжается горизонтально, изгибается, под углом 90°, постепенно переходит в фаринголарингиальный отдел. Анатомический изгиб дыхательных путей образует первый барьер на пути ингалируемых токсикантов. Здесь вдыхаемые частицы аэрозоля диаметром 5 - 10 мкм сталкиваются со стенками воздухоносных путей и оседают на выстилающем их эпителии. Область гортани является анатомическим продолжением назофарингиальной области, её поражение отмечается при аналогичных условиях.

1.2. Трахеобронхиальный отдел

Этот отдел воздухоносных путей является вторым эшелонм защиты лёгких от токсикантов. Дыхательные пути покрыты реснитчатым эпителием. Секреторные клетки, бокаловидные клетки, щеточные клетки, клетки Клара и целый ряд других клеток продуцируют секрет, тонким слоем выстилающий слизистую дыхательных путей. Реснички эпителия совершают ритмические движения, поддерживая ток слизи из легких. С этим током из лёгких и дыхательных путей выводятся адсорбировавшиеся на поверхности эпителия частицы веществ не растворяющихся в воде (и, следовательно, секрете трахеобронхиальных желез). Скорость движения частиц по поверхности эпителия трахеи и бронхов составляет 1 - 4 мм/ мин. Мукоцилиарный транспорт - важнейший механизм освобождения дыхательных путей от ингалированных частиц аэрозолей.

Дыхательные пути подразделяются на три основные категории: бронхи, содержащие хрящ, респираторные бронхиолы, участвующие в газообмене, альвеолярные ходы. Хрящесодержащие бронхи выполняют функцию своеобразного каркаса лёгких и совместно с вышележащими дыхательными путями образуют так называемое "мёртвое пространство", объём которого оценивается физиологическими методами.

Респираторные бронхиолы представляют собой короткие трубочки диаметром около 0,5 мм с эластичной стенкой. Их поверхность выстлана реснитчатым и кубовидным эпителием, который постепенно уплощаясь, превращается в альвеолярный эпителий, выстилающий альвеолярные ходы, альвеолярные мешочки, альвеолы.

1.3. Паренхима легких

Паренхима лёгких образована огромным количеством альвеол. Альвеолы представляют собой тонкостенные микроскопические полости, открывающиеся в альвеолярный мешочек, альвеолярный ход или непосредственно в респираторную бронхиолу. Несколько сотен тесно примыкающих друг к другу альвеолярных ходов и мешочков образуют терминальную респираторную единицу (ацинус).

Газообмен, в основном, осуществляется в альвеолах. Барьер на пути диффундирующих газов образуют мембраны, состоящие из слоя альвеолярного эпителия, промежуточного вещества и эндотелиальных клеток капилляров. Альвеолярный эпителий образуется клетками трёх типов. Клетки первого типа представляют собой сильно уплощенные структуры, выстилающие полость альвеолы. Именно через эти клетки осуществляется диффузия газов. Клетки второго типа имеют кубовидную форму. Их поверхность покрыта микроворсинками, а цитоплазма богата ламеллярными телами. Эти клетки депонируют сурфактант - поверхностно-активное вещество сложной липопротеидной природы, содержащееся в тонкой пленке жидкости, выстилающей внутреннюю поверхность альвеол. Сурфактант регулирует силу поверхностного натяжения альвеолярной мембраны. Уменьшая силу поверхностного натяжения стенок альвеол, вещество не позволяет им спадаться. Его содержание контролируется процессами синтеза, выделения и депонирования. Клетки третьего типа, это легочные макрофаги, фагоцитирующие чужеродные частицы, попавшие в альвеолы, и участвующие в формировании иммунологических реакций в лёгочной ткани. Макрофаги способны к миграции по дыхательным путям, лимфатическим и кровеносным сосудам.

Интерстициальное вещество обычно представлено несколькими эластическими и коллагеновыми волокнами, фибробластами, иногда клетками других типов.

При патологических процессах с вовлечением любого компонента терминальной респираторной единицы - эпителия, эндотелия, интерстиция, затрудняется газообмен в лёгких. Денудация эпителия приводит к нарушению синтеза, выделения и депонирования сурфактанта, проницаемости альвеолярно-капиллярного барьера, экссудации отечной жидкости в просвет альвеолы; интерстициальный фиброз затрудняет диффузию газов; повреждение эндотелия усиливает проницаемость альвеолярно-капиллярного барьера, вызывает гемодинамические нарушения в легких, изменяет нормальное соотношение объема вентиляции и гемоперфузии легких и т.д.

1.4. Циркуляция крови и лимфы в лёгких

Кровеносные сосуды в лёгких располагаются параллельно воздухоносным путям. Сосуды, питающие бронхи, обеспечивают кровоснабжение до уровня терминальных бронхиол. Они ответвляются непосредственно от аорты и межреберных артерий. Венозная кровь от трахеи и бронхов оттекает по бронхиальным венам и собирается в vv. azygos и hemiazygos. В паренхиме лёгких бронхиальные сосуды образуют анастомозы с лёгочными венами.

Лёгочные артерии обеспечивают транспорт бедной кислородом крови к терминальным респираторным единицам. Они входят в лёгочную ткань, примыкая к основным бронхам, и движутся, разветвляясь, параллельно разветвлению бронхиального дерева. Венозная кровь, богатая кислородом, оттекает по легочным венам тем же путём. В области терминальных респираторных единиц лёгочные артерии разветвляются, давая начало сосудам, кровоснабжающим ацинус. Легочные вены дренируют кровь, оттекающую от нескольких ацинусов.

Капиллярная сеть в лёгких чрезвычайно развита и имеет большой суммарный объём. Скорость кровотока в ней минимальна, что создаёт условия для газообмена между протекающей кровью и альвеолярным воздухом. Капиллярная сеть обнимает несколько альвеол. Протекающая по ним кровь собирается в вены.

Объём лёгочной ткани регулируется системой лимфатических сосудов. Лимфатические сосуды представлены капиллярами, локализованными в соединительной ткани лёгких, и коллекторными лимфатическими сосудами. Различают глубокую и поверхностную системы лимфатических сосудов, связанных между собой. Развита лимфатическая система дренирует лёгочную ткань, неся лимфу к лимфатическим узлам, расположенным в области корня лёгкого. Помимо лимфатических узлов, по ходу бронхов, обнаруживаются участки лимфоидной ткани. Эта так называемая бронхоассоциированная лимфоидная ткань (БАЛТ) играет важную роль в формировании иммунных реакций организма.

В лимфатических узлах и БАЛТ накапливаются частицы нерастворимого в воде аэрозоля, попавшего в легкие и не выделившиеся с помощью мукоцилиарного тока. Эти частицы захватываются макрофагами, мигрирующими по лимфатическим сосудам в лимфоидную ткань.

2. Физиология дыхательной системы

С точки зрения токсиколога интерес представляют три аспекта физиологии дыхательной системы. Это вентиляция, газообмен, метаболизм ксенобиотиков и биологически активных веществ.

2.1. Вентиляция

Вентиляция лёгких - это совокупность физиологических актов, направленных на продвижение воздуха по воздухоносным путям к терминальным респираторным единицам (ацинусам), где и осуществляется газообмен. Способность к вентиляции определяется механическими факторами, такими как подвижность грудной клетки и диафрагмы, проходимость воздухоносных путей, а также эластичностью легочной ткани.

Патологические процессы, развивающиеся в лёгких в ходе токсического процесса, могут вызвать три типа изменений процесса вентиляции:

- структурно-механические. Состояния, сопряженные со снижением способности осуществлять полный акт вдох-выдох. Они наблюдаются при нарушении функций нервно-мышечного (слабость, паралич

дыхательной мускулатуры) и опорного аппарата, ответственного за внешнее дыхание (интоксикации ФОС, карбамидами, ботулотоксином, тетродотоксином, миорелаксантами и т.д.). Этот тип нарушений распознаётся при проведении ряда дыхательных тестов, и обозначается как "рестриктивный".

- повреждающие дыхательные пути. Повреждение дыхательных путей в форме острой (химический ожог, интоксикация ипритом, люизитом и т.д.) или хронической (длительное воздействие загрязнителей, курение) воспалительной реакции, а также бронхоспастические состояния существенно затрудняют выдох (интоксикация ФОС, карбамидами и др.). Этот тип нарушений обозначается как "обструктивный".

- нарушающие эластичность легочной ткани. Усиление ригидности лёгочной ткани, наблюдающееся при фиброзе (острая интоксикация паракватом), сопровождается существенным снижением легочного объёма. Противоположное состояние, наблюдаемое при эмфиземе, которая приводит к снижению ригидности лёгочной ткани, но сопряжена с затруднением движения воздуха по дыхательным путям.

2.1.1. Легочные объёмы

Максимальное количество воздуха, содержащегося в лёгких и дыхательных путях человека, которое может быть заменено на воздух окружающей среды при совершении максимального вдоха и выдоха, называется жизненной ёмкостью лёгких (ЖЁЛ) (рисунок 1). Даже при максимально возможном выдохе лёгкие полностью не спадаются, следовательно, небольшой объём воздуха задерживается в них. Этот объём воздуха называется остаточный объём (ОО). Сумма ЖЁЛ и ОО называется общей лёгочной ёмкостью (ОЛЁ). В состоянии покоя количество воздуха, участвующего в актах вдох-выдох (дыхательный объём - ДО), составляет лишь незначительную часть ЖЁЛ. Воздух остающийся в лёгких после обычного выдоха составляет функциональную остаточную ёмкость (ФОЁ). В условиях, требующих усиления вентиляции, возможны два пути: увеличение дыхательного объёма и учащение дыхания.

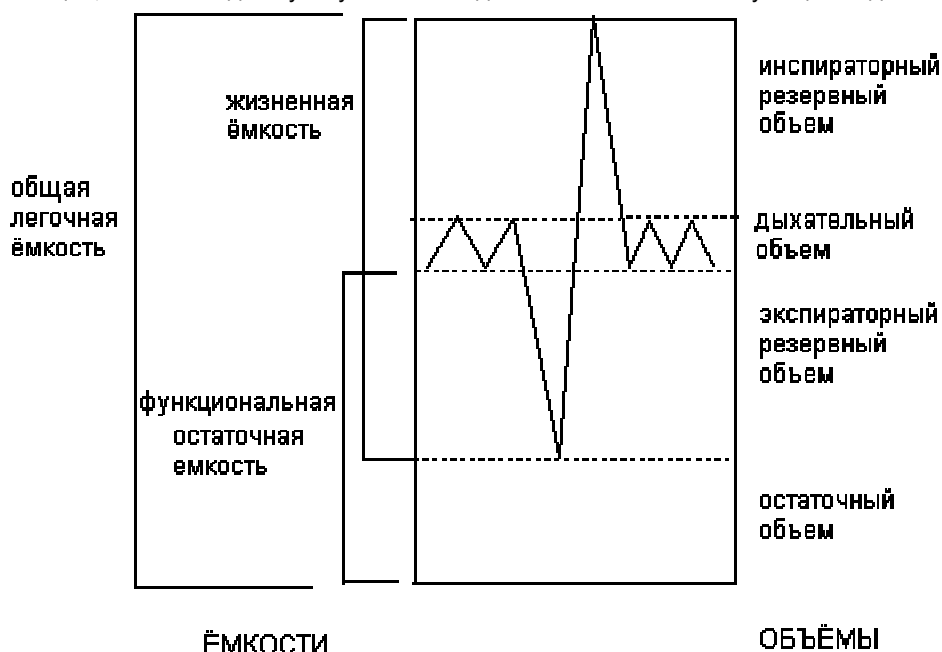


Рисунок 1. Жизненные ёмкости и объёмы легких

При развитии токсических процессов развиваются патологические состояния, сопровождающиеся изменением легочных объёмов и ёмкостей. Например, лёгочные объёмы и ёмкости могут существенно возрастать при астме и хронических обструктивных заболеваниях, сопровождающихся эмфиземой. В этих условиях существенно возрастает ОЛЁ главным образом за счет значительного увеличения ОО и ФОЁ. Напротив, состояния связанные с повышением ригидности лёгочной ткани (фиброз, гранулематоз лёгких) сопровождаются снижением ОЛЁ и других объёмов и ёмкостей лёгких. Следствием этих изменений является ухудшение вентиляции ацинусов. И в том и в другом случае существенно снижаются резервные возможности внешнего дыхания, и в случае необходимости усилить вентиляцию (физическая нагрузка), сделать это не представляется возможным.

2.1.2. Рефлексы, влияющие на дыхание

Рефлексы верхних дыхательных путей. В 1870 Кречмер описал рефлекс, формирующийся при раздражении (в том числе химическими веществами, например, аммиаком) верхних дыхательных путей. Проводниками сигнала являются обонятельный, тройничный и языкоглоточный нервы. Раздражение окончаний нервов приводят к немедленной реакции проявляющейся апное, брадикардией, падением, а затем подъёмом артериального давления. Аллен, в 1928 году показал наличие этого рефлекса у человека.

Рефлексы глубоких дыхательных путей. Раздражение нервных окончаний глубоких дыхательных путей инициирует кашель. Наличие этого рефлекса при ингаляции токсикантов у человека описано Салем и Авиано в 1974 году.

Бронхоальвеолярные рефлексы. В 1868 году Герингом и Брейером описан рефлекс, регулирующий глубину и частоту дыхания. Проводником рефлекса является блуждающий нерв. Нервные окончания, залегающие в легочной ткани, раздражаются при ее растяжении. Поток нервных импульсов в дыхательный центр служит сигналом для прерывания акта вдоха и инициации выдоха. Спадение легочной ткани приводит к прекращению импульсации и возобновлению вдоха. При раздражении нервных окончаний

(отечной жидкостью при отеке легких) акт вдоха прерывается раньше, чем в норме. Это приводит к учащенному, поверхностному дыханию.

Краткая характеристика рефлексов, лежащих в основе реакций внешнего дыхания, на возможные токсические воздействия представлена в таблице 1.

Таблица 1. Рефлексы дыхательной системы

Локализация рецепторов (краниальные нервы)	Физиологические и химические стимулы	Реакция дыхательной и сердечно-сосудистой систем
Верхние дыхательные пути (I, V, X)	Газы, пары, аэрозоли ирритантов	Апноэ, брадикардия, спазм сосудов
Глубокие дыхательные пути	Газы, пары, аэрозоли ирритантов	Кашель
Бронхоальвеолярные рецепторы: (X) медленно адаптирующиеся (X) быстро адаптирующиеся	Умеренная воспалительная реакция Ателектаз; выраженная воспалительная реакция	Апноэ Тахипное
Кардиопульмональные рецепторы: (X) легочные вены (X) левый желудочек	Понижение АД Повышение АД; алкалоиды группы вератрина	Апноэ Брадикардия, расширение сосудов
Барорецепторы: (X) дуга аорты (IX) каротидный клубочек	Понижение АД Понижение АД	Апноэ, брадикардия, расширение сосудов Апноэ, брадикардия, расширение сосудов
Хеморецепторы: (X) дуга аорты (IX) каротидный клубочек	Гипоксия; цианиды Гипоксия; цианиды	Тахипное, тахикардия, расширение сосудов Тахипное, тахикардия, расширение сосудов
Соматические рецепторы: Болевые рецепторы Мышечные рецепторы Висцеральные рецепторы	Воспаление; аллогены, ирританты Физическая работа Сдавление	Тахипное Тахипное Тахипное

(D.M. Aviado, H. Salem, 1987)

2.1.3. Механизмы регуляции тонуса бронхов

Тонус гладкомышечных волокон бронхов определяет диаметр последних. Бронходилатация наблюдается при активации β_2 -адренорецепторов (норадреналин, алулент и др.) и блокаде М-холинорецепторов (атропин) миоцитов. Физическая нагрузка, эмоциональный подъем и напряжение (страх), сопровождающиеся активацией симпатoadреналовой системы приводят к расширению бронхов. Это может явиться причиной массивного поступления токсикантов в легкие и более выраженных поражений дыхательной системы в экстремальных ситуациях (пожары).

Ингаляция пыли, а у сенсibilизированных людей, целого ряда других веществ (см. ниже) может приводить к выраженному бронхоспазму. Причина явления - высвобождение в легочной ткани бронхоспастических аутокоидов. Тучные клетки и лейкоциты высвобождают гистамин, серотонин, аденозин, факторы агрегации тромбоцитов (ФАТ) и другие биологически активные вещества, вызывающие спазм гладкой мускулатуры бронхов. Бронхоспазм вызывают также вещества, активирующие холинергическую иннервацию дыхательных путей (ФОС, карбаматы). Механизмы регуляции тонуса бронхов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Механизмы регуляции тонуса бронхов

Эффект	Механизмы
Бронхоспазм	Рефлекс раздражения верхних дыхательных путей
	Рефлекс раздражения глубоких дыхательных путей
	Кардиопульмональный рефлекс
	Возбуждение барорецепторов аортальной дуги и каротидного клубочка
	Возбуждение блуждающего нерва
	Активация холинэргических рецепторов
	Активация серотонинэргических рецепторов
	Активация гистаминэргических рецепторов
	Активация пуринаэргических рецепторов
Расширение бронхов	Возбуждение симпатической иннервации
	Активация адренэргических рецепторов

	Возбуждение хеморецепторов аортальной дуги и каротидного клубочка
	Выброс адреналина надпочечниками
	Мышечная активность

2.2. Газообмен

Газообмен осуществляется в ацинусах легких. Упрощенно суть процесса состоит в диффузии кислорода из альвеолярного воздуха в кровь и диоксида углерода из крови в альвеолярный воздух. Движущей силой процесса является разница парциальных давлений газов в крови и альвеолярном воздухе (рисунок 2).

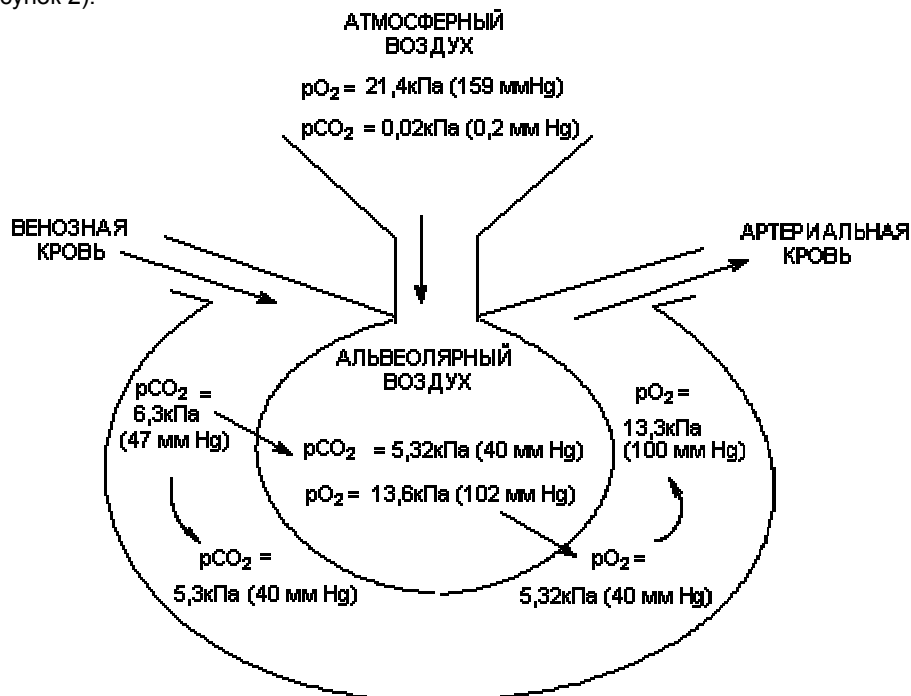


Рисунок 2. Процесс газообмена между воздухом и кровью

Как уже указывалось, диффузия осуществляется через трёхслойную мембрану, образованную альвеолярным эпителием, интерстициальной тканью и эндотелием капилляров. Поступивший в кровь кислород растворяется в плазме, проникает через мембрану эритроцитов и образует обратимый комплекс с гемоглобином. Нарушение диффузии возможно при повреждении любого из биологических слоёв, образующих альвеолярно-капиллярный барьер. Классическими примерами состояний этого типа являются токсический отёк лёгких (хлор, оксиды азота, фосген и др.), фиброз лёгких (паракват), диффузное замещение плоского альвеолярного эпителия кубовидным вследствие хронической ингаляции ряда ксенобиотиков (курение).

Нарушение газообмена может стать результатом изменения необходимого соотношения между объёмом вентиляции лёгких и их кровоснабжения, что наблюдается в частности при эмфиземе.

Таким образом, изменения газообмена обусловлены заболеваниями легких, развивающимися как по рестриктивному, так и по обструктивному или смешанному типу.

Физиологическими следствиями нарушения газообмена являются:

- учащение дыхания и увеличение дыхательного объёма;
- гипоксия в покое или при нагрузке;
- ограничение возможности выполнения физических нагрузок.

При токсическом отеке легких нарушение газообмена является основной причиной развития состояний, угрожающих жизни пострадавшего, а иногда и гибели.

Для оценки диффузионной способности легких необходимо знать количество газа, проникающего через альвеолярно-капиллярный барьер в единицу времени при определённом градиенте парциального давления газа в альвеолах и крови. Для оценки состояния легких часто используют метод однократного вдоха или пролонгированной ингаляции монооксида углерода. СО прочно связывается с гемоглобином и при определенном содержании в окружающем воздухе образует вполне определенное количество карбоксигемоглобина. Оценивая уровень карбоксигемоглобинемии при ингаляции СО в фиксированной концентрации можно судить о диффузионной способности легких.

Другим методом оценки диффузионной способности легких является изучение газового состава артериальной крови в покое и при физической нагрузке. В случае корректного выполнения исследований это наиболее чувствительный индикатор состояния дыхательной системы.

2.3. Метаболизм ксенобиотиков и биологически активных веществ

Помимо осуществления внешнего дыхания респираторная система имеет и ряд других важных функций. Среди них: продукция и секреция гормонов и медиаторов, биотрансформация и выведение из организма ксенобиотиков и некоторых биологически активных веществ. В частности в лёгких активно метаболизируют основные амины, полициклические ароматические углеводороды. Ферментные системы,

2.4. Депонирование и клиаренс ксенобиотиков в легких

Сайт депонирования ингалируемых газов определяется степенью их растворимости в тонком слое жидкости, выстилающей слизистую дыхательных путей и альвеолярный эпителий. Хорошо растворимые в воде вещества, например аммиак, диоксид серы преимущественно фиксируются верхним отделом дыхательных путей. По этой причине основной токсический эффект этих ксенобиотиков реализуется в верхних дыхательных путях, а ниже лежащие отделы поражаются лишь при очень высоких концентрациях. Напротив, плохо растворимые в воде вещества, такие как фосген, оксиды азота преимущественно поражают глубокие отделы лёгких. То есть, чем менее растворим газ в воде, тем выше его потенциал в плане поражения паренхимы легких. Водно-растворимые вещества достигают глубоких отделов легких при дыхании через рот, что наблюдается при физической нагрузке, либо когда человек находится в бессознательном состоянии. В обоих случаях степень поражения паренхимы лёгких токсикантами, при прочих равных условиях, увеличивается.

На депонирование частиц в лёгких оказывают влияние различные факторы. Среди них: анатомические особенности дыхательной системы (см. выше), характеристика аэрозоля, характер дыхания. Решающим фактором является размер частиц. Частицы диаметром более 50 мкм практически не проникают в дыхательные пути, до 10 мкм - оседают преимущественно в носоглотке (более 80%), 0,5 - 3 мкм - преимущественно в глубоких дыхательных путях и альвеолах (около 80%). Более мелкие частицы, как правило, не задерживаются в лёгких (минимальная задержка отмечается при диаметре частиц 0,25 - 0,30 мкм). Высокодисперсные аэрозоли (диаметр частиц менее 0.1 мкм) ведут себя практически как газы.

Клиаренс частиц оказывается определяющим в токсических эффектах ингалируемых агентов. Под клиаренсом в данном случае понимают элиминацию частиц из организма или перемещение их в другие органы после первичного депонирования в дыхательных путях. В целом, частицы, хорошо растворимых в воде веществ, и газы абсорбируются эпителиальным слоем и затем проникают в кровь. Клиаренс нерастворимых веществ зависит от того, где абсорбированы частицы. Если максимум абсорбции осуществляется в носоглотке и крупных воздухоносных путях, эпителий которых имеет микроворсинки (см. выше), частицы удаляются с помощью восходящего мукоцилиарного тока в полость рта, откуда поступают в желудочно-кишечный тракт. На уровне альвеол, где цилиарный эпителий отсутствует, клиаренс частиц осуществляется макрофагами. Эти клетки ответственны за удаление и нейтрализацию частиц, попадающих в дыхательные пути. Они захватывают аэрозоль, а затем мигрируют в лимфатическую систему или к верхним дыхательным путям. Вследствие этого любое вещество, влияющее на количество макрофагов в лёгких или их функциональную активность, изменяет чувствительность дыхательной системы к патогенным факторам. Этапы взаимодействия макрофагов с частицами, следующие: хемотаксис, адгезия частиц к фагоциту, фагоцитоз частиц, образование первичных лизосом, слияние их со вторичными лизосомами, разрушение частиц. Повреждение защитных механизмов легких возможно при повреждении токсикантом любого из этих этапов. Многие ксенобиотики вызывают изменение числа макрофагов в лёгких и их свойств (таблица 3).

Таблица 3. Вещества, влияющие на количество и качественные характеристики макрофагов в легких

Снижают количество макрофагов	Повышают количество макрофагов	Подавляют фагоцитарную активность макрофагов
Оксид свинца, Хлорид никеля, Оксид никеля, Хлорид кадмия, Монооксид углерода, Кристаллы кварца, Табачный дым, Пыль.	Кремний, Асбест, Кадмий, Акролеин, Диоксид Марганца, Сурьма, Озон, Оксиды азота	Кадмий, Никель, Медь, Ртуть, Цинк, Платина, Ванадий.

Степень поражения макрофагов также определяется химическим составом, размерами, формой ингалируемых частиц. Судьба макрофага зависит от его способности разрушить фагоцитированную частицу. В случае неспособности выполнить эту задачу, фагоцит, как правило, гибнет. Гибель макрофагов приводит к выходу в лёгочную ткань лизосомальных энзимов, простогландинов, коллагеназы, эластазы, плазмин-активирующих факторов и других биологически активных веществ, что инициирует воспалительный процесс в легких, фиброз, эмфизему, гранулематоз и т.д.

Продукция интерферона макрофагами угнетается озоном и оксидами азота.

Важную роль в удалении частиц из лёгких играют также нейтрофилы, особенно в период формирования воспалительного процесса. Наконец, некоторое количество частиц, попавших в альвеолы, может проникать в кровеносные и лимфатические сосуды без посредников.

3. Основные формы патологии дыхательной системы химической этиологии

Поражение органов внешнего дыхания токсикантами может быть следствием непосредственного их действия в форме газов и аэрозолей на дыхательную систему (подавляющее большинство токсичных агентов), либо накопления ксенобиотиков или продуктов их метаболизма в легочной ткани, проникших в организм другими путями (бензин, хлорированные углеводороды, паракват и т.д.).

Острые отравления веществами, действующими непосредственно или опосредованно на органы дыхания, сопровождаются рядом респираторных синдромов, среди которых основные: острый ларингит и трахеобронхит, отек лёгких, острая диффузная интерстициальная пневмония, острая дыхательная недостаточность.

Последствиями подострых воздействий, а также результатом длительного контакта с токсикантами могут стать: длительно текущие воспалительные процессы дыхательных путей (риниты, синуситы, трахеобронхиты, бронхоэктатическая болезнь), эмфизема, облитерация верхних дыхательных путей, гиперреактивные состояния дыхательных путей, в том числе бронхиальная астма, хронические аллергические альвеолиты, интерстициальный фиброз, пневмокониоз, новообразования и др.

3.1. Острые ингаляционные поражения

Многие газы и аэрозоли вызывают острые токсические процессы в дыхательной системе. В основе этих процессов лежат либо гиперактивация физиологических защитных реакций организма на действие чужеродных веществ, либо альтерация легочной ткани.

Немедленные реакции организма на действие токсикантов изучены достаточно хорошо. Прежде всего, это кашель, секреция слизи, бронхоспазм, умеренный отек дыхательных путей - защитные реакции на вредные воздействия. При интенсивных воздействиях такие транзиторные токсические реакции перерастают в тяжелые патологические состояния.

Афферентные нервы в дыхательных путях, участвующие в **кашлевом** рефлексе, стимулируются либо непосредственно путем раздражения токсикантом нервных окончаний либо опосредованно, путем инициируемого ксенобиотиком высвобождения в тканях биомедиаторов, таких как гистамин, простогландины и др. Кашель способен вызывать все вещества, обладающие раздражающим действием на слизистые дыхательных путей (см. "Раздражающее действие"). Чрезмерный по выраженности или продолжительности кашель может стать причиной серьёзных дисфункций особенно у чувствительных к токсикантам лиц. Ингаляция токсиканта в концентрациях, не вызывающих вредного действия у здорового человека, может у чувствительного лица сопровождаться тяжелым, выводящим из строя кашлем. Причиной повышенной чувствительности нередко бывает предшествующий контакт с веществом.

Стимуляция **выделения слизи** подслизистыми железами дыхательных путей и бокаловидными клетками - еще одна защитная реакция на ксенобиотик, которая может перерасти в патологическое

состояние. Даже легкие формы ингаляционного отравления ФОС сопровождаются выраженной гиперсекрецией бронхиальных желез, существенно затрудняющей дыхание (бронхорея). Гипертрофия слизистых желез и гиперплазия бокаловидных клеток отмечаются при экспериментальном воздействии на лабораторных животных ряда промышленных токсикантов, например диоксида серы. Так называемая "доброкачественная гиперсекреция" или профессиональный бронхит - типичное состояние у лиц, профессионально контактирующих с раздражающими веществами, дымами, парами, действующими в низких концентрациях. Лица с профессиональной гиперсекрецией являются группой риска в плане развития тяжелой патологии лёгких - хронического обструктивного бронхита.

Бронхоспазм - также нормальная реакция на действие ирритантов, обеспечивающая защиту паренхимы легких от воздействия. Ряд веществ вызывает бронхоспазм в концентрациях значительно меньших, чем вызывающие альтерацию легочной ткани (ФОС, карбаматы, диоксид серы). Другие (озон, аммиак) вызывают бронхоспазм в альтерирующих концентрациях, третьи (фосген) поражают паренхиму легких практически не провоцируя бронхоспазм.

Умеренный отек ткани воздухоносных путей - следствие повреждения эпителия ингалируемыми веществами. Однако этот эффект вызывается и стимуляцией аксонального рефлекса, через афферентные нервы дыхательных путей, причем порой при действии ксенобиотиков в очень незначительных концентрациях. При этом нервные окончания высвобождают низкомолекулярные биологически активные пептиды, так называемые такинины. Эти вещества вызывают вазодилатацию и усиление проницаемости сосудов (в воздухоносных путях - подслизистого слоя). Как показано в эксперименте, такие вещества как формальдегид, изоцианаты действуют таким образом.

В ряде случаев похожее состояние может развиваться в результате аллергического процесса. Микроскопия мазка выделений из носа может помочь провести дифференциальный диагноз между реакцией раздражения и аллергической реакцией. Большое число нейтрофилов в отделяемом из носа указывает на воспалительный характер поражения. Увеличенное содержание эозинофилов в мазке говорит об аллергической природе патологического процесса.

Повреждение слизистой дыхательных путей развивается при ингаляции токсикантов в достаточно высоких концентрациях. Повреждение эпителиальных клеток и их гибель запускают целый ряд процессов, пагубным образом сказывающихся на респираторном статусе пострадавших. Существенно снижается мукоцилиарный клиренс; обычно тесный контакт между эпителиальными клетками нарушается, эпителиальный слой становится пористым (что позволяет бактериям проникнуть в ткани), а слущивание и отслойка мертвого эпителия может вызвать обструкцию дыхательных путей. Наконец активация синтеза и высвобождение поврежденными клетками различных цитокинов и медиаторов приводит к воспалительной реакции, отеку, спазму гладкой мускулатуры бронхов. Таким образом, прямое повреждение эпителия ингалируемыми токсикантами в высоких концентрациях существенно усиливает реакции, провоцируемые этими токсикантами в малых концентрациях.

Плохо растворимые в воде вещества пенитрируют при ингаляции в ацинусы, где вызывают **повреждение альвеолярного эпителия, эндотелия альвеолярных капилляров, альвеолярных макрофагов**. Особенно чувствительны к действию токсикантов пневматоциты 1 типа (причина - малая толщина и большая площадь поверхности клеток). Повреждение паренхимы легких приводит к развитию диффузной бронхиальной обструкции вследствие отека, инфильтрации стенки бронхов воспалительными клетками, а также выходу жидкости в просвет альвеол (отек легких). Повреждение макрофагов приводит к суперинфекционированию и развитию химической пневмонии.

Значительно менее изучены механизмы формирования **отсроченных во времени процессов**, развивающихся вследствие **острого воздействия**.

Состояние большинства людей, перенёсших острое ингаляционное поражение, при адекватной терапии, нормализуется в течение нескольких суток - недель (в зависимости от степени тяжести), благодаря полной регенерации поврежденной ткани. Однако у некоторых лиц может развиваться состояние повышенной чувствительности к токсикантам, проявляющаяся **синдромом реактивной дисфункции дыхательных путей (СРДП)**. Вероятность развития СРДП выше у курильщиков. Веществами вызывающими СРДП и даже **бронхиальную астму** при однократной экспозиции являются изоцианаты (рисунок 4).

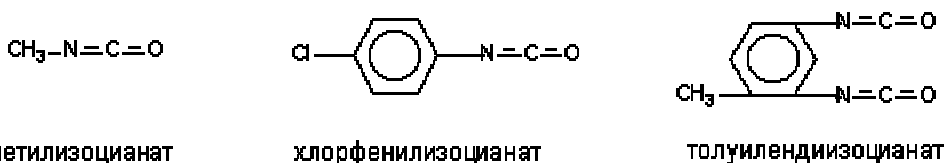


Рисунок 4. Структура некоторых изоцианатов

Отсроченное развитие ряда патологических процессов в легких может быть следствием не столько непосредственной альтерации легочной ткани токсикантом, сколько повреждения ее накапливающимися в паренхиме легких и дыхательных путях полиморфноядерными лейкоцитами. У части пораженных, перенесших острое воздействие химическим веществом, развивается прогрессирующий воспалительный процесс и, как следствие, облитерация глубоких отделов дыхательных путей (**облитерирующий бронхолит**), что приводит к инвалидизации.

3.1.1. Локализация поражения

Как уже указывалось ранее, место действия токсиканта в дыхательной системе определяется его концентрацией, размером частиц (для аэрозолей), растворимостью в воде. Нередко вид токсиканта, вызвавшего поражение точно известен, как это бывает при разрушении цистерны с опасным веществом. Однако чаще ингаляционные поражения связаны с действием смеси веществ, находящихся как в форме газа, так и аэрозоля. Это имеет место при пожарах, авариях на объектах, на которых складывается, используется и производится множество веществ. Часто поражение утяжеляется присутствием в

токсической смеси веществ, обладающих выраженным резорбтивным действием. Важным фактором, определяющим характер поражения дыхательных путей, является тип клеток, преобладающих в области преимущественного воздействия токсиканта. Клетки существенно различаются по их чувствительности к ксенобиотикам. Например, к диоксиду серы чувствительны не только эпителиальные клетки верхних дыхательных путей, но и гладкомышечные клетки этой области.

3.1.1.1. Верхние дыхательные пути

Патологические состояния, связанные с острым действием токсикантов на верхние дыхательные пути приводят к двум видам последствий: а) возбуждению рефлексов в силу раздражения нервных окончаний обонятельного, тройничного, языкоглоточного нервов (рефлекс Kratschmar), а также блуждающего нерва (рефлекс Salem-Aviado), сопровождающихся развитием апноэ, брадикардией, бронхоспазмом, кашлем, падением, а затем подъёмом АД (см. выше); б) развитием воспалительно-некротических изменений в дыхательных путях, выраженность которых определяется свойствами токсикантов и их концентрацией во вдыхаемом воздухе. Следствием воспалительно-некротических изменений является изъязвление слизистой, геморрагии, отек гортани. Хотя признаки поражения появляются довольно быстро отчетная реакция развивается постепенно, а стрidor (непроходимость гортани) может развиваться через несколько часов после воздействия. У отравленных, наряду с поражением дыхательной системы, могут наблюдаться ожог кожи лица, глаз, ротовой полости, что затрудняет оказание помощи. Обычно, чем сильнее выражено поражение верхних дыхательных путей, тем выше вероятность поражения и глубоких. Перечень токсикантов, вызывающих раздражение и воспаление в дыхательных путях, представлен в таблице 4.

Таблица 4. Перечень наиболее известных токсикантов, вызывающих раздражение и воспалительные процессы в дыхательных путях

Ацетон Акролеин Акрилонитрил Алкилбензолы Аммиак Арсин и органические Бром Бутиловый спирт Диметил сульфат Диоксид серы Гексаметилен диизоцианат Иприты (сернистый, азотистый) Карбонил никеля Минеральные и органические кислоты (в форме паров и аэрозолей)	Метилизоцианат Производные мышьяка Пентахлорфенол Пятихлористый фосфор Сероводород Толуол Тринитротолуол Треххлористый фосфор Хлористый метил Хлорнитробензол Хлористый цинк Хром Формальдегид Фосфин

3.1.1.2. Глубокие дыхательные пути

Проявления поражения - от слабо выраженных явлений легкого воспаления (гиперемия слизистой, лёгкий отек и т.д.), до выраженных некротических изменений слизистой воздухоносных путей (псевдомембранозный процесс при поражении ипритом) и даже ожога легких (хлор в высоких концентрациях). Токсиканты, адсорбированные на поверхности ингалируемого аэрозоля, вызывают более тяжелые повреждения, чем действующие в газообразной форме. Так, при обследовании, в дыхательных путях жертв пожаров, подвергшихся воздействию токсикантов, выявлено наличие сажи и адсорбировавшихся на поверхности её частиц токсикантов.

Большинство случаев трахеобронхитов химической этиологии разрешаются практически без последствий (в случае поражения раздражающими ОВ в течение нескольких минут по выходе из зоны заражения). Однако выраженная экссудация, сопровождаемая спазмом дыхательных путей (облитерирующий бронхиолит), рефлексорным угнетением дыхательного и сосудодвигательного центров, - могут привести к асфиктическому синдрому (цианоз, диспноэ, потеря сознания).

Необходимо учитывать, что проявления острого трахеобронхита могут развиваться как немедленно после действия токсикантов (вещества с выраженным раздражающим действием), так и отсроченно. Прогрессирующий отек дыхательных путей развивается постепенно, достигая максимума через 8 - 24 часа после воздействия. Через 48 - 72 часа, при тяжелых поражениях, наблюдается отслойка слизистой оболочки. Развивается, так называемый, псевдомембранозный трахеобронхит. Продолжительность скрытого периода зависит от свойств токсикантов. Тяжелое поражение токсикантом дыхательных путей может закончиться бронхоэктатической болезнью, стенозом трахеи.

Мероприятия по оказанию помощи включают использование средств защиты органов дыхания, немедленный (по возможности) вынос пострадавших из зоны заражения (транспортировка лёжа), назначение кислорода (но не под давлением), в случае отсутствия выраженной асфиксии - адреналин внутримышечно в дозе 0,5 - 1 мг (0,5 - 1 мл 0,1% раствора) для снятия отека и бронхоспазма, назначение глюкокортикоидов (кортизон, преднизолон), бронхолитиков, антибиотиков, средств, успокаивающих кашель.

3.1.1.3. Паренхима легких

3.1.1.3.1. Пневмонии

В группу острых пневмоний химической этиологии входят различные, чаще комбинированные поражения, морфологические особенности которых определяются особенностями токсического действия ксенобиотиков. Пневмонии возникают, как при ингаляционном поражении, так и при иных путях поступления в организм токсикантов, выводящихся преимущественно через легкие (бензины). Токсические вещества, вызывающие химические пневмонии представлены в таблице 5.

Таблица 5. Вещества, вызывающие острую химическую пневмонию

Акролеин	Керосин
Аммиак	Марганец
Бензин	Соляровое масло
Бериллий	Пятиокись ванадия
Диоксид серы	Пары минеральных кислот
Кадмий	Пары ртути
Хлористый цинк	Иприты
Формальдегид	Мышьякорганические соединения

Токсиканты повреждают паренхиму лёгких, захватывая как альвеолярную стенку (острый, иногда геморрагический экссудативный альвеолит), так и легочный интерстиций (диффузная интерстициальная пневмония) (аспирация бензина, керосина, кадмий, марганец). В тяжелых случаях происходит некротизация легочной ткани и суперинфицирование с формированием абсцессов (акролеин), обструктивного поражения дыхательных путей (диоксид серы), клеточных интерстициальных инфильтратов (бериллий, кадмий). Нередко острое воздействие приводит к развитию длительно и вяло текущих токсических процессов. Ингаляция пыли, содержащей двуокись и закись марганца, может вызвать тяжелую пневмонию без суперинфицирования. В основе процесса лежит выраженный альвеолит, сопровождающийся формированием моноцитарного инфильтрата.

Лечение пневмоний химической этиологии осуществляется по общим правилам лечения этого недуга. К числу специфических средств терапии следует отнести введение комплексообразователей при интоксикациях металлами, антиоксидантов, при поражении веществами, в основе действия которых лежит активация свободно-радикальных процессов.

3.1.1.3.2. Отек легких

Характерной формой поражения легких токсикантами является отек легких. Суть патологического состояния - выход плазмы крови в стенку альвеол, а затем в просвет альвеолы и дыхательных путей. Отечная жидкость заполняет легкие - развивается состояние, обозначавшееся ранее как "утопление на суше".

Выделяют три типа отека лёгких:

- гемодинамический отек лёгких, в основе которого лежит повышение давления крови (выше 30 мм Hg) в малом круге кровообращения, при отсутствии повреждения альвеолярно-капиллярной мембраны;
- собственно токсический отек лёгких, развивающийся в результате первичного поражения альвеолярно-капиллярной мембраны, на фоне нормального в начальном периоде внутрилегочного давления крови (давление в левом предсердии ниже 12 мм Hg);
- отек легких смешанного типа, когда у пострадавших отмечается как нарушение свойств альвеолярно-капиллярного барьера, так и сократительных свойств миокарда и т.д.

Основные токсиканты, вызывающие формирование отека легких представлены в таблице 6.

Таблица 6. Некоторые токсиканты, вызывающие отек легких

1. Вещества, вызывающие гемодинамический отёк лёгких: этиленгликоль цианиды оксид углерода арсин фосфин таллий кадмий фосфор ФОС и др.
2. Вещества, вызывающий собственно токсический отек легких: аммиак оксид кадмия хлор хлорпикрин тетрахлординитроэтан метилсульфат кислород (при длительной ингаляции под повышенным давлением, озон) фосген дифосген диоксид серы оксиды азоты пятифтористая сера паракват трехфтористый хлор и др.
3. Вещества, вызывающие отек смешанного типа: дихлорэтан трихлорэтилен

люизит и др.

Собственно токсический отек легких связан с поражением токсикантами клеток, участвующих в формировании альвеолярно-капиллярной мембраны. При этом показано, что особенностью процесса является, прежде всего, усиление проницаемости легочных капилляров на фоне мало измененного гидростатического давления в малом круге кровообращения. Развивающееся состояние рассматривают как форму респираторного дистресс-синдрома взрослых (РДСВ).

Опыты на лабораторных животных показывают, что сразу после воздействия токсикантов снижается содержание сурфактанта в легочной ткани. Этим объясняется раннее развитие периферических ателектазов у пораженных. Потеря сурфактанта может иметь значение и для усиления проницаемости легочных мембран. Некоторые представления о патогенезе развития токсического отека легких суммированы на рисунке 5.

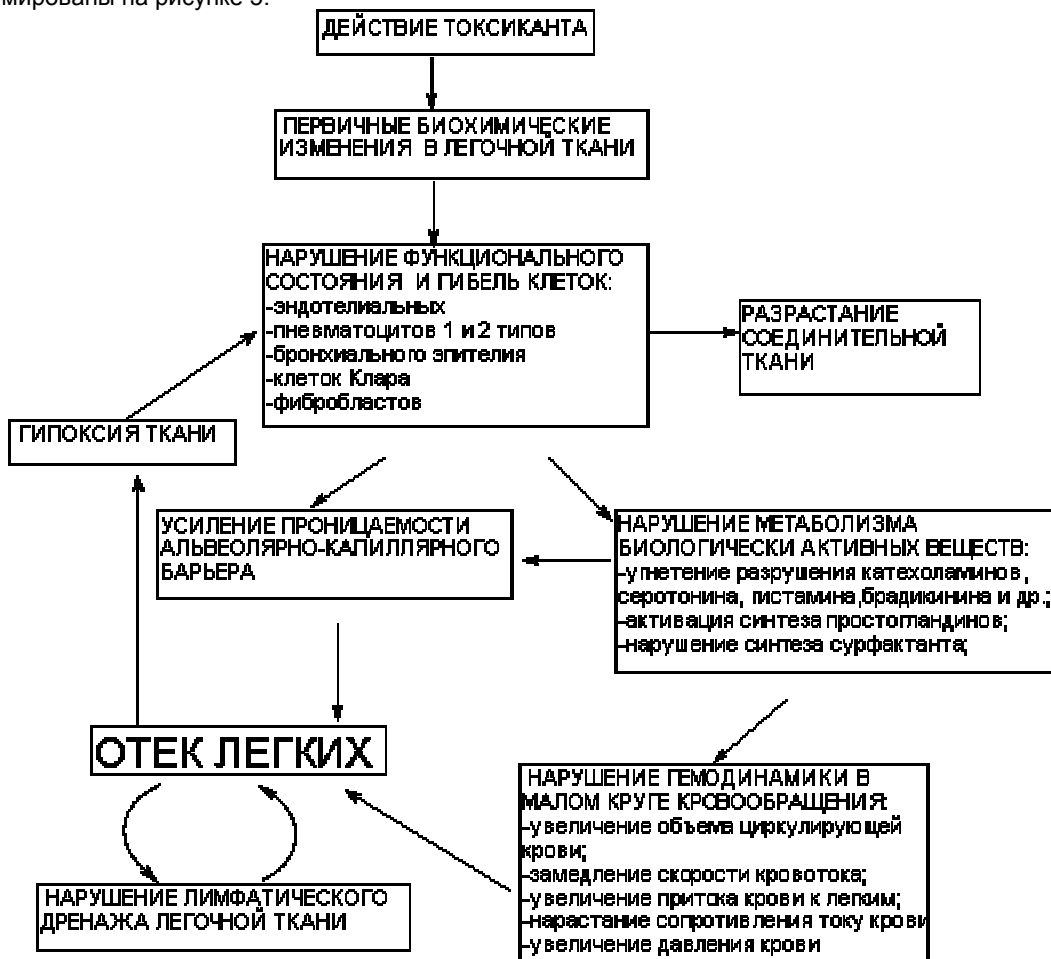


Рисунок 5. Схема патогенеза токсического отека легких

Помимо указанных на схеме изменений, для развития отека легких большое значение имеют системные нарушения, включающиеся в процесс и усиливающиеся по мере его развития: нарушения газового состава крови (гипоксия, гипер-, а затем гипокарбия), изменение её клеточного состава и реологических свойств (вязкости, свертывающей способности), расстройства гемодинамики в большом круге кровообращения, нарушение функции почек и центральной нервной системы. Смерть наступает от острой сердечной недостаточности.

Степень поражения легких токсикантами отражается на общем состоянии пострадавшего (таблица 7).

Таблица 7. Основные признаки острого поражения легких озоном различной степени тяжести

Показатели состояния	Степени поражения			
	легкое	умеренное	Сильное	тяжелое
Изменение показателей при спирометрии	5 - 10%	10 - 20%	20 - 40%	> 40%
pO ₂ в крови (ммHg)	Более 50	около 50	около 40	менее 40
Продолжительность процесса	Восстановление в течение 30 минут	Восстановление в течение 6 часов	Восстановление в течение 24 часов	Восстановление в течение более 24 часов
Признаки поражения	Легкий кашель	Кашель; боль за грудиной	Кашель; сильная боль за	Сильный кашель; боль за

		глубоком вдохе; учащенное, поверхностное дыхание	грудиной при глубоком вдохе; учащенное, поверхностное дыхание; тошнота; головокружение	грудиной при дыхании; нарушение ритма дыхания; нарушение ориентации; потря сознания (pO ₂ - менее 30 ммHg)
Ограничение активности	Отсутствует	Определяется у отдельных лиц	Определяется у значительной части лиц	Определяется у всех пострадавших

(M. Lippmann, 1988)

Осложнениями отека легких являются бактериальная пневмония, формирование легочного инфильтрата, тромбозы магистральных сосудов.

Смертность при этом грозном патологическом состоянии составляет, как правило, 5 -10 %, причем в первые 3 суток погибает около 80 % от общего количества погибших.

Острое отравление паракватом сопровождается в ряде случаев, вслед за отеком (или без него), развитием внутриальвеолярного диффузного фиброза. Лёгочный фиброз формируется в течение нескольких недель после приёма рег ос токсических доз вещества. На начальном этапе отмечается инфильтрация альвеол профибробластами, которые, созревая, закупоривают альвеолярные мешочки. При этом разрушаются стенки альвеол, образуются коллагеновые волокна. Возможен смертельный исход вследствие быстро развивающейся гипоксической гипоксии. Частым осложнением перенесенного заболевания является эмфизема легких.

3.1.2. Острая дыхательная недостаточность

Дыхательной недостаточностью называется состояние, при котором внешнее дыхание не обеспечивает оптимальный газообмен в покое и при нагрузке. При этом парциальное давление кислорода в крови падает ниже 60 мм Hg (в норме 98), а парциальное давление углекислого газа повышается более 50 мм Hg (в норме 40). В ряде случаев (гипервентиляция, токсический отек лёгких), дыхательная недостаточность может протекать на фоне нормального или даже пониженного содержания CO₂. Острая дыхательная недостаточность может стать следствием любого описанного выше патологического процесса, обусловленного действием токсикантов.

В целом, основными причинами дыхательной недостаточности легочного типа при отравлениях являются:

- альвеолярная гиповентиляция вследствие угнетения дыхательного центра, слабости или паралича дыхательной мускулатуры, острого обструктивного синдрома (спазм бронхов, гиперсекреция, отек воздухоносных путей);

- нарушение свойств альвеолярно-капиллярной мембраны (отёк легких, фиброз);

- нарушения соотношения объёма вентиляции и гемоперфузии легких.

Во всех случаях развивается близкая по сути последовательность событий, которую можно представить следующим образом: гипоксемия с гиперкарбией (или без неё) ® тканевая гипоксия ® активация анаэробного дыхания ® усиление продукции органических кислот (пировиноградной, молочной) ® метаболический ацидоз ® увеличение объёма капиллярного русла и накопление крови в органах и тканях ® застойная гипоксия ® сокращение обратного венозного тока крови ® падение АД ® острое нарушение гемодинамики ® гибель.

Альвеолярная гиповентиляция (развивается при отравлениях ингибиторами АХЭ: ФОС, карбаматами; в терминальных стадиях острых смертельных интоксикаций большинством токсикантов) характеризуется понижением количества воздуха, участвующего в газообмене в единицу времени (уменьшение дыхательного объёма - ниже 350 см³). В силу ослабления вентиляции ацинусов устанавливается равновесие газов в средах: альвеолярный воздух - кровь, на новом, патологическом уровне. Кровь транспортирует кислород к тканям под давлением ниже 98 мм Hg. Подключающиеся защитные механизмы (учащение, углубление дыхания) оказываются несостоятельными в силу ослабления хеморецепторного рефлекса.

Понижение диффузионной способности легких, не смотря на нормальный или увеличенный градиент парциального давления газов в крови и альвеолярном воздухе. У нормального человека диффузионная способность O₂ составляет 15 - 20 см³ O₂/ммHg/мин. При физических нагрузках эта величина в норме может возрастать в 4 раза. Основные причины снижения диффузионных свойств легких при интоксикациях: утолщение альвеолярно-капиллярной мембраны, уменьшение дыхательной поверхности лёгких (токсический отек легких, токсические пневмонии). Итогом этих нарушений является инициация патофизиологических реакций, представленных выше.

Изменение соотношения вентиляции - перфузия (все интоксикации, сопровождающиеся коллапсом). У здорового человека соотношение объёмов ингалируемого воздуха и перфузируемой через легочную ткань крови варьирует от ацинуса к ацинусу, от одного отдела лёгочной ткани к другому, но в целом составляет 0,8 (4 литра воздуха и 5 литров крови в минуту). Как гемоперфузия не вентилируемых альвеол, так и вентиляция недостаточно кровоснабжаемых участков легких, приводят к понижению степени оксигенации оттекающей от легких крови. Формирующаяся гипоксия провоцирует запуск цепи событий, описанных выше.

Типичными проявлениями острой дыхательной недостаточности являются снижение парциального давления кислорода в крови (pO₂ ниже 20 ммHg несовместимо с жизнью), одышка, в тяжелых случаях падение АД, ацидоз, цианоз, нарушение сознания вплоть до комы.

3.1.3. Диагностика

Первым шагом на пути выявления лиц, подвергшихся острому воздействию токсикантов, является констатация самого факта воздействия. В тех случаях, когда этот факт очевиден (в лицо рабочему выброшена струя токсического агента), процедура носит формальный характер (регистрация случая). Однако значительно чаще это не простая задача.

Поскольку транзиторные токсические реакции быстро исчезают, а стойкие признаки острого ингаляционного поражения формируются постепенно, диагностика развивающейся патологии в ранние сроки представляет известную сложность. Рентгенографические изменения в легких в первые часы после воздействия отсутствуют; содержание газов в крови - в пределах нормы. Существуют косвенные признаки, позволяющие предположить возможность поражения пульмонотоксикантами. К их числу относятся: ожог кожи лица, слюнотечение, затруднение дыхания и т.д. Лиц, доставленных из зоны пожара (особенно при возгорании синтетических материалов) или взрыва в закрытом помещении всегда следует рассматривать как потенциально отравленных. Особое внимание следует уделять пострадавшим, находящимся в бессознательном состоянии, поскольку вероятность получить тяжелое отравление у них выше (см. выше).

Определенную помощь в диагностике может оказать обычная спирометрия или исследование объема форсированного выдоха в минуту (снижение показателей в силу раннего бронхоспазма).

Во всех случаях интоксикаций при пожарах следует определять содержание карбоксигемоглобина в крови. Как правило, уровень карбоксигемоглобинемии хорошо коррелирует со степенью поражения не только CO, но и другими токсикантами.

За пораженными устанавливается тщательное наблюдение. Периодически проводятся клинико-диагностические исследования (частота дыхания, ЭКГ, анализ крови, рентгенография легких, газовый состав крови и т.д.). Значительный ацидоз косвенно указывает на высокую вероятность поражения токсикантами, угнетающими тканевое дыхание (цианиды, сульфиды и др.). Прецизионной методикой ранней диагностики надвигающегося токсического отека легких является исследование диффузионных свойств легких. Показания к принятию решений по оказанию помощи пораженным представлены в таблице 8.

Таблица 8. Показания к принятию решений по оказанию помощи пораженным

Показания к госпитализации: - поражение в замкнутом пространстве - возгорание синтетических материалов - нарушение сознания - ожог кожи лица - загрудинные боли - респираторные синдромы (кашель, одышка) - карбоксигемоглобинемия
Показания к оказанию неотложной помощи: - угнетение сознания - гипоксия - снижение объема форсированного выдоха
Показания к интубации: - ларингоспазм - тяжелый отек гортани - острая дыхательная недостаточность, угрожающая жизни

3.1.4. Оказание помощи

Все лица, доставляемые из очагов ингаляционного поражения различными токсикантами подлежат госпитализации сроком не менее, чем на сутки. Оказание неотложной помощи, помимо мероприятий, направленных на устранение причины формирования угрожающего жизни состояния, включают: восстановление проходимости воздухоносных путей, искусственную вентиляцию лёгких, оксигенотерапию (иногда оксигенобаротерапию), профилактику осложнений.

Система оказания помощи при развивающемся токсическом отеке легких включает следующие мероприятия:

1. Снижение потребления кислорода (покой, тепло, назначение успокаивающих и противокашлевых средств);
2. Борьба с гипоксией (вынужденное положение тела, ингаляция противовспенивающих средств, кислородотерапия);
3. Профилактика отека (ингаляция и системное введение стероидных противовоспалительных препаратов, S-содержащих препаратов: унитиола, пенициламина; аскорбиновой кислоты);
4. Снижение объема крови, циркулирующей в малом круге кровообращения (вынужденное положение тела; нитроглицерин; форсированный диурез; жгуты на конечности; кровопускание);
5. Стимуляция сердечной деятельности (сердечные гликозиды);
6. Борьба с осложнениями (антикоагулянты; антибиотики);

Общая продолжительность лечения пострадавших - около 15 - 20 дней, осложненных форм - 45 - 55 дней.

Поскольку при экстремальных ситуациях пострадавшие часто имеют сопутствующие поражения (ожоги, шок) и нередко нуждаются в переливании большого количества жидкостей, оказание им помощи весьма затруднено. Необходимо отметить, что ожог кожи без поражения дыхательной системы, также

сопровождается усилением проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны и, иногда, развитием отека легких.

3.1.5. Краткая характеристика некоторых пульмонотоксикантов

3.1.5.1. Хлор

Хлор - газ желтовато-зеленого цвета с характерным удушливым запахом, примерно в 2,5 раза тяжелее воздуха, хорошо растворяющийся в воде. Является сильным окислителем. Он сохраняется и транспортируется в сжиженном виде под повышенным давлением. В случае аварий возможно массовое поражение людей.

Уже в минимальных концентрациях (10 мл/м^3) хлор раздражает дыхательные пути, действуя в более высоких концентрациях, вызывает тяжелое поражение. По данным А.А. Лихачева (1931) при регистрации гибели экспериментальных животных (собак) в течение трех суток LC_{50} составляет около 70 г мин/м^3 (при 15 - 30 минутной экспозиции).

Хлор был первым веществом, примененным на войне в качестве ОВ. 22 апреля 1915 г близ Ипра германские части выпустили его из баллонов (около 70 т), направив поток газа, движимый ветром, на позиции французских войск. Позже вещество широко применялось на фронтах 1-й Мировой войны и потому клиника поражения хорошо изучена.

В редких случаях смерть может наступить уже при первых вдохах зараженного воздуха. Причина смерти - рефлекторная остановка дыхания и сердечной деятельности. Другой причиной быстрой гибели пострадавших (в течение 20 - 30 минут после вдыхания вещества) является ожег легких. В этих случаях окраска кожных покровов пострадавшего имеет зеленоватый оттенок. При вскрытии обнаруживаются сухие на ощупь, спавшиеся легкие, зеленовато-серого цвета. Левое сердце пусто, правое расширено и наполнено густой кровью.

Чаще в случаях тяжелого отравления в момент воздействия пострадавший ощущает резкое жжение в области глаз и верхних дыхательных путей, стеснение дыхания. Отравленный стремится облегчить дыхание, разрывая ворот одежды. Одновременно отмечается крайняя слабость, вследствие этого отравленные падают и лишаются возможности бежать из пораженной зоны. Практически с начала воздействия появляется надрывной, мучительный кашель, позже присоединяется одышка, причем в дыхании участвуют добавочные дыхательные мышцы. Пораженный старается занять положение, облегчающее дыхание. Речь невозможна. Иногда наблюдается рвота.

Через некоторое время после выхода из зоны поражения может наступить некоторое облегчение состояния (скрытый период), однако чаще (в отличие от поражения фосгеном) полная ремиссия не наступает: сохраняется кашель, болезненные ощущения по ходу трахеи и в области диафрагмы.

Через некоторое время (от нескольких часов до суток) состояние вновь ухудшается, усиливаются кашель и одышка (до 40 дыхательных актов в минуту), лицо приобретает синюшную, а в крайне тяжелых случаях пепельную, окраску. Над легкими прослушиваются хрипы. Пострадавший постоянно отхаркивает пенистую желтоватую или красноватую жидкость (более 1 л за сутки). Наблюдаются сильнейшие головные боли, температура тела понижается. Пульс замедлен. Артериальное давление падает. Пострадавший теряет сознание и погибает при явлениях острой дыхательной недостаточности. Если отек легких не приводит к гибели, то через несколько часов (до 48) состояние начинает улучшаться, отечная жидкость рассасывается. Однако заболевание постепенно переходит в следующий период - осложнений, во время которого обычно развиваются явления бронхопневмонии.

Как правило, отравленные, не погибшие в первые 24 часа после воздействия, выживают. Явления бронхита и пневмонии могут наблюдаться в течение нескольких недель, а легочная эмфизема оказывается стойким последствием интоксикации. Часто в качестве осложнения регистрируются длительные нарушения со стороны деятельности сердца.

В подавляющем большинстве случаев поражений легкой и средней степени тяжести через известное время наблюдается полное восстановление здоровья.

3.1.5.2. Паракват

Паракват является контактным неселективным гербицидом. В 1955 году его стали широко использовать в сельском хозяйстве. Основными поставщиками пестицида являются Китай, Тайвань, Италия, Япония, Великобритания и США. Применение ядохимиката разрешено более чем в 130 странах.

Паракват - кристаллическое вещество белого цвета, без запаха. Хорошо растворяется в воде и спиртах; температура кипения 300°C (при этом препарат разлагается). Применяется паракват в виде крупнодисперсного аэрозоля (300-600 мкм). После выседания аэрозольных частиц на почву агент быстро разрушается с образованием малотоксичных продуктов. Поэтому даже при интенсивном использовании ядохимиката не отмечено его накопления в окружающей среде.

При воздействии коммерческих растворов вещества возможны местные обратимые повреждения кожи, ногтей, слизистых глаз. Общая интоксикация развивается только при приеме через рот. Токсичность параквата для млекопитающих достаточно высока (таблица 9). Смертельная доза для человека составляет приблизительно 3-5 г/чел.

Таблица 9. Токсичность параквата для грызунов (ЛД_{50} , мг/кг)

Путь введения	Крысы		Мыши	
	самцы	самки	самцы	Самки
внутрь	223	256	360	290
подкожно	27	32	41	37
внутрибрюшинно	25	27	4	-

Основной причиной случаев отравления людей являются суицидные попытки. После приема вещество всасывается из тонкого кишечника и распределяется в организме. В желудочно-кишечном тракте всасывается не более 20% яда. Легкие активно аккумулируют паракват через механизм захвата биогенных аминов.

Действуя в дозах выше среднетелетных, вещество поражает все жизненно важные органы (печень, почки, легкие). Развиваются: ожог слизистой желудочно-кишечного тракта, диарея, повреждение паренхиматозных органов и острый токсический альвеолит. Характерна отсроченная гибель отравленных через несколько дней или недель от нарастающего фиброза легких.

Поражение легких при интоксикации паракватом протекает в две фазы. В первую - деструктивную (1 - 3 сутки) - наблюдается гибель и десквамация альвеолоцитов 1-го и 2-го типов, что становится причиной острого альвеолита, токсического отека легких. Во второй фазе - пролиферативной - происходит замещение альвеолоцитов кубовидными клетками, постепенное разрастание фиброзной ткани.

В механизме токсического действия параквата ведущую роль играет образование в результате его метаболизма активного промежуточного продукта, инициирующего в клетках свободнорадикальный процесс. Повреждение мембран вследствие активации перекисного окисления липидов, сопровождается гибелью клеток, формирующих альвеоларно-капиллярный барьер. Наиболее чувствительны к параквату альвеолоциты I типа. Возможно, что в основе повреждения клеток лежит не только активация ПОЛ, но и другие механизмы.

Важную роль в процессе разрастания соединительной ткани в легких играют альвеоларные макрофаги и нейтрофилы крови. Эти клетки, активированные паракватом, продуцируют специфические гликопротеины, усиливающие пролиферацию фибробластов и их фиксацию на базальной мембране альвеол.

Предотвратить накопление параквата в легких после его приема на практике не удастся. Субстраты-конкуренты яда (цистамин, путресцин и т.д.) могут оказать эффект лишь в ранние сроки от начала интоксикации (первые 8-12 часов). Лечение отравлений, помимо средств симптоматической и патогенетической терапии, включает назначение антиоксидантов: аскорбиновой кислоты (500 мг/кг), восстановленного глутатиона (14,4 мг/кг), витамина Е (30 мг/кг), витамин А (3000 ЕД на мышью) и т.д.

При отравлениях паракватом абсолютно противопоказана оксигенотерапия. Данное мероприятие достоверно ускоряет гибель отравленных. Только в случаях угрожающей жизни гипоксемии (PO_2 в артериальной крови менее 40 мм Нг) возможна ингаляция кислорода.

Для профилактики фиброза легочной ткани применяют глюкокортикоиды.

3.1.5.3. Цинк

Цинк представляет собой голубовато-белый металл, находящийся в группе II периодической таблицы элементов. При нагревании выше 500° цинк окисляется и испаряется в форме мельчайших частиц оксида цинка, которые в холодном воздухе подвергаются флуктуации с образованием дыма.

С древнейших времен человек использовал сплав цинка с медью и оловом (бронза), но вероятно не был знаком с чистым металлом вплоть до 15 века.

Мировая продукция металла в настоящее время составляет более 7 млн. тонн в год. Цинк и его соединения широко используется в хозяйственной деятельности.

Цинк является эссенциальным элементом организма. Высокое содержание его отмечается в предстательной железе, мышцах, поджелудочной железе, костях, почках.

Токсичность металла и его соединений мала. Наибольшую опасность представляют ингаляционные поражения дымами, содержащими соединения цинка, и аэрозолем оксида цинка. Так, после вдыхания ZnO в концентрации около 600 мг/м^3 в течение 45 минут у кошек сразу после извлечения из камеры отмечаются нарушение координации движений, тремор, затруднение дыхания, понижение температуры тела.

Вследствие своих раздражающих свойств, хлорид цинка вызывает воспалительное повреждение кожи и поражения глаз. Ингаляция пыли, содержащей соли цинка, сопровождается раздражением слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

Ингаляция паров и дыма, содержащего металлический цинк в высоких концентрациях приводит к формированию респираторного дистресс-синдрома, который может развиваться спустя несколько суток после ингаляции, а в малых концентрациях - состояния, называемого "лихорадка литейщиков". Проявления синдрома включает: металлический вкус во рту, сухой кашель, учащение дыхания, утомляемость, миалгии, лихорадку, озноб, развивающиеся спустя 4 - 12 часов после воздействия. Температура может подниматься до 40° . Количество лейкоцитов достигает 20000. Продолжительность приступа 1 - 3 часа. Со стороны ЦНС наблюдаются неспецифические эффекты типа ощущения усталости, вялости. Полная нормализация состояния - в течение 24-48 часов. Осложнения не наблюдаются. Достаточно быстро (в течение суток от начала контакта) формируется толерантность к действию металла, однако столь же быстро (1-2 дня) она исчезает. В этой связи характерно приступообразное течение этого вида профессиональной патологии. Наблюдаемая картина проявляется особенно ярко в начале трудовой недели, после перерыва в действии вещества в выходные дни. Отсюда еще один термин, обозначающий процесс - "утренняя лихорадка понедельника".

При ингаляционном поражении соединениями цинка необходимы мероприятия, направленные на профилактику токсического отека легких. При развившемся респираторном дистресс-синдроме взрослых - оказание помощи по общим правилам.

3.2. Хронические патологические процессы химической этиологии

Наиболее частыми формами токсического процесса, развивающегося при длительном профессиональном или экологическом действии пульмонотоксикантов, являются вяло текущие воспалительные процессы, гиперреактивные состояния дыхательных путей, диффузный интерстициальный фиброз легких, гранулематоз, облитерация дыхательных путей, канцерогенез. Перечень токсикантов - наиболее частых причин указанных состояний представлен в таблице 10.

Таблица 10. Перечень токсикантов, вызывающих патологические состояния дыхательной системы при длительном воздействии

Диффузный интерстициальный фиброз: алюминий, асбест, бериллий, угольная пыль, кобальт, медь, коалин, пары ртути, никель, масляная аэрозоль (липидная пневмония), паракват, кремниевая пыль, тальк, некоторые лекарства (блеомицин, бисульфат, циклофосфамид и др.)
Облитерирующий бронхиолит: аммиак, оксид кадмия, хлор, хлорпикрин, сероводород, метилсульфат, кислород под давлением, озон, фосген, диоксид серы, трихлорэтилен
Гигантоклеточные пневмонии: кобальт, тяжелые металлы
Канцерогенез: асбест, акрилонитрил, арсенаты и арсениты (триоксид мышьяка), бериллий, хлорсодержащие эфиры (хлорметилэтер), кадмий, хром, хроматы, бензпирен, иприты, никелевая пыль, табачный дым, винилхлорид

3.2.1. Аллергические и гиперреактивные заболевания легких

В норме иммунная система обеспечивает защиту легких от неблагоприятных воздействий, в том числе и токсикантов. Однако при воздействии некоторых ксенобиотиков ответ порой оказывается искаженным. Причиной этого могут стать вещества:

- вызывающие неспецифические вялотекущие воспалительные процессы в лёгких;
- обладающие антигенными свойствами, в том числе, способные образовывать комплексные антигены, инициирующие специфический иммунный ответ (см. раздел "Иммунотоксичность").

Итогом таких воздействий являются:

- а) профессиональная астма;
- б) синдром реактивной дисфункции дыхательных путей;
- в) экзогенный аллергический альвеолит;
- г) пневмокониоз;

д) фиброз, гранулематоз легких, вызываемый металлами, способными оказывать сенсибилизирующее действие.

От 2 до 15% случаев бронхиальной астмы в индустриально развитых странах - следствие профессионально обусловленных воздействий токсикантов. Большинство промышленных агентов, вызывающих астму, обладает аллергизирующей активностью, хотя в условиях профессиональной деятельности или неблагоприятной экологической обстановки на организм действует, помимо "основного" токсиканта, совокупность факторов (курение, длительный прием лекарственных средств, неблагоприятные климатические условия и т.д.). Высокомолекулярные вещества, содержащиеся, например, в растительной пыли, биопрепаратах (белки, пептиды, ферменты: пепсин, щелочная фосфатаза, пероксидаза, рибонуклеаза и т.д.), выделениях животных, могут вызвать аллергизацию, провоцируя образование иммуноглобулинов (IgE, IgG). Низкомолекулярные вещества, такие как ангидриды кислот (в частности фталевый ангидрид), альдегиды (в частности - формальдегид, глутаровый альдегид), кислоты, изоцианаты, акриламид-мономер, алифатические амины, пары металлов - могут действовать в форме связанных с белками гаптенных, также вызывая гуморальный и клеточный иммунный ответ. Формированию профессиональной астмы, как правило предшествует длительный контакт с токсикантом.

Вместе с тем встречаются случаи, когда уже однократное воздействие раздражающих газов, паров, дымов, включая хлор и аммиак, в высокой концентрации приводит к гиперчувствительности дыхательных путей (**синдром реактивной дисфункции дыхательных путей** - СРДП). СРДП характеризуется стойким повышением чувствительности дыхательной системы к ксенобиотикам, которое формируется спустя несколько часов после воздействия, сохраняется в течение нескольких недель и проявляется бронхоспазмом при контакте с веществом. Полагают, что в основе СРДП лежит прямое разрушение токсикантами тучных клеток с высвобождением в ткани легких, содержащегося в клетках гистамина и других биологически активных веществ. У части отравленных гиперчувствительность к токсикантам сохраняется на всю жизнь. В этой связи, даже после успешного излечения пострадавшего от острого ингаляционного воздействия ксенобиотика, необходимо установить за ним медицинское наблюдение, с тем, чтобы предотвратить возможность тяжелых осложнений.

Экзогенный **аллергический альвеолит** представляет собой процесс, развивающийся после воздействия органической пыли, паров ангидридов кислот, изоцианатов (особенно толуолдиизоцианата), бериллия. Нередко патология возникает у сельскохозяйственных рабочих, работников птицефабрик. Клинически, заболевание напоминает остро или хронически протекающую интерстициальную пневмонию. Острая форма сопровождается лихорадкой, ознобом, кашлем, затруднением дыхания, одышкой. Процесс, как правило, разрешается в течение 24 часов. Хронический процесс может быть следствием длительного действия многих токсикантов. Он проявляется кашлем, утомляемостью, потерей веса, учащенным дыханием, признаками фиброза легких.

По современным представлениям **пневмокониоз шахтеров, силикоз и асбестоз** - процессы, также сопровождающиеся иммунологическими сдвигами. В результате поступления в лёгкие угольной пыли, асбеста, кремния эти вещества фагоцитируются макрофагами, что является пусковым механизмом для

выделения этими клетками лизосомальных энзимов. Разрушение лёгочной ткани протеазами, выделяемыми макрофагами, приводит к постепенному её замещению соединительной тканью, то есть фиброзу легких. У лиц с хроническим силикозом при этом отмечается повышенное содержание в крови иммунных комплексов, включая ревматоидный фактор и антитела к ядрам клеток, усиленный синтез IgA. У больных асбестозом обнаруживается угнетение активности клеток-киллеров и антителозависимых цитотоксических клеток, уменьшение числа Т-лимфоцитов, повышенное содержание иммунных комплексов и иммуноглобулинов в крови.

Наконец, аллергический компонент прослеживается при профессиональной патологии лёгких у рабочих металлургических цехов. Около 15 металлов обладают свойствами аллергенов. В наибольшей степени этот феномен прослеживается в клинике хронического бериллиоза, гранулематоза лёгких, вызванного алюминием, титаном, хромом, никелем.

4. Оценка пульмонотоксичности ксенобиотиков в эксперименте

Оценка пульмонотоксичности ксенобиотиков осуществляется в опытах на лабораторных животных. При этом необходимо четко определить условия воздействия изучаемых веществ (концентрация, продолжительность экспозиции и т.д.) и критерии оценки выраженности развивающегося поражения.

В настоящее время опыты, как правило, выполняют на белых крысах, кроликах, беспородных собаках (преимущественно самцах), хотя для этой цели подходит любой вид млекопитающих. Животные перед экспериментом должны содержаться в условиях вивария на обычном рационе питания.

Условия аппликации веществ следует выбирать исходя из их свойств, целей и задач исследования. В любом случае они должны быть стандартизованы.

Действие жидких веществ изучают либо в паровой фазе (летучие агенты), либо в форме аэрозолей с различной степенью дисперсности. Генерацию аэрозолей осуществляют при помощи ультразвуковых генераторов, гидравлических или пневматических распылителей. Аэрозоли твердых веществ получают путем распыления порошков или растворов веществ, а также методом термической возгонки.

Конструкция стендовой установки (камеры) для исследований должна предусматривать возможность экспонирования различных видов лабораторных животных в статическом или динамическом режимах воздействия газа, пара, аэрозоли.

Статический режим экспонирования предполагает одномоментное введение в рабочий канал установки определенного количества исследуемого вещества, после чего производится перемешивание токсиканта в воздушной смеси при помощи вентилятора и определение его исходной концентрации (C_0 - мг/м³) в камере. Оптимальное время экспонирования животного в этом режиме составляет 5-20 минут. За 1-2 мин до окончания экспозиции определяют конечную концентрацию токсиканта в камере (C_t).

Фактическую токсодозу вещества, воздействовавшего на экспериментальное животное, рассчитывают по формуле:

$$Ct = (C_0 + C_t) t / 2, \text{ где}$$

Ct - фактическая токсодоза, мг мин/м³;

t - время воздействия, мин.

При изучении пульмонотоксичности вещества в динамическом режиме воздействия к камере подключают источник (генератор) постоянной подачи газа, пара или аэрозоля. Продувку зараженного воздуха через камеру обычно проводят со скоростью:

- для газов - 25 л/мин.;
- для паров - 50-75 л/мин;
- для аэрозолей 150-250 л/мин.

После перемешивания вещества в камере определяют его концентрацию (C - мг/м³). Время экспозиции выбирают исходя из особенностей свойств токсиканта и целей исследования.

Фактическую токсодозу вещества, воздействовавшего на экспериментальное животное, рассчитывают по формуле:

$$Ct = C t, \text{ где}$$

Ct - фактическая токсодоза, мг мин/м³;

C - концентрация вещества в камере, мг/м³;

t - время воздействия, мин.

В случае острого эксперимента, за животными, подвергшимися воздействию, в течение 2-4 суток ведут тщательное наблюдение.

Критериями оценки поражающего действия пульмонотоксикантов могут являться:

1. Количество погибших животных и распределение случаев гибели в течение определенного времени после воздействия;
2. Морфологические показатели поражения (макро- и микроскопические), регистрируемые у погибших и выведенных из эксперимента животных в различные сроки после отравления;
3. Органометрические характеристики легких, определяемые у погибших и выведенных из эксперимента животных;
4. Показатели функционального состояния органов дыхания и других органов и систем лабораторных животных;
5. Биохимические показатели.

На основе данных эксперимента определяют принятые в практике показатели токсичности исследуемых веществ (пороговые, эффективные, непереносимые, смертельные токсодозы) либо характеризуют выраженность эффекта (летальность, сроки гибели, степень повреждения легочной ткани, нарушений со стороны других органов и систем и т.д.) при фиксированной токсодозе исследуемого токсиканта.

5. Выявления пульмонотоксического действия профессиональных и экотоксикантов

Установление причинно-следственных связей между патологией дыхательной системы, выявляемой у обследуемого, и действием профессиональных неблагоприятных факторов химической природы, порой очень сложная задача. Алгоритм её решения представлен в таблице 11.

Таблица 11. Выявление профессиональных и экологических причин лёгочной патологии химической этиологии

Профессиональный анамнез:

- характеристика профессиональной деятельности
- потенциальные возможности воздействия токсикантов, в условиях производства

Бытовые условия:

- расположение жилища, температура воздуха в помещениях, вентилируемость, строительные материалы
- использование токсикантов в бытовых целях (гербициды, пестициды, средства бытовой химии и т.д.)
- хобби
- привычки (курение, склонность к приёму алкоголя, лекарств)
- профессии членов семьи

Биологический мониторинг:

- общемедицинское обследование
- анализ газового состава крови
- иммунологические тесты
- физиологические тесты
- рентгенографические исследования
- анализ лёгочной ткани на содержание минералов

Обследование рабочего места:

- изучение перечня токсикантов, оценка степени их опасности, потенциальной способности вызывать лёгочную патологию
- обсуждение характера работы обследуемого с руководством промышленного объекта, медицинским персоналом объекта
- оценка профилактических мероприятий, проводимых на объекте
- анализ воздуха рабочей зоны, оценка загрязнённости рабочего места

5.1. Профессиональный анамнез

Если начало профессионального заболевания отсрочено, либо характер воздействия токсиканта трудно поддается анализу, врачу необходимо получить информацию о видах работы, выполнявшейся лицом, воздействия, которым лицо подвергалось в период работы. Необходимые данные получают путём анализа документации или опроса обследуемого.

Важно собрать сведения о возможном воздействии токсикантов, не связанных с профессиональной деятельностью: путем длительного приёма лекарств, вследствие вредных привычек (курение), хобби и т.д. Поражение может быть следствием заноса токсиканта в жилище одним из членов семьи (работниками асбестовых производств).

5.2. Биологический мониторинг

Биологический мониторинг предполагает клинико-лабораторное обследование с привлечением рентгенографических, физиологических, иммунологических, химико-аналитических, морфологических и других методов исследования.

Примеры профессиональной патологии лёгких химической этиологии, выявляемой физиологическими методами исследования, представлены в таблице 12.

Таблица 12. Патологические состояния, сопровождающиеся нарушением функциональных проб

1. Обструктивный тип нарушений

А. Отсутствует реакция на бронхолитики

- бронхоэктазы (аммиак)
- хронический бронхит (раздражающие дымы, угольная и иная пыль и др.)
- хронические обструктивные заболевания легких
- эмфизема (курение, кадмий, диоксид азота и т.д.)
- обструкция верхних дыхательных путей - стеноз трахеи (следствие химического ожога дыхательных путей, новообразования)

Б. Сохранена реакция на бронхолитики

- профессиональная астма (острое, хроническое действие токсикантов)
- синдром реактивной дисфункции дыхательных путей (острое действие токсикантов в высоких дозах)

2. Рестриктивный тип нарушений

- гигантоклеточные пневмониты (кобальт)
- интерстициальный фиброз (кислород, нитрофурантион, паракват и др.)
- пневмокониоз (антракоз, силикоз, асбестоз)

3. Обструктивно-рестриктивный тип

- облитерирующий бронхиолит (оксиды азота, диоксид серы)

- бериллиоз
- асбестоз
- силикоз
- хронический аллергический альвеолит (белковая пыль)

5.3. Обследование рабочего места

Важным этапом постановки диагноза является обследование врачом-специалистом рабочего места. В ходе обследования осуществляется осмотр производства, собираются сведения, недоступные в поликлинических условиях.

В большинстве случаев рабочие не знают всего перечня химических веществ, с которыми им приходится контактировать в процессе работы, и, следовательно, не могут в полной мере оценить сопутствующий этому риск. Перечень токсикантов, с указанием степени их опасности, является важнейшим элементом, позволяющим медицинскому работнику осуществлять контроль состояния здоровья работающих, устанавливать причинно-следственную связь между фактом воздействия и развивающейся патологией. В ряде стран существуют законы, обязывающие иметь на производствах такие перечни.

В случае необходимости выполняются замеры концентраций интересующих веществ в воздухе рабочей зоны, на рабочем месте. Собирается информация о состоянии здоровья других лиц, работающих на этом производстве.

Итогом обследования является не только уточнение диагноза, но и рекомендации по улучшению условий труда.

ГЛАВА 7.4. ГЕМАТОТОКСИЧНОСТЬ

Гематотоксичность это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путём, избирательно нарушать функции клеток крови или её клеточный состав (как в сторону уменьшения, так и увеличения числа форменных элементов). Важнейшими функциями клеток крови являются: кислородтранспортная, гемостатическая, обеспечение иммунитета. Нарушение числа форменных элементов может явиться следствием прямого разрушения клеток в кровяном русле, повреждения процессов клеточного деления и созревания в кроветворных органах, поступления зрелых элементов в кровь.

Частыми проявлениями гематотоксичности являются: нарушение свойств гемоглобина (метгемоглобинемия, карбоксигемоглобинемия), анемии (в том числе гемолитические), тромбоцитопении, лейкопении, лейкемии. По большей части клеточные дисক্রазии, вызванные токсикантами, обратимы и исчезают после прекращения действия вещества. Однако встречаются и персистирующие формы, заканчивающиеся летальным исходом в случае тяжелого повреждения костного мозга.

1. Гемопоз

Гемопозом называется процесс амплификации и дифференциации клеточных элементов крови, в ходе которого ограниченное количество стволовых клеток даёт начало более дифференцированным делящимся клеткам, которые, в свою очередь, превращаются в созревающие, а затем и зрелые форменные элементы. "Родоначальницей" клеток является полипотентная стволовая клетка (ПСК), при делении которой образуются клетки - предшественницы всех клеточных элементов. По завершении эмбриогенеза ПСК остается единственным элементом, отвечающим за репродукция клеток крови. В норме у взрослого человека гемопоз осуществляется в костном мозге, который представлен кластерами гемопоэтических клеток рассеянных в эпифизах трубчатых костей, плоских костях черепа, грудине, позвонках, костях таза, рёбрах. Даже в условия экстремального гемопоэтического стресса, развивающегося например при трансплантации костного мозга, экстрамедуллярное кроветворение в печени, селезёнке, лимфатических узлах у взрослого отмечается крайне редко. Пул гемопоэтических клеток-предшественников и пул зрелых форменных элементов крови находятся в состоянии динамического равновесия, при котором гибель и разрушение зрелых клеток уравновешено постоянной продукцией и выходом в кровь молодых. В среднем, у взрослого человека в сутки разрушается и заново образуется от 200 до 400 млн. клеток крови. Повреждающее действие на процесс гемопоза сопровождается не только гибелью, нарушением дифференциации и созревания клеток, но и активацией значительной части стволовых клеток, в нормальных условиях находящихся в состоянии покоя.

2. Нарушение функций гемоглобина

Одна из важнейших функций крови - транспорт кислорода от легких к тканям. Транспорт кислорода осуществляется двумя способами:

- в форме соединения - гемоглобином;
- в форме раствора - плазмой.

В растворенном состоянии плазмой крови переносится около 0,2 мл O_2 на 100 мл крови. В связанной с гемоглобином форме эритроциты переносят в 100 раз больше кислорода (20 мл на 100 мл крови). 1 г гемоглобина способен обратимо связать около 1,5 мл O_2 , а в 100 мл крови содержится около 14 - 16 г гемоглобина.

В результате взаимодействия кислорода с гемоглобином образуется нестойкое соединение оксигемоглобин (HbO) (рисунок 1).

% HbO (y)

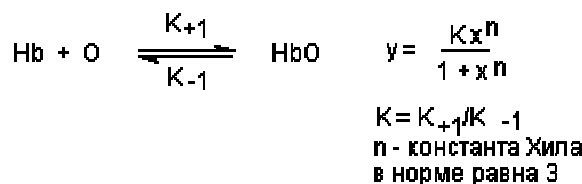
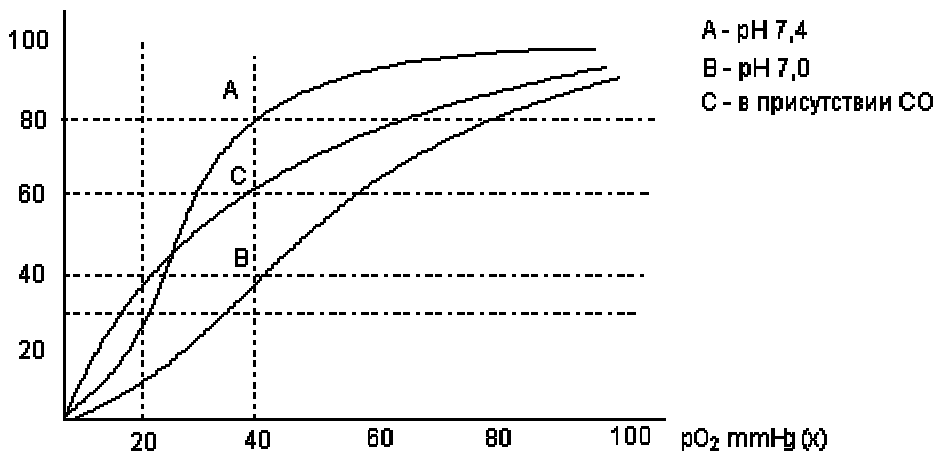


Рисунок 1. Кривая насыщения гемоглобина кислородом

При повышении парциального давления кислорода в среде (сатурация крови в легких) содержание HbO увеличивается и при 100 ммHg приближается к 100%. При понижении парциального давления O_2 (в тканях)

HbO распадается, при этом кислород выделяется в среду и утилизируется тканями организма. Процесс насыщения и насыщения гемоглобина O_2 описывается S-образной кривой. Такая форма зависимости между pO_2 и %HbO есть следствие явления взаимодействия субъединиц гемоглобина в молекулярном комплексе (гем-гем взаимодействие), физиологический смысл которого - обеспечение максимально возможного выделения кислорода в ткани при незначительном различии парциального давления газа в крови и тканях (pO_2 крови - около 40 mmHg; pO_2 тканей - около 20 mmHg; выделяется около 50% связанного кислорода).

В норме на сродство кислорода к гемоглобину влияют многочисленные факторы. Среди основных: pH, pCO_2 (эффект Бора), биорегуляторы процесса диссоциации оксигемоглобина (2,3-дифосфоглицерат).

Из сказанного ясно, что вещества, взаимодействующие с гемоглобином и изменяющие его свойства, будут существенно нарушать кислородтранспортные свойства крови, вызывая развитие гипоксии гемического типа.

2.1. Метгемоглобинообразование

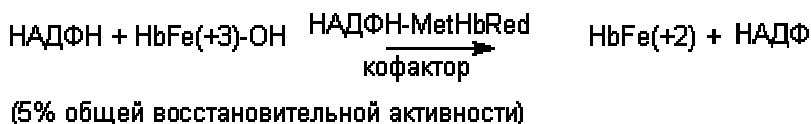
В процессе жизнедеятельности железо гемоглобина постоянно окисляется, превращаясь из двухвалентной в трёхвалентную форму. Гемоглобин, железо которого трёхвалентно, называется метгемоглобином. Метгемоглобин не участвует в транспорте кислорода, поэтому в нормальных эритроцитах постоянно идёт процесс восстановления образующегося метгемоглобина в гемоглобин. Эритроциты, содержащие метгемоглобин, склонны к гемолизу. Физиологический уровень метгемоглобина в крови - менее 1%. Высокое содержание метгемоглобина, развивающееся как правило в результате действия некоторых токсикантов, приводит к нарушению кислородтранспортной функции крови, а спустя некоторое время и гемолизу, что сопровождается снижением парциального давления кислорода в тканях, развитием тяжёлой гипоксии.

Поддержание метгемоглобина на уровне менее 1% обеспечивается двумя физиологическими механизмами.

Первый связан с восстановлением или связыванием ксенобиотиков-окислителей до момента их действия на гемоглобин. Так, в присутствии фермента глутатионпероксидазы (ГПО) восстановленный глутатион взаимодействует с молекулами-окислителями, попавшими в эритроциты, предотвращая их метгемоглобинообразующее действие. Недостаток субстратов, поддерживающих содержание оксидантов в эритроцитах на низком уровне, может привести к накоплению этих веществ, умеренной метгемоглобинемии, гемолизу и появлению в крови телец Гейнца. Тельца Гейнца представляют собой продукты денатурации гемоглобина. Механизм, посредством которого окислители вызывают их образование и взаимоотношения этого процесса с метгемоглобинообразованием остаются не выясненными.

Второй механизм обеспечивает восстановление образовавшегося в крови метгемоглобина до гемоглобина при участии двух ферментативных систем (рисунок 2).

Гексозо-монофосфатный шунт



Путь Эмбдена - Мейергофа

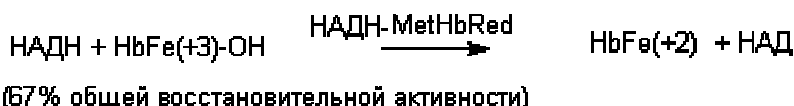


Рисунок 2 Механизмы восстановления метгемоглобина

В обеих системах донорами электронов (редуцирующие агенты) являются продукты анаэробного этапа метаболизма глюкозы и гексозомонофосфатного превращения. Поскольку в эритроцитах отсутствуют ферменты цикла трикарбоновых кислот и цепь дыхательных ферментов, единственными источниками энергии в клетках являются как раз гликолиз и гексозомонофосфатный шунт. В количественном отношении более значимыми являются механизмы связанные с гликолизом (95% восстановительной активности *in vivo*; 67% общей восстановительной активности *in vitro*). Основным донором электронов для процесса восстановления метгемоглобина является восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН). Система достигает полного развития к 4 месяцу жизни новорожденного.

В процессе гексозомонофосфатного превращения под влиянием гексозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6ф-ДГ) образуется восстановленный никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФН), который не только участвует в превращении метгемоглобина в гемоглобин в присутствии НАДФН-метгемоглобинредуктазы, но и переводит окисленный глутатион в восстановленную форму (последний связывает ксенобиотико-окислители - см. выше). Поэтому недостаток НАДФН также может сопровождаться образованием телец Гейнца.

2.1.1. Причины метгемоглобинообразования

Метгемоглобинемией называется состояние, при котором в крови определяется более 1% метгемоглобина. Метгемоглобинемия бывает врождённой и приобретённой. Приобретенная метгемоглобинемия развивается в результате действия на организм некоторых лекарств, промышленных и экотоксикантов, которые либо непосредственно окисляют железо, входящее в структуру гемоглобина, либо

метаболизируют в организме с образованием реактивных продуктов, обладающих этим свойством (таблица 1).

Таблица 1. Перечень основных метгемоглобинообразователей

аллоксон	нитрофураны
альфа нафтиламин	нитроглицерин
аминофенол (и его производные)	нитрофенол
аммония нитрат	озон
анилин (и его производные)	пара-аминопропиофенол
антипирин	пара-толуидин
арсин	перекись водорода
ацетанилид	плазмохин
бензол (и его производные, в том числе нитропроизводные)	пиридин
бензокаин	пирогаллол
диаминодифенилсульфон	пиридин
диметиламин	сульфанол
динитрофенол	сульфонамиды
динитротолуол	дапсон
гидразин	пронтозил
гидрохинон	сульфаниламиды
гидроксиламин	сульфатиазол
лидокаин	сульфоны
матиленовый синий	тетралин
нафтиламин	толулдиамнтолуидин
нитриты (в том числе органические)	тринитротолуол
нитраты (в том числе органические)	трионал и т.д. фенацетин
нитропруссид натрия	фенолы
оксиды азота	фенилендиамин
	фенилгидразин
	хлораты
	хлоранилин
	хлорбензол
	хлорнитробензол

Скорость образования метгемоглобина у различных экспериментальных животных при введении им веществ, подвергающихся в организме активации, как правило существенно различается (таблица 2).

Таблица 2. Способность некоторых ароматических аминов вызывать метгемоглобинэмию у разных экспериментальных животных

Вещества	Максимальный уровень MetHb в крови (%)	
	Кролик	Собака
Анилин	5	63
2-аминофлюорен	6	45
4-аминобифенил	40	85
p-аминофенол	1	60
Фенилгидроксиламин	47	40

Врожденная метгемоглобинемия является следствием дефекта структуры молекулы гемоглобина (М-гемоглобин), либо недостаточности ряда редуктаз.

2.1.1.1. Врожденная метгемоглобинемия

Врожденная метгемоглобинемия может быть обусловлена синтезом в организме гемоглобина М. Гемоглобин М представляет собой измененную молекулу гемоглобина, с необычным аминокислотным составом α - или β - субъединиц глобина. При всех вариантах нарушений структуры глобина железо пигмента находится в трехвалентном состоянии. Ни физиологические, ни вводимые восстановители (аскорбиновая кислота, метиленовый синий) не уменьшают содержание метгемоглобина в крови. Это наследственная патология, передающаяся по механизму гетерозиготной аутосомальной доминанты. У больных уровень метгемоглобина в крови составляет 25 - 30%. Клинически патология проявляется только выраженным цианозом. Гомозиготная патология не совместима с жизнью, так как весь синтезирующийся в организме гемоглобин, в этом случае, представлен метгемоглобином.

Наиболее частой причиной врожденных метгемоглобинемий является дефицит НАДН - метгемоглобинредуктазы. Лица с дефектом этого фермента справляются с перманентным образованием метгемоглобина в нормальных условиях за счет эритроцитарной НАДФН - метгемоглобинредуктазы и редуцирующих субстратов. Эта патология также генетически обусловлена и передается как по гетерозиготному, так и по гомозиготному механизму.

Уровень метгемоглобина в крови у пациентов с гомозиготной недостаточностью составляет 10 - 50%. Клинически патология проявляется цианозом. Кроме того у больных с содержанием метгемоглобина 40% и более отмечается диспное, быстрая утомляемость, частая головная боль. Ежедневный прием метиленового синего или больших доз аскорбиновой кислоты позволяет поддерживать метгемоглобинемию на уровне 10%. У больных с гетерозиготной недостаточностью НАДН - редуктазы уровень метгемоглобина в крови - до 2%, однако они чрезвычайно чувствительны к действию метгемоглобинообразующих токсикантов.

Врожденный дефицит НАДФН - редуктазы встречается редко. Поскольку энзим имеет небольшое функциональное значение, в крови отмечается нормальное содержание гемоглобина.

При врожденном дефиците Г-6Ф-ДГ отмечается пониженное содержание НАДФН и глутатиона в эритроцитах. В этих условиях повышается содержание оксидантов в клетках, вызывающих образование метгемоглобина, гемолиз, анемию, появление в крови телец Гейнца. У таких лиц особенно тяжело протекают инфекционный или токсический процессы. Нередко развивается острый гемолитический криз, особенно при действии токсикантов со свойствами оксиданта. В этих ситуациях назначение восстановителей не предотвращает бурное развитие метгемоглобинообразования.

2.1.1.2. Приобретенная метгемоглобинемия

Метгемоглобинемия развивается в тех случаях, когда скорость образования метгемоглобина под влиянием токсикантов превышает скорость его обратного превращения в гемоглобин. В этой связи тяжесть патологии определяется скоростью поступления ксенобиотика в организм, а затем в эритроциты, его окислительным потенциалом, дозой, скоростью элиминации. Если действующим агентом является не исходное вещество, а продукт его метаболизма, то глубина патологического процесса зависит также от интенсивности процесса биоактивации. Химизм реакции метгемоглобинообразования для большинства токсикантов не установлен.

2.1.2. Краткая характеристика некоторых токсикантов

2.1.2.1. Анилин

Анилин - вязкая, бесцветная жидкость, темнеющая на свету и воздухе. Применяется в производстве лекарственных веществ, антиоксидантов, фотоматериалов, красителей и др.

Действуя ингаляционно, через кожу и желудочно-кишечный тракт анилин может вызывать тяжелую патологию. По мимо метгемоглобинемии развивается гемолитическая анемия с образованием телец Гейнца.

Механизм действия анилина до конца не установлен. Известно, что *in vitro*, при инкубации с суспензией эритроцитов, вещество не вызывает метгемоглобинообразования. Вместе с тем, метаболиты анилина: фенилгидроксиламин, 2-аминофенол, 4-аминофенол - вызывают образование метгемоглобина *in vitro*. Полагают, что с учетом скорости накопления каждого из упомянутых метаболитов в организме и их индивидуальной активности, относительное значение фенилгидроксиламина, 2-аминофенола и 4-аминофенола в образовании метгемоглобина при отравлении анилином может быть оценено соответственно, как 100:4:1 (рисунок 3).

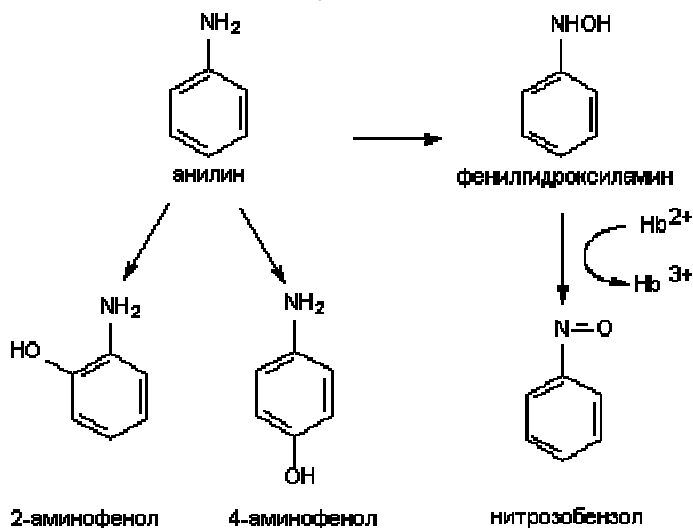


Рисунок 3. Схема метаболизма анилина

Поскольку анемия развивается спустя несколько суток после острой интоксикации анилином, по завершения лечебных мероприятий по поводу метгемоглобинемии, отравленные анилином должны находиться под наблюдением врача в течение относительно длительного времени.

2.1.2.2. Дапсон (4,4-диаминодифенилсульфон)

Дапсон - синтетический сульфон, структурно напоминающий сульфаниламиды (рисунок 4).

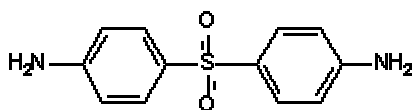


Рисунок 4. Структура дапсона

Препарат используют для лечения лепры, герпетиформных дерматитов, профилактики малярии (комбинированный препарат Маолирим), гангренозных пиодермитов, пустулёзного псориаза, плоского

лишая и т.д. В последние годы препарат, совместно с сульфаметаксозолом, применяют для лечения воспаления лёгких, вызванного *Pneumocystis carinii*, у больных СПИД.

Токсичность дапсона связана с формированием в ходе его метаболизма гидроксилламин-производных, являющихся метгемоглобинообразователями (см. выше). Терапевтический индекс препарата низок и дозы более 200 мг/кг при продолжительном приёме могут стать причиной анемизации с образованием характерных телец Гейнца. С целью недопущения образования метгемоглобина в крови больных иногда прибегают к длительному введению метиленового синего. В результате передозировки дапсона может развиваться и сульфметгемоглобинемия. Сульфгемоглобин - продукт необратимого окисления гемоглобина некоторыми токсикантами. Гемолиз, как правило, развивается спустя 6 - 9 дней после действия токсиканта. Максимум летальных исходов отмечается на 4 - 6 сутки. Снизить выраженность интоксикации удаётся путём промывания желудка, назначением больших доз активированного угля. Эффективность гемоперфузии, гемодиализа, форсированного диуреза не доказана.

2.1.2.3. Нитриты

Эффект могут вызывать как органические, так и неорганические вещества, содержащие в молекуле нитрогруппы. Неорганические нитриты это соли азотистой кислоты (азотистокислый натрий - NaNO_2). Кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде. Они применяются в производстве органических красителей. Органические нитриты представляют собой эфиры азотистой кислоты (амилнитрит, пропилнитрит и т.д.), содержащие в молекуле одну или несколько нитритных групп ($-\text{O}-\text{N}=\text{O}$), связанных с органическим радикалом. Это бесцветные или бледно-желтые летучие жидкости, плохо растворимые в воде. Используются в органическом синтезе и как сосудорасширяющие и спазмолитические средства (нитроглицерин и др.). Нитриты - типичные метгемоглобинообразователи.

Приём нитроглицерина может приводить к образованию метгемоглобина. Обычная доза препарата (4,8 мг. под язык) не вызывает клинически значимого эффекта (до 0,5%). Патологическое состояние может сформироваться при приёме очень большой дозы вещества лицами с анемией, почечной или печеночной недостаточностью.

Встречаются токсикомании, обусловленные пристрастием к ингаляции арилнитрита, бутилнитрита и других летучих нитросоединений. По свидетельству токсикоманов эти вещества вызывают длительно продолжающееся ощущение оргазма. В таких случаях имеется реальная угроза смертельной интоксикации метгемоглобинообразователями. У лиц с врожденной недостаточностью эритроцитов, например дефицитом Г-6Ф-ДГ, ингаляция веществ может привести к массивному гемолизу.

Определённую опасность представляют также нитраты - производные азотной кислоты (азотнокислый натрий - NaNO_3), вещества, содержащие в молекуле нитрогруппу. Попад в организм эти вещества могут превращаться в нитриты. В печени это превращение активирует глутатион-зависимая нитратредуктаза; в желудочно-кишечном тракте ряд микроорганизмов, таких как *Escherichia coli*, *Pseudomonas aurogenosa* и др. обладают способностью восстанавливать нитраты до нитритов.

Основные источники нитратов в пище - овощи, мясные продукты, фрукты, соки. Большое количество нитратов в сельской местности может содержаться в колодезной воде. Причина этого - проникновение в воду поверхностных вод, кантаминированных нитрат-содержащими удобрениями. Ретроспективные исследования показали, что уровень нитратов в питьевой воде не должен превышать 45 ppm (в пересчёте на NO_3).

Особенно чувствительны к нитратам дети. Впервые метгемоглобинемия у грудных детей, вызванная питьевой водой, содержащей нитраты, описана в 1945г. Comly. Причины явления обусловлены низкой кислотностью желудка и, как следствие этого, высокой активностью нитрат-редуцирующей флоры кишечника, пониженной (вплоть до 4 месячного возраста) активностью НАДН-метгемоглобинредуктазы, более высоким, в сравнении со взрослыми, потреблением жидкости на килограмм массы. Наконец, детям, как правило, дают воду после кипячения, вследствие чего концентрация нитратов в ней повышается.

2.1.3. Проявления метгемоглобинемии

Выраженность симптомов зависит от содержания метгемоглобина в крови. Основным проявлением является цианоз кожных покровов и видимых слизистых. Цвет цианотичных участков кожи от синеватого до шоколадного; слизистые более коричневого, чем синего цвета.

Необходимо отличать периферический и центральный цианоз.

Периферический цианоз является следствием нарушения гемодинамики и недостаточной гемоперфузии периферических органов. Наиболее ранние проявления - синюшная окраска носа и ногтевых лож. Причина цианоза - избыточное содержание восстановленного гемоглобина вследствие усиленной экстракции кислорода тканями, плохо снабжаемыми кровью (сердечная недостаточность).

Центральный цианоз развивается при повышенном содержании в крови сульфогемоглобина (более 0,5г на децилитр), метгемоглобина (более 1,5г на децилитр) и восстановленного гемоглобина (более 5г на децилитр). При содержании метгемоглобина менее 15% цианоз отсутствует. Проявления гипоксии формируются при метгемоглобинемии более 55%. Симптомы, развивающиеся на фоне метгемоглобинообразования представлены на таблице 3.

Таблица 3. Проявления метгемоглобинемии различной степени выраженности

Содержание метгемоглобина (%)	Проявления
0 - 15	Отсутствуют
15 - 20	"шоколадная кровь", цианоз

20 - 45	Возбужденность, одышка при физической нагрузке, слабость, утомляемость, беспокойство, оглушенность, головная боль, тахикардия
45 - 55	Угнетение сознания
55 - 70	Ступор, судороги, кома, брадикардия, аритмии
> 70	Сердечная недостаточность, смерть

При периферическом цианозе и повышенном содержании восстановленного гемоглобина в крови показана ингаляция кислорода. При наличии метгемоглобина или сульфогемоглобина в крови оксигенотерапия не приводит к устранения цианоза.

Отдельные ксенобиотики способны, в зависимости от условий вызывать образование как сульф-, так и метгемоглобина. Образование сульфгемоглобина сдвигает кривую диссоциации оксигемоглобина вправо, т. е. происходит облегчение отдачи кислорода кровью тканям. В этой связи на фоне выраженного цианоза отмечается лишь незначительная одышка. Артериальная кровь приобретает коричневатый оттенок. Как правило сульфгемоглобинемия не достигает уровня опасного для жизни. Дифференцировать сульфгемоглобинемии от метгемоглобинемии можно с помощью спектрофотометрических методов исследования крови.

2.1.4. Лабораторная диагностика

Ряд простейших методических приёмов позволяет иногда выявить наличие метгемоглобина в крови. Если пигмента в крови более 15%, капля крови окрашивает фильтровальную бумажку в "шоколадный" цвет, хорошо выявляемый при сравнении с цветом нормальной крови. Пропускание кислорода через венозную кровь изменяет её вишневый цвет на алый. Кровь, содержащая метгемоглобин, не меняет при этом окраску. Наконец, добавление к разведённой в 100 раз крови, содержащей метгемоглобин, кристаллика цианистого калия приводит её к окрашиванию в розовый цвет в следствие образования цианметгемоглобина. Диагностическими признаками массивного метгемоглобинообразования является коричнево-черное окрашивание мочи, а также появления в ней белка.

Результаты анализа газового состава крови следует оценивать с большой осторожностью. Часто данные о сатурации крови кислородом получаются на основе измерения парциального давления газа в плазме крови. Необходимо помнить, что присутствие метгемоглобина или сульфгемоглобина не сказывается на этом показателе. Некоторые оксиметры позволяют измерить фракционную сатурацию. В этих случаях оценивают отношение количества оксигемоглобина к общему количеству гемоглобина (оксигемоглобин, восстановленный гемоглобин, метгемоглобин, карбоксигемоглобин). Однако большинство оксиметров позволяют оценить только функциональную сатурацию гемоглобина, т.е. соотношение гемоглобина и восстановленного гемоглобина. Такие приборы дают информацию о достаточном содержании кислорода в крови даже при очень высокой степени метгемоглобинемии.

С помощью спектрофотометрических исследований можно отличить (как указывалось) метгемоглобин от сульфгемоглобина, а также определить процентное содержание метгемоглобина в крови. Если время прошедшее от момента забора крови и исследованием продолжительное, результат может оказаться ложным, так как процессы окисления и восстановления гемоглобина проходят и *in vitro*. Необходимо помнить, что у больных с выраженной анемией даже незначительное содержание метгемоглобина в крови может вызвать глубокую гипоксию. Поэтому обследование должно обязательно сопровождаться подсчетом эритроцитов и определением общего гемоглобина.

2.1.5. Принципы оказания помощи

Лечение острых интоксикаций метгемоглобинообразователями включает предотвращение дальнейшего поступления ксенобиотика в организм, оксигенацию крови, введение средств, превращающих метгемоглобин в гемоглобин, нормализацию кислотно-основного равновесия, поддерживающую, симптоматическую терапию. При авариях на производствах, сопровождающихся проливами токсикантов, необходимо проводить полную санитарную обработку пораженных. Лечение показано при появлении признаков интоксикации (таблица 2).

Антидотом метгемоглобинообразователей является метиленовый синий (тетраметилтионин хлорид). Препарат назначают лицам с уровнем метгемоглобинемии более 30%. В случае сопутствующей анемии, показатель может быть значительно ниже. Метиленовый синий играет роль дополнительного кофактора, передающего электрон от НАДФН на метгемоглобин, восстанавливая последний в течение 1 - 2 часов. В процессе реакции образуется его лейкоформа. Следовательно, для того, чтобы препарат выполнял функции антидота, необходимо нормальное содержание НАДФН в эритроцитах (рисунок 5). Окислительно-восстановительная система, формируемая метиленовым синим и его лейкоформой действует обратимо и при избытке окисленной формы (введение необоснованно высокой дозы препарата) может произойти дополнительное метгемоглобинообразование. При назначении препарата лицам с дефицитом Г-6Ф-ДГ и низким содержанием НАДФН в эритроцитах, возможен гемолиз.

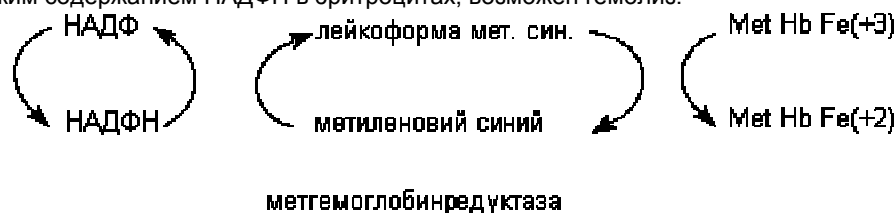


Рисунок 5. Восстановление метгемоглобина при участии метиленового синего и метгемоглобинредуктазы

Метиленовый синий вводят внутривенно в количестве 0.1 - 0.2 мл/кг 1% раствора (1 - 2 мг/кг). Если симптомы интоксикации не устраняются, через час следует повторить введение. Рекомендуется перед повторным введением определить уровень метгемоглобина в крови. Наиболее частой причиной резистентности патологии к препарату является дефицит Г-6Ф-ДГ, НАДФН-метгемоглобинредуктазы, а также сульфметгемоглобинемия. У леченых больных в течение некоторого времени после исчезновения симптоматики может сохраняться цианоз, что обусловлено с одной стороны способностью препарата окрашивать кожу, с другой бессимптомным течением метгемоглобинемии с уровнем менее 30%. Токсичными дозами метиленовой сини являются 7 - 15 мг/кг. Как уже указывалось, причина токсического действия состоит в способности окисленной формы вещества окислять гемоглобин. Развиваются гемолиз, гипербилирубинемия, ретикулоцитоз, анемия, иногда в крови появляются тельца Гейнца. Побочные эффекты, развивающиеся при использовании метиленового синего включают беспокойство, головную боль, спутанность сознания, тошноту, рвоту, абдоминальные боли, тремор, учащение сердцебиений. На ЭКГ - снижение амплитуды зубцов Т и R.

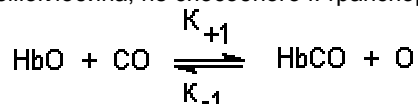
Непосредственно взаимодействовать с токсикантами в эритроцитах способна аскорбиновая кислота. Однако скорость процесса низка, и в этой связи препарат назначают лишь в случае метгемоглобинемии, обусловленной дефицитом редуктаз.

2.2. Образование карбоксигемоглобина

Карбоксигемоглобин образуется при действии на организм монооксида углерода (СО), так называемого угарного газа, а также при отравлении карбонилами металлов, прежде всего никеля и железа ($\text{Ni}(\text{CO})_4$; $\text{Fe}(\text{CO})_5$).

СО представляет собой бесцветный газ, лишенный запаха. Основным источником его являются процессы неполного сгорания топлива (древесины, угля, газа, бензина, дизельного топлива и т.д.), поэтому вещество содержится в больших количествах в выхлопных газах двигателей автомобилей, в атмосфере плохо вентилируемых производственных и бытовых помещений, в которых эксплуатируют устройства по сжиганию топлива, в воздухе помещений, охваченных пожаром. Единственный способ поступления газа в организм - ингаляционный.

Сродство монооксида углерода к гемоглобину в 200 - 300 раз выше, чем у кислорода, поэтому при поступлении в организм вещество связывается с двухвалентным железом гемоглобина, с образованием карбоксигемоглобина, не способного к транспорту кислорода. Развивается гипоксия:



$K^* = K_{+1} / K_{-1}$ - Константа Дугласа; $K^* = 300$

Появление карбоксигемоглобина в крови нарушает явление гем-гем взаимодействия (константа Хила становится равной 1,0), что затрудняет диссоциацию оксигемоглобина и в еще большей степени ухудшает оксигенацию тканей. Тяжесть клинической картины отравления угарным газом определяется:

- содержанием карбоксигемоглобина в крови;
- потребностью организма в кислороде;
- интенсивностью физической активности пострадавшего.

В состоянии равновесия СО, в концентрации 1 объемная часть на 1500 объемных частей воздуха, превращает 50% гемоглобина крови экспериментальных животных в карбоксигемоглобин. Как правило в реальных условиях, концентрация 0,1% СО во вдыхаемом воздухе обуславливает образование около 10% карбоксигемоглобина в крови. Экспозиция 0,5% СО в течение часа при умеренной физической активности сопровождается образованием 20% карбоксигемоглобина, при этом пострадавший начинает испытывать неприятные ощущения, предъявляет жалобы на головную боль. Интоксикация средней степени тяжести развивается при содержании карбоксигемоглобина 30 - 50%, тяжелая - около 60%, смертельная - более 66%.

Связь СО с гемоглобином обратима. Поэтому при удалении пострадавшего из атмосферы, содержащей газ, происходит его быстрая элиминация из организма.

Имеются данные, что СО взаимодействует также с миоглобином тканей (сродство в 14 - 50 раз выше, чем к кислороду), пероксидазой, медь-содержащими ферментами (тирозидаза), различными цитохромами (в том числе цитохромом а, цитохромом Р-450 и т.д.).

Основные клинические проявления развиваются со стороны ЦНС. Признаками интоксикации являются тошнота, рвота, головная боль, беспокойство, спутанность сознания, а в тяжелых случаях - кома. Вследствие гипоксии развивается отек мозга, гипертензия, сменяющаяся гипотонией. Нередко отмечаются деструктивные процессы в ткани мозга, приводящие к формированию стойких нарушений функций ЦНС.

К числу других, наиболее часто встречающихся проявлений острого поражения СО относятся: изменение окраски кожных покровов (розовая), тахикардия, аритмии, ишемия и инфаркт миокарда; умеренный отек легких, буллезные высыпания на коже, рабдомиолиз с последующей острой почечной недостаточностью.

Основой оказания помощи отравленному в ранние сроки является ингаляция кислорода под повышенным давлением, что позволяет вытеснить СО из связи с гемоглобином. Критерием для проведения гипербарооксигенации является содержание в крови более 25% карбоксигемоглобина.

3. Изменение числа ферментных элементов

Токсическое действие некоторых веществ может сопровождаться существенным нарушением клеточного состава крови. Наиболее значимыми проявлениями интоксикаций являются: анемии (гемолитическая, апластическая), лейкопении, тромбоцитопении, лейкомии.

3.1. Гемолитические анемии

Среди анемий химической этиологии, гемолитические - встречаются наиболее часто. Вещества, вызывающие внутрисосудистый гемолиз можно разделить на три группы (таблица 4):

1. Разрушающие эритроциты (при определённой дозе) у всех отравленных;
2. Гемолизирующие форменные элементы у лиц с врождённой недостаточностью Г-6Ф-ДГ;
3. Вызывающие иммунные гемолитические анемии.

Таблица 4. Вещества, вызывающие гемолиз

1. Общие гемолитики

анилин	нафтаден
сурма	нитриты
арсин (мышьяковистый водород)	нитраты
бромат калия	свинец
бензол	сульфоны
хлорат калия (натрия)	толуол
хлористый метил	трибромметанол
хлороформ	тринитробензол
медь	тринитротолуол
динитробензол	нитробензол
фенол	цинкэтиленбисдитиокарбамат
гидрохинон	Яды пауков
лецитин	Яды змей (кобра)
мезантоин	

2. Токсиканты, вызывающие гемолиз у лиц с дефицитом Г-6Ф-ДГ

ацетанилид	Н-ацетилсульфамид
ацетилсалициловая кислота	нафтаден
аскорбиновая кислота	нитрофурантион
гидразин	примахин
метиленовый синий	сульфаметоксипиридазин
хлорамфеникол	сульфаниламиды
дифенилсульфон	сульфапиридин
фенилгидразин	тиозосульфен
фуразолидин	

3. Токсиканты, вызывающие иммуноаллергические гемолитические анемии

парааминосалициловая кислота	фенилбутазон
альфаметилдофа	индометацин
цефалоспорины	изониазид
хинидин	меолфалан
хинин	пенициллин
хлордиазепоксид	рифампицин
хлорпромазин	стибофен
хлорпропамид	сульфониламиды
дифенилгидантрон	толбутамид
фенацетин	

Часть веществ, относящихся к первой группе, такие как бензол, толуол, динитробензол, хлороформ действуют непосредственно на мембрану эритроцитов разрушая её. Другие являются метгемоглобинообразователями, и развивающийся при интоксикации ими гемолиз является вторичным явлением. Особенно чувствительны к таким токсикантам лица с дефицитом глутатионредуктазы и Г-6-ФД (см. выше), что объединяет их с веществами составляющими вторую группу. Действуя в высоких дозах, препараты второй группы вызывают гемолиз и у лиц без дефектов энзимов. Таким образом различие между группами достаточно условно.

В основе иммунологических анемий лежат два механизма. Первый связан с фиксацией токсиканта на мембране эритроцита с образованием комплексного антигена. Гемолиз развивается вследствие атаки изменённых мембран эритроцитов антителами (IgG) в присутствии комплемента. Второй механизм состоит в образовании комплексного антигена токсикант-белок плазмы крови. После фиксации комплексного антигена на мембране эритроцитов также в присутствии антител (IgM) и комплемента происходит их гемолиз. Во втором случае гемолиз происходит более бурно, но, как правило, иммуноаллергические анемии, в целом, выражены умеренно. Примером токсикантов, действующих по первому механизму является пенициллин, по второму - хинин, хинидин.

Гемолитики разрушают эритроциты и гемоглобин выходит в плазму крови. Растворенный в плазме гемоглобин способен связывать кислород в такой же степени, как и заключенный в эритроциты. Поэтому в первые часы после острого воздействия токсикантов клиника гипоксии практически не выражена. Однако гемолиз сопровождается:

- существенным повышением коллоидно-осмотических свойств крови (содержание белка в плазме возрастает с 7 до 20%);
 - ускоренным разрушением гемоглобина. В эритроцитах гемоглобин сохраняется в среднем около 100 дней, т.е. весь период жизни клетки. В случае тяжелого гемолиза, когда содержание эритроцитов падает до 800 тыс. в мм³, уже через сутки уровень Hb составляет менее 30% от нормы;
 - затруднением диссоциации оксигемоглобина и, следовательно, ухудшением оксигенации тканей. Одна из причин явления существенно более низкое содержание в плазме крови, в сравнении с эритроцитами, основного биорегулятора сродства кислорода к гемоглобину - 2,3-дифосфоглицерата;
 - нефротоксическим действием гемоглобина, свободно циркулирующего в плазме крови.
- Указанные особенности являются важными элементами патогенеза острых интоксикаций гемолитиками.

3.1.2. Краткая характеристика некоторых токсикантов

3.1.2.1. Мышьяковистый водород (Арсин - AsH₃)

Арсин - бесцветный газ, без запаха. Используется в химическом синтезе, а также выделяется при зарядке аккумуляторных батарей. Острое воздействие арсином в высоких концентрациях сопровождается быстрым развитием гемолиза с последующим формированием почечной недостаточности. В ходе различных аварий на производствах отравление получили несколько сот человек. Летальность составляет более 20%. Экспериментально установлено, что гемолитический эффект обусловлен снижением содержания глутатиона в эритроцитах. Кратковременная ингаляция токсиканта в концентрации 250ppm, а также ингаляция в течение 30 мин арсина в концентрации 25 - 50ppm смертельна; 10ppm вызывает гибель пострадавших при длительной многодневной ингаляции. Кривая токсичности арсина характеризуется большой крутизной, это означает, что различия доз, вызывающих пороговое действие и смертельное поражение, малы. Так, в опытах на животных показано, что ингаляционное воздействие токсикантом в течение 28 дней в концентрации 5ppm переносится практически бессимптомно. Вместе с тем ингаляция в течение 4 суток вещества в концентрации 10ppm приводит к 100% гибели животных. Такая закономерность соответствует представлениям о механизме токсического действия вещества. Глутатион, как известно, необходим для поддержания целостности мембраны эритроцитов. Если скорость его синтеза превышает скорость истощения, наступающего под влиянием арсина, гемолиз не развивается. Напротив, если истощение превалирует над синтезом, развивается острая гемолитическая реакция. Наконец, в тех случаях, когда воздействие AsH₃ не сопровождается полным истощением запасов восстановленного глутатиона, гемолитический эффект носит дозо-зависимый характер.

В опытах на мышах показано, что воздействие арсином в течение 1 часа в концентрации от 5 ppm до 26 ppm сопровождается эффектами от пороговых до смертельного. Отмечается, что максимальное снижение содержания эритроцитов в крови у выживших животных наступает через сутки после воздействия, а восстановление их числа до нормы - к 11 суткам. Во всех случаях воздействия арсином, сопровождавшихся гемолизом, отмечали существенное истощение содержания глутатиона в эритроцитах.

Снижение осмотической стойкости эритроцитов отмечается лишь при действии арсина в высоких концентрациях (15ppm - 25ppm). Этот эффект может быть использован в качестве биотеста на действие токсиканта.

Периоду клинических проявлений интоксикации предшествует скрытый период. Как правило более короткому скрытому периоду соответствует более тяжелое течение интоксикации.

У животных, отравленных арсином, отмечается существенное увеличение активности кислой дегидрогеназы β -аминолевулиновой кислоты (КДАК). В крови определяются ретикулоциты и тельца Howell-Jolly. Это свидетельствует о быстро развивающемся процессе регенерации красной крови после интоксикации. Характер порфиринурии, наблюдаемой при отравлении арсином, отличается от феномена, регистрируемого при хроническом пероральном отравлении арсенатами или острой интоксикации арсинидом галлия. Это указывает на особый механизм токсического действия арсина.

Клинические признаки и проявления отравления арсином отражают процессы, связанные с развивающимся гемолизом эритроцитов. Арсин не вызывает явлений раздражения слизистых оболочек в концентрации до 2 ppm. В этой связи контакт с веществом в относительно высоких концентрации может проходить практически бессимптомно. Первые признаки интоксикации включают гемоглобинурию, беспокойство, слабость, тошноту, рвоту, схваткообразные боли в животе. После скрытого периода, обычно продолжающегося от 2 до 24 часов, появляется желтуха, сопровождающаяся анурией или олигурией. Отмечается угнетение эритроидного ростка костного мозга. Особенно чувствительны к действию арсина лица с дефицитом Г-6Ф-ДГ, сердечной и почечной недостаточностью. Характерна триада симптомов: анемия, боли в животе, гематурия. Частым осложнением отравления является токсический отёк лёгких.

Лечение начинается немедленно после удаления пострадавшего из зараженной атмосферы. При содержании гемоглобина в плазме крови более 1,5 мг/мл показано обменное переливание крови. В плане профилактики почечной недостаточности, в случае развития гемолиза, эффективным может оказаться мероприятие по ощелачиванию мочи. Использование хелатирующих агентов при отравлении арсином оказывается малоэффективным.

При хронической интоксикации возможно развитие сердечной недостаточности, постинтоксикационной нейропатии, легких психоорганических изменений. Однако чаще подобные явления сопутствуют острой интоксикации. В отдельных случаях нейропатия развивается спустя 1 - 6 месяцев после острого воздействия арсином.

Средневзвешенное во времени значение предельного порога воздействия арсина (TLV - TWA: Threshold Limit Value - Time-Weighted Average) для рабочего мест в США составляет 0,05 ppm. Это пороговое значение определяется как концентрация токсиканта, при которой все рабочие могут подвергаться действию вещества в течение всего периода работы (до выхода на пенсию) с учетом 8-часового рабочего дня, и при этом неблагоприятные эффекты развиваться не должны.

3.1.2.2. Сурмянистый водород (Стибин - SbH_3)

Стибин образуется при действии водорода на сурьму. Это бесцветный газ без вкуса и запаха. Действуя ингаляционно, вещество вызывает гемолиз, сопровождающийся вторичным поражением печени и почек. Проявления интоксикации: гематурия, тошнота, рвота, желтуха, шок, признаки острой почечной недостаточности. Лечение симптоматическое. Как и при интоксикации арсином, в случае массивного гемолиза, показано обменное переливание крови.

3.1.2.3. Тринитротолуол

Отравления тринитротолуолом встречаются на производствах взрывчатых веществ и при воздействии пороховых газов. Основные пути поступления в организм: ингаляционный и через кожу. Проявления гематотоксического действия вещества: анемия смешанного типа (апластическая с элементами гемолитической), метгемоглобинообразование. Одновременно отмечаются дерматит, гастрит, токсический гепатит.

3.1.3. Биомониторинг

Система биомониторинга воздействия арсина, стибина и других промышленных гемолитиков разработаны недостаточно, поскольку отсутствуют специфические проявления действия этих веществ в минимальных дозах. Для выявления действия арсина полезным может оказаться определение суммарного мышьяка в моче. В норме содержание элемента не должно превышать 50 мкг/л.

Для выявления действия стибина можно использовать выявление сурьмы в крови и моче. Нормальным содержанием элемента в цельной крови является 3 мкг/л, в плазме крови 0,3 мкг/л, в суточной моче - 0,5 - 2,6 мкг/л.

3.2. Аплазия костного мозга

Острые и хронические отравления могут приводить к развитию апластических процессов в костном мозге. При этом, как правило, снижается содержание и эритроцитов, и лейкоцитов, и тромбоцитов, развивается панцитопенический синдром. Некоторые токсиканты, например бензол, могут провоцировать гемопоэтические расстройства не только апластического, но и гиперпластического типа. При интоксикации такими веществами последствия определяются дозой, условиями действия, индивидуальной чувствительностью к токсиканту, продолжительностью жизни зрелых форменных элементов крови и проявляются панцитопенией, лимфопенией, апластической анемией, миелоидной метаплазией, лейкомоидной реакцией и настоящей лейкемией. Изолированное подавление числа форменных элементов одного типа встречается при интоксикациях чрезвычайно редко. Как правило об апластической анемии, токсическом агранулоцитозе, токсической тромбоцитопении говорят в тех случаях, когда сокращение данного типа клеток является основным гематологическим признаком отравления.

Сокращение числа форменных элементов крови может быть результатом действия огромного числа токсикантов, как лекарственных веществ, так и промышленных ядов и веществ природного происхождения.

В зависимости от воспроизводимости наблюдаемого эффекта вещества делятся на две группы. Ограниченное их число вызывает апластический процесс во всех случаях действия в определённой дозе. Вторая группа химических веществ, по большей части это медикаменты, вызывает аплазию костного мозга лишь у ограниченной части людей и нередко только после повторного приёма. Так, риск фатальной апластической анемии у лиц, леченных хлорамфениколом, составляет 1 : 20000 - 30000; фенотиазины вызывают агранулоцитоз с частотой 1 : 1200. Некоторые вещества, относящиеся к первой группе, представлены на таблице 5.

Таблица 5. Химические агенты, нарушающие клеточный состав крови

А. Алкилирующие агенты:

-сернистый иприт
-кислородный иприт
-азотистый иприт и его производные (циклофосфамид и др.)
-дериваты этиленмина (триметамин, инпрокон)
-эфиры метансульфоновой кислоты (цитосульфам, цитостоп)
-метилгидразин и его производные (ибентизин)
-производные алкилмочевины (ломустин)
-этиленоксид

Б. Антиметаболиты:

-производные пиперидина (аминоптерин)
-производные пурина (азатиоприн)
-производные пиримидина (фторафур)

В. Другие цитостатики:

-цитостатики растительного происхождения (колхицин, винглицин, винкристин)
-антибиотики цитостатического действия (актиномицин, оливомицин, пурамицин)

Г. Промышленные агенты и экотоксиканты:

-свинец
-мышьяк
-эфиры гликоля
-тринитротолуол
-органические растворители
-1,3-бутадиен
-хлордан, гептахлор
-2,4-Д; 2,4,5-Т
-бензол

В основе токсического действия препаратов первой группы лежит их способность подавлять обмен ДНК и РНК (сернистый, кислородный, азотистый иприты и др.), нарушать процесс митотического деления клеток (винкристин, винбластин и др.), блокировать синтез белка (пурамицин и др.) в клетках эритроидного (анемия), миелоидного (агранулоцитоз) и мегакарицитарного (тромбоцитопения) ростков. Механизмы действия веществ второй группы по большей части обусловлены иммуноаллергическими процессами, либо связаны с врожденными пороками метаболизма ксенобиотиков, другими особенностями токсикокинетики.

3.2.1. Основные проявления интоксикаций

3.2.1.1. Панцитопения.

Основные признаки панцитопении: состояние слабости и усталости, развивающихся в следствие анемии; лихорадка, инфекционные осложнения, как результат нейтропении; кровотечения - последствия

тромбоцитопении. При обследовании отмечается бледность кожных покровов, кровоточивость десен, пурпура. В тяжелых случаях - воспалительные процессы в ротовой полости. Костный мозг беден клеточными элементами. На миелограмме доминируют лимфоциты и ретикулярные клетки. Отмечается жировое перерождение костного мозга, фиброз. В крови - снижение количества эритроцитов (менее 2000000 в мм^3); гранулоцитопения - количество лейкоцитов снижается до 1500 и менее клеток в мм^3 крови; относительный лимфоцитоз; тромбоцитопения.

3.2.1.2. Агранулоцитоз

При типичном агранулоцитозе доминирующим признаком является гранулоцитопения. В тяжелых случаях количество лейкоцитов снижается до 500 - 300 клеток в мм^3 крови. Отмечается относительный лимфоцитоз. Количество гранулоцитов может составлять менее 2% от общего числа лейкоцитов. При исследовании пунктатов костного мозга выявляется существенное снижение клеток миелоидного ряда, особенно нейтрофильных метамиелоцитов и миелоцитов. Клинически патология проявляется прежде всего инфекционными осложнениями: некротическими поражениями слизистой ротовой полости (десны, миндалины, мягкое нёбо, глотка), некротической ангиной. Прогрессирование заболевания манифестируется утяжелением инфекционных осложнений, вплоть до развития сепсиса. Течение патологического процесса в значительной степени определяется особенностями токсического действия вещества, вызвавшего агранулоцитопению.

3.2.1.3. Тромбоцитопения

Тромбоцитопения, связанная с действием токсикантов, проявляется кровотечениями различной степени тяжести. Признаки геморрагии: петехии, пурпура, геморрагические пузыри на слизистой полости рта, желудочно-кишечные кровотечения. При аллергических процессах количество тромбоцитов в тяжелых случаях падает до 1000 и менее в мм^3 крови, при этом число мегакариоцитов в костном мозге снижается несущественно. Геморрагическому синдрому сопутствует анемизация организма.

3.3. Лейкемии

3.3.1. Распространённость

В США ежегодно регистрируется около 24000 новых случаев лейкоемий, что составляет примерно 3% от общего количества новообразований. Острая миелоидная лейкокемия (ОМЛ) и её разновидности составляют 46% всех лейкоемий; хроническая миелоидная лейкокемия (ХМЛ) - 14%; острая лимфоидная лейкокемия (ОЛЛ) - 13%; хроническая лимфоидная лейкокемия (ХЛЛ) - 29%. Приведенные цифры близки для большинства развитых в промышленном отношении стран. У взрослых ОМЛ составляет примерно 90% всех лейкоемий. Все известные этиологические факторы, провоцирующие развитие лейкоемий, включая химический, являются причиной лишь незначительной части формирующихся случаев заболеваний.

Вторичная острая миелоидная лейкокемия - достаточно хорошо установленный феномен. Она является основным злокачественным заболеванием крови, формирующимся на фоне лечения новообразований цитостатиками из группы алкилирующих агентов. Частота развития вторичной ОМЛ, в зависимости от дозы, назначаемого дополнительно, лучевого облучения, колеблется в интервале от 0,3 до 20%.

Попытки установить причинно-следственные связи между фактом действия токсиканта и возникновением лейкоемий связаны с большими трудностями. Одна из них обусловлена пересмотром классификации патологических состояний. С одной стороны, патологи стремятся дать всё более детальную характеристику, основываясь на индивидуальных клеточных типах, нерегулируемая пролиферация которых лежит в основе лейкоемий. С другой стороны, в ходе эпидемиологических исследований просматривается стремление группировать сравнительно редко встречающиеся типы неоплазмы, с тем, чтобы иметь репрезентативные группы для проведения анализа. Такая дивергенция интересов невольно приводит к ошибкам, особенно в тех случаях, когда этиология и патогенез новообразований, объединенных искусственно в единую группу, на самом деле различны. Не смотря на определённый прогресс в этой области, большинство популяционных исследований опирается на архаичные классификации лейкоемий, что существенно снижает научную значимость формулируемых выводов.

3.3.2. Диагноз

Достижения клеточной и молекулярной биологии привело к существенному увеличению числа классификационных подтипов миелоидных и лимфоидных лейкоемий, основывающихся на фенотипическом анализе. В этой связи сравнение результатов старых и современных исследований, направленных на установление причинно-следственных связей в системе токсикант - неоплазма, порой весьма затруднены. В настоящее время следует констатировать, что проведение подобных исследований без детализации диагноза заболевания крови лишено смысла.

При проведении исследований необходимо иметь в виду существенные различия в частоте миелодисплазий у представителей различных возрастных групп. Так, у лиц в возрасте 20 - 29 лет она составляет 0,061 на 100000, у лиц в возрасте 70 - 79 лет - 19,58 на 100000.

3.3.3. Профессиональные воздействия и лейкоемии

Целый ряд веществ рассматривается как потенциальные агенты, вызывающие лейкоемии. В ряде случаев причинно-следственная связь между определённой профессиональной деятельностью и увеличением риска развития лейкоемий установлена с большой степенью надёжности, однако природа веществ, которые обуславливают эту связь, остаётся не выясненной. Так, в ходе многочисленных эпидемиологических исследований установлен факт повышения частоты формирования лейкоемий у работников предприятий по производству резины и резиновых изделий. В большинстве таких исследований это связывают с действием бензола. Однако, помимо этого токсиканта на производстве на человека могут действовать и иные факторы, а доказательства того, что именно бензол ответственен за увеличение риска развития заболеваний, строго говоря отсутствуют. По данным ряда авторов причинами лейкоемий могут быть даже такие распространенные органические растворители, как четырёххлористый углерод, сероуглерод.

Увеличение числа лейкоемий, преимущественно ОМЛ, отмечается среди рабочих металлургической промышленности, других сфер деятельности, при которых возможна ингаляция паров и аэрозолей

металлов, однако не исключена возможность и иных, не выясненных до настоящего времени, этиологических факторов.

3.4. Характеристика наиболее известных токсикантов, вызывающих патологию крови

До настоящего времени бензол остаётся основным этиологическим фактором, вызывающим патологию крови. Однако в последнее время большое внимание уделяется и другим токсикантам, среди которых: свинец, мышьяк, радий, этиленоксид, некоторые пестициды (хлордан, гептахлор, 2,4-Д; 2,4,5-Т) этиленгликоль, 1,3-бутадиен.

3.4.1. Бензол

Помимо химического синтеза, бензол широко используется в качестве растворителя особенно в производстве клеев, в кожевенной промышленности, при производстве резины и резиновых изделий, в нефтеперерабатывающей промышленности, производстве химикалий, пестицидов и пластмасс. Интоксикация веществом возможна, кроме того, на складах горюче-смазочных материалов, в фармацевтической промышленности. После установления токсического действия бензола на костный мозг его по возможности стали заменять на менее токсичные ксилол и толуол. Установление гигиенических нормативов и контроля за их соблюдением существенно сократили последствия токсического действия вещества, тем не менее полностью устранить неблагоприятное действие токсиканта на здоровье людей при контакте с бензолом пока не удаётся. Особенно велик риск поражения при транспортировке бензола, замене и чистке химических реакторов, клапанов, трубопроводов и т.д.

Основной путь поступления бензола в организм человека на производстве - ингаляционный. Кожа обычно не является значимыми входными воротами для токсиканта, хотя длительное воздействие на кожу чистого вещества и его аэрозоля могут привести к интоксикации.

Поступившее во внутренние среды организма вещество быстро выводится из организма практически в неизменённом виде через лёгкие и в форме конъюгатов с мочой. Хотя молекула бензола проста, метаболизм его достаточно сложен. В настоящее время доказано, что угнетение костного мозга обусловлено действием метаболитов токсиканта. Начальные этапы метаболических превращений проходят в основном в печени при участии цитохром-Р450-зависимых оксидаз. Продуктом этих превращений является фенол. Превращение фенола под влиянием все тех же цитохром-Р450-зависимых оксидаз приводит к образованию полифенольных метаболитов, в основном гидрохинонов, а также, под влиянием пероксидаз, - бифенолов, гидрохинона, р-бензохинона. Долгое время полагали, что муконовый альдегид и муконовая кислота ($\text{HOOCCH=CHCH=CHCOOH}$), в небольшом количестве выделяющиеся с мочой отравленных, играют ключевую роль в механизме токсического действия бензола. В настоящее время вопрос о механизме действия бензола полагают целесообразным считать открытым.

Ключевым ферментом, обеспечивающим токсическое действие бензола на костный мозг, вероятно следует считать миелопероксидазу, активность которой чрезвычайно высока в гранулоцитарных элементах костного мозга. Энзим катализирует превращение одного из метаболитов бензола - гидрохинона в высокоактивный 1,4-бензохинон. В процессе метаболизма активируются свободно-радикальные процессы в клетках.

В эксперименте показано, что одновременное с бензолом введение индометацина (антиоксидант и противовоспалительное средство) существенно ослабляет миелотоксическое действие вещества. Это указывает на значение простагландинсинтетазы (циклооксигеназы) для развития индуцируемого бензолом миелотоксического эффекта. Однако показано, что индометацин угнетает активность и миелопероксидазы (блокируется окисление гидрохинона).

Эффекты, связанные с хроническим действием бензола, практически полностью ограничиваются нарушениями со стороны гемопоэза и иммунной системы. Способность бензола угнетать кроветворение была обнаружена в начале 20 века. Это свойство вещества первоначально даже пытались использовать для лечения лейкоемий, но безуспешно.

Признаками хронической интоксикации бензолом являются: анемия, тромбоцитопения, лимфоцитопения, панцитопения, сопровождающиеся слабостью, петехиальной сыпью, пурпурой, частыми инфекционными заболеваниями. Наиболее частое проявление - лейкопения, сопровождающаяся тромбоцитопенией. Часто, на фоне уменьшения числа форменных элементов в крови, выявляется гиперплазия костного мозга с признаками задержки созревания клеточных элементов эритроидного и миелоидного ряда. При обследовании рабочих типографий, контактировавших с бензолом в относительно высоких концентрациях, выявлены существенные нарушения со стороны системы крови (Greenberg, 1939; Goldwater et al, 1941). В крови обнаруживается относительная и абсолютная лимфопения, предшествующая анемии и тромбоцитопении. Гранулоциты, по-видимому оказываются более резистентными к действию токсиканта: гранулоцитопения, как самостоятельное проявление интоксикации, развивается редко.

По современным наблюдениям нарушения со стороны крови развиваются при хроническом действии бензола в концентрациях более 100 ppm.

Бензол действует на клетки костного мозга, находящиеся в фазе G2 митоза. Эти представления находят в соответствии с данными о высокой чувствительности цитоскелета (микротрубочки) к метаболитам бензола (гидрохинон, п-бензохинон), которые взаимодействуют с ГТФ-зависимыми структурами, вступая в ковалентную связь с сульфгидрильными группами белков. Эффекты метаболитов бензола не ограничиваются действием на клетки, находящиеся в фазе митоза. В сублетальных дозах возможно действие хинольных метаболитов на вхождение клеток в период клеточного деления.

Повторное введение бензола сопровождается уменьшением числа клеточных элементов в костном мозге. Эффект достигает максимума на 3 - 10 сутки и характеризуется исчезновением пула дифференцирующихся клеток средней степени зрелости. Характерной особенностью действия бензола является наличие рефрактерного периода, проявляющегося в том, что не смотря на продолжение его введения к 10 - 15 суткам отмечается нормализация клеточного состава костного мозга.

Путем введения метаболитов не удаётся воспроизвести клинику отравления бензолом. Так, введение даже больших доз фенола сопровождается лишь кратковременным угнетением кроветворения. Тем не менее, совместное введение фенола с гидрохиноном приводит к значимой супрессии клеточного деления в костном мозге. Вероятно, для воспроизведения полной картины интоксикации необходимо действие всего комплекса продуктов биотрансформации токсиканта.

3.4.2. Свинец

В прежние века свинец был доминирующей причиной хронических интоксикаций человека. Имеются данные, что конец Римской империи во многом связан с хронической интоксикацией населения свинцом, широко применявшимся для изготовления водопроводов и посуды. Изменившийся характер использования вещества в современном обществе, изменил и роль патологии, вызываемой токсикантом. В последние годы частота острых и хронических отравлений свинцом, сопровождающихся развитием выраженной патологии, существенно уменьшилась. И тем не менее полностью опасность поражения свинцом не исчезла. Особую проблему представляют красители на основе соединений свинца, свинецорганические соединения, такие как тетраэтил- и тетраметилсвинец, широко используемые в качестве добавок к горючим.

Одним из характерных проявлений хронической интоксикации свинцом является нарушения со стороны крови. Как в эксперименте, так и в клинике показано, что действие свинца на кровь ограничивается нарушениями со стороны эритроидного роста. Характерный признак хронической интоксикации свинцом - анемия различной степени тяжести. В основе патологии лежат два основных механизма, это (1) угнетение эритропоэза в следствие нарушения процесса синтеза гема, опосредованное подавления активности дегидрогеназы δ -аминолевулиновой кислоты и (2) повреждение мембраны эритроцитов. Второй механизм может быть количественно оценён только с помощью прецизионных методов исследования, он проявляется снижением стойкости эритроцитов. При исследовании костного мозга лиц, отравленных свинцом, отмечается выраженное угнетение созревания клеток эритроидного ряда, что сопровождается значительным увеличением числа эриробластов. В полихроматофильных эриробластах нередко выявляется базофильная исчерченность - достаточно надёжный признак интоксикации, хотя и не столь специфичный, как представлялось некоторое время тому назад.

В условиях производства, связанного с воздействием свинца, у работающих порой отмечается незначительная анемия гипохромного характера с умеренным ретикулоцитозом. На ранних этапах развития интоксикации анемизации может предшествовать повышение содержания порфирина в клетках костного мозга и эритроцитах. Появление порфирина в моче, как правило, поздний признак интоксикации. В сомнительных случаях надёжными диагностическими признаками хронической интоксикации являются появление в моче δ -аминолевулиновой кислоты и повышенный уровень свинца в плазме крови. В литературе отсутствуют данные о способности свинца вызывать лейкемии.

3.4.3. Мышьяк

Острые отравления мышьяком редко случаются в условиях производства. Основной путь поступления токсикантов, содержащих мышьяк, - с зараженной водой и пищей. Одним из признаков острой интоксикации, хотя и не основным, является нарушение созревания миелобластов, проявляющееся лейкопенией.

Скорость элиминации мышьяка из организма относительно высока. Период полувыведения составляет 1 - 3 суток. Основной путь выведения - через почки. В этой связи важным диагностическим признаком интоксикации в первые сутки является обнаружение элемента в плазме крови и моче.

Имеются сообщения, что хроническое действие мышьяка может приводить к развитию лейкемий, болезни Ходжкина.

3.4.4. Этиленоксид

Этиленоксид широко используют в качестве исходного продукта для целей химического синтеза, а также средства стерилизации различного оборудования. Интоксикации этиленоксидом случаются и в госпиталях при загрузке и разгрузке стерилизационных камер, в которых вещество используется в качестве стерилизующего агента. Этиленоксид действует на организм как окислитель и алкилирующий агент. При хроническом воздействии проявляются его свойства как мутагенна и цитотоксиканта. Эти эффекты зарегистрированы как у человека, так и у лабораторных животных. Лейкемогенное действие этиленоксида нельзя считать окончательно доказанным, хотя отдельные сообщения, указывающие на это свойство в литературе имеются.

3.4.5. Эфиры гликолей

Эфиры гликолей используют для производства растворителей, лаков, красок, чернил, антифризов. Обычно их рассматривают как малотоксичные вещества. Имеются сообщения о гематотоксичности эфиров гликолей у человека. Регистрируется тенденция к анемизации, гранулоцитопения. Иногда на фоне нормальных показателей периферической крови в костном мозге выявляются признаки миелоидной гипоплазии, повреждения стромы костного мозга, сидеробластоз. Эффекты выражены слабо и при соблюдении техники безопасности практически не проявляются.

3.4.6. Производные феноксиксусной кислоты

Основными представителями этой группы веществ являются 2,4-дихлорфеноксиксусная кислота и 2,4,5-трихлорфеноксиксусная кислота. Эти широко используемые гербициды получили известность в годы войны США и Вьетнама, поскольку применялись американскими военными для уничтожения лесов и урожаев противника. В результате не только вьетнамцы, но и американские солдаты получили поражение этими веществами. Неблагоприятные последствия, в основном, связывали с ТХДД, содержащимся в виде примеси в смеси гербицидов (оранжевая жидкость).

В последние годы проведено немало исследований направленных на установление неблагоприятного действия гербицидов. В некоторых работах показана способность веществ повышать риск заболевания лимфомой Ходжкина. Однако этот факт нельзя считать окончательно установленным.

4. Мониторинг состояния системы крови лиц, работающих в условиях опасных производств

Мониторинг состояния здоровья работающих на опасных производствах должен быть постоянным, а применяемые методы пригодны для осуществления массовых обследований. Многие гематологи полагают, что для этих целей вполне пригоден развернутый анализ крови. Напротив, профпатологи считают этот способ массового обследования работающих не достаточно информативным. В качестве аргументов выдвигаются следующие соображения. Во-первых количественный состав крови изменяется под влиянием большого числа факторов не химической природы. Во-вторых, далеко не всегда выявляется корреляция между степенью изменения количества форменных элементов в крови и дозой токсиканта. Однако, отсутствие нарушений со стороны крови при отравлениях, в частности бензолом, не означает отсутствия нарушений со стороны костного мозга. Вот почему продолжают поиски простых, но более специфичных и информативных методов обследования людей, контактирующих с потенциально опасными веществами.

В качестве дополнительных методов обследования часто рекомендуют проводить:

- оценку количества хромосомных aberrаций в клетка периферической крови (в случаях бессимптомного течения интоксикации бензолом, количество хромосомных aberrаций существенно не увеличивается);
- изучение распределения эритроцитов по их размерам, чувствительный тест, позволяющий выявить макро- и микроцитоз (развивающиеся например в следствии химически обусловленного дефицита фолиевой кислоты, при хроническом алкоголизме и т.д.)

Во всех случаях нарушений со стороны периферической крови у лиц, контактирующих с гематотоксикантами необходимо проводить углубленное обследование.

ГЛАВА 7.5. НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬ

Нейротоксичность - это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем, вызывать нарушение структуры и/или функций нервной системы. В основе развивающегося токсического процесса может лежать повреждение любого структурного элемента нервной системы путем модификации пластического, энергетического обменов, нарушения генерации, проведения нервного импульса по возбудимым мембранам, передачи сигнала в синапсах. Нейротоксичность может быть проявлением прямого, и опосредованного повреждением других органов и систем, действия токсикантов на нервную систему. Нейротоксичность присуща большинству известных веществ. Поэтому практически любая острая интоксикация в той или иной степени сопровождается нарушениями функций нервной системы. **Вещества, для которых порог чувствительности собственно нервной системы (отдельных её гистологических и анатомических образований) существенно ниже, чем других органов и систем, и в основе интоксикации которыми лежат нарушения моторных, сенсорных функций нервной системы, памяти, мышления, эмоций, поведения, условно относят к нейротоксикантам**, даже если не известны механизмы их токсического действия. Например, интоксикация свинцом у детей приводит к замедлению умственного развития, ухудшает способности к обучению. Механизм этого феномена неизвестен, но принято считать, что нейротоксичность - свойство свинца. Изучение особенностей действия отдельных нейротоксикантов позволяет понять механизмы феномена нейротоксичности в целом.

1. Структурно-функциональная организация нервной системы

Нервная система - это сложная система, обеспечивающая межклеточное взаимодействие и контролирующая большинство функций организма. Движение, мышление, зрение, слух, деятельность сердца, дыхание и другие физиологические процессы контролируются сложноорганизованной системой нервных клеток, нервных волокон, воспринимающих раздражение структур, синаптических контактов, нейромедаторов, нейромедиаторов.

Нервная система представлена двумя отделами - центральным (центральная нервная система - ЦНС) и периферическим (периферическая нервная система - ПНС). Анатомические структуры, входящие в ЦНС, это головной мозг, оптические нервы, спинной мозг. ПНС представлена структурами автономной и соматической нервной системы (таблица 1). Все образования ЦНС и ПНС представляют собой потенциальную мишень для действия токсикантов.

Таблица 1. Основные образования центрального и периферического отделов нервной системы

Центральная нервная система:
головной мозг
спинной мозг
оптические нервы (вторая пара черепно-мозговых нервов)
Периферическая нервная система:
соматический отдел :
- черепно-мозговые нервы
- спинальные нервы
- ганглии задних корешков спинного мозга
- периферические нервы:
моторные нервно-мышечные синапсы
специализированные сенсорные рецепторы
автономный отдел:
- парасимпатические краниальные и крестцовые нервы и ганглии
- симпатические ганглии и нервы

Клеточное строение ЦНС, её функции чрезвычайно сложны и многообразны. Клетки, составляющие нервную систему и определяющие её функциональное состояние, представлены нервными клетками (нейроны), глиальными клетками, эндотелиальными клетками сосудов мозга.

Нормальное функционирование нервной системы возможно только в условиях постоянства среды, окружающей нейроны. Основными характеристиками этой среды являются: адекватное снабжение кислородом, субстратами; постоянство кислотно-основного равновесия, ионного состава; нормальное внутричерепное давление.

Поддержание постоянства внутренней среды мозга обеспечивается деятельностью глиальных клеток, с помощью цереброспинальной жидкости, гематоэнцефалического барьера, благодаря мозговому кровотоку и внешнему дыханию.

1.1. Нейроны

Основные функциональные элементы нервной системы - нейроны. Они отличаются от других клеток наличием отростков - дендритов и аксонов. Дендрит, это модифицированная часть нейрона, предназначенная для восприятия нервного сигнала и его проведения. Он представляет собой многократно ветвящийся отросток, отходящий от любой части нейрона, длина которого редко превышает 1 мм. Нервная клетка может иметь один и более дендритов. Дендриты образуют сложную структурную сеть, обеспечивающую коммуникацию нервных клеток и интеграцию нервной системы.

Аксон у нервной клетки только один. Это отросток, предназначенный для проведения нервного импульса от тела нервной клетки к другим клеткам. Диаметр аксона постоянен на всём его протяжении, а длина колеблется от долей миллиметра до метра.

Тела, дендриты и аксоны нервных клеток окружены клеточной мембраной, толщина которой составляет около 70 А. В мембраны нервных клеток встроены специально организованные белковые комплексы, формирующие электро- и хемовозбудимые каналы, регулирующие проницаемость мембран для ионов Na^+ ,

K^+ , Cl^- , Ca^{2+} . Градиент концентрации ионов между внутренней и внешней средой клетки формирует потенциал покоя возбудимой мембраны, равный примерно 90 мВ (таблица 2).

Таблица 2. Распределение ионов внутри и вне возбудимых клеток (Katz, 1971). (мМ/л)

ионы	мышечная клетка		нервная клетка	
	снаружи	внутри	снаружи	внутри
Na^+	120	9,2	460	50
K^+	2,5	140	10	400
Cl^-	120	3 - 4	540	40 - 100

Градиенты концентраций калия и хлора примерно уравнивают друг друга. Поэтому проницаемость мембраны для этих ионов хотя и ограничена, но относительно высока. Проницаемость натриевых каналов в покое ничтожно мала. Более того Na^+ постоянно "выкачивается" за пределы нейрона с помощью энергозависимых механизмов против высокого электрохимического градиента. Таким образом, потенциал покоя представляет собой ни что иное, как готовый к использованию источник накопленной энергии, необходимой для генерации сигнала (потенциала действия). Если возбудимая мембрана деполяризуется примерно на 15 мВ, электровозбудимые натриевые каналы открываются, проницаемость их для ионов резко возрастает, Na^+ устремляется в клетку, разница потенциалов по обе стороны мембраны падает, а затем в течение около 0,8 мсек возвращается примерно к исходному уровню. При этом восстанавливается исходная проницаемость мембраны для натрия. Усиление проницаемости для K^+ также необходимо для полной реполяризации мембраны и восстановления исходного потенциала покоя.

Распространяющаяся по аксону волна деполяризации мембраны с последующей её реполяризацией лежит в основе проведения нервного импульса.

Проведение сигнала не единственная функция аксона. По ходу нервного отростка с помощью механизмов быстрого аксонального тока (400 мм/день) и медленного тока (3 мм/день) осуществляется также транспорт белков, ферментов, предшественников нейромедиаторов. Возможен также ретроградный ток от периферии аксона к телу нервной клетки. Скорость ретроградного тока - около 200 мм/день. Энергетика и механизмы этого явления до конца не изучены. Не до конца охарактеризованы и вещества, транспортируемые по аксону. По-видимому, они имеют трофические функции; возможна их транссинаптическая передача от иннервируемых клеток. По механизму ретроградного тока, транссинаптически, в ЦНС могут поступать некоторые токсиканты (например, тетанотоксин).

Наличие отростков и системы внутриклеточного транспорта, предназначенной для перемещения питательных, физиологически активных и пластических материалов на значительные (в масштабах организма) расстояния, делает нейроны наиболее уязвимыми элементами нервной системы для действия токсикантов с различными механизмами действия.

1.2. Синапсы

Межклеточные взаимодействия в нервной системе осуществляется через синапсы - пространства между окончанием аксона и возбудимой мембраной иннервируемой клетки (нейрона, мышечной, железистой клетки). Сигнал в синапсе передается с помощью специального химического вещества, выделяемого нервным окончанием и называемого нейромедиатор (нейротрансмиттер). Выделившийся нейромедиатор диффундирует через синаптическую щель и связывается со специфическим рецептором на постсинаптической мембране, изменяя его свойства. Изменение свойств рецептора запускает каскад процессов в иннервируемой клетке, сопровождающихся модификацией её функционального состояния (активацией или угнетением). Например, в нервно-мышечном синапсе нервное окончание выделяет ацетилхолин, который, взаимодействуя с холинорецептором, вызывает возбуждение миоцита и его сокращение. Хорошо доказана нейромедиаторная роль таких веществ, как дофамин, норадреналин, серотонин, ацетилхолин, гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), глутамат. Огромное количество химических веществ реализуют свое биологическое действие, вмешиваясь (активируя или угнетая) в процесс проведения нервного импульса в синапсах. Иногда такие вещества называют **синаптическими ядами**.

1.3. Глиальные клетки

Глиальные клетки представлены астроцитами, олигодендроцитами, клетками микроглии. Астроглия тесно ассоциирована с нервными клетками и выполняет роль стабилизатора среды, окружающей нейрон. Её значение - формирование гематоэнцефалического барьера (см. ниже).

Олигодендроциты в ЦНС и Шванновские клетки (леммоциты) ПНС окружают аксоны нейронов и образуют миелин. Миелинизирующие клетки, наряду с нейронами, чрезвычайно чувствительны к действию токсикантов, поскольку, имеют цитоплазматические отростки, в которых обменные процессы идут менее интенсивно, чем в перикарионе, а площадь поверхности, доступная для действия токсикантов, существенно больше, чем у клеток других типов. В этой связи, миелин очень часто повреждается при интоксикациях. Поражение может быть связано с первичным повреждением самого миелина (гексахлорбензол, триэтилолово и др.), либо ферментов, регулирующих его обмен (теллур, купризол). Некоторые токсиканты вызывают повреждение миелина, первично разрушая нейроны (таллий), аксоны (n-гексан), кровеносные сосуды (свинец).

Микроглия это фагоцитарная система ЦНС. Значение этих элементов глии для течения токсического процесса не известно.

1.4. Цереброспинальная жидкость.

Цереброспинальная жидкость, секретируемая хориоидальным сплетением (клетки сплетения морфологически напоминают клетки эпителия почечных канальцев), омывает желудочки мозга и резорбируется ворсинками паутинной оболочки мозга. Скорость секреции - 0,3 - 0,4 мл/мин. Абсорбция жидкости начинается при давлении, равном 68 мм водяного столба. С увеличением давления возрастает скорость абсорбции. Цереброспинальная жидкость свободно проникает через эпендиму, выстилающую

поверхность желудочков, и находится в прямой связи с экстрацеллюлярной жидкостью мозга. Она распространяется между нервными клетками, очищая межклеточное пространство. Цереброспинальную жидкость называют лимфой мозга. Её состав отличается от состава плазмы крови. В то время как цереброспинальная жидкость содержит чуть больше хлоридов, натрия, бикарбоната и магния, чем плазма, в ней содержится несколько меньше мочевины, глюкозы, калия, кальция и значительно меньше белка (15 - 30 мг/100 мл). Объем цереброспинальной жидкости у взрослого человека составляет около 150 мл. В эксперименте, путем введения токсикантов непосредственно в желудочки мозга лабораторных животных (в цереброспинальную жидкость), можно обеспечить их действие на нейроны, минуя гематоэнцефалический барьер.

1.5. Гематоэнцефалический барьер.

ЦНС защищена от действия многих токсикантов гематоэнцефалическим барьером. Аналогичный барьер окружает периферический отдел нервной системы (гематоневральный барьер). Также как и в ЦНС здесь имеются анатомические структуры с повышенной проницаемостью барьера для токсикантов. К числу таких структур относятся корешки дорзальных ганглиев спинного мозга и вегетативные (автономные) ганглии.

1.6. Энергетический обмен

Масса мозга составляет 2 - 3% от массы тела, однако количество протекающей через мозг крови составляет в покое около 15% от общего объема (50 - 60 мл/мин/100 г ткани); мозг потребляет около 25% потребляемой организмом глюкозы и 20% кислорода (3,5 мл/мин/100 г ткани). Такой интенсивный энергетический обмен необходим главным образом для обеспечения ионного транспорта через клеточные мембраны с целью поддержания необходимого электрохимического градиента по обе стороны возбудимых мембран, а также для синтеза нейромедиаторов. Лишь 10 - 20% производимой энергии расходуется на поддержание структуры мозга. В эксперименте парциальное давление кислорода в крови может снижаться до 10 мм Hg и при этом структурные изменения в ткани мозга не развиваются, хотя функции будут нарушены существенно. Высокая потребность в энергии для реализации функций и минимальное энергопотребление, необходимое для поддержания структуры мозга, объясняют, почему при временном нарушении церебрального кровотока, как правило, развиваются транзиторные мозговые явления.

Окисление глюкозы - единственный источник энергии в нервной ткани. Резервы глюкозы и кислорода в мозге ничтожно малы. Поэтому обеспечение ими полностью зависит от интенсивности мозгового кровотока. При полной аноксии "местные" запасы кислорода составляют лишь 7 - 10 мл и достаточны для поддержания функций мозга в течение 10 сек. Затем развивается потеря сознания. Необратимое повреждение клеток мозга развивается в течение 4 - 5 мин полной аноксии. Тем не менее восстановление функций возможно и после 8 минут аноксии при условии хорошей гемоперфузии. Энергообеспечение мозга страдает при разных типах острых интоксикаций, сопровождающихся нарушением внешнего дыхания, мозгового кровотока, кислородотранспортных функций крови, тканевого дыхания.

1.7. Мозговой кровоток

Кровоток обеспечивает снабжения мозга кислородом и субстратами, необходимыми для поддержания пластического и энергетического обмена, а также удаление из ткани мозга диоксида углерода, образующегося в процессе дыхания, и других метаболитов.

Кровоснабжение мозга - саморегулирующаяся система. Это означает, что в интервале давления церебральной гемоперфузии 6,65 - 20,0 кПа (50 - 150 мм Hg), скорость мозгового кровотока остаётся неизменной. Ниже 50 мм Hg интенсивность кровотока уменьшается пропорционально снижению давления. При этом ухудшается снабжение мозга кислородом и субстратами. Высокое перфузионное давление крови (более 150 мм Hg) нарушает механизм ауторегуляции, повышается гидростатическое давление в капиллярах мозга, при этом нарушается функциональная целостность ГЭБ. Мозговой кровоток тесно связан с интенсивностью метаболических процессов в ЦНС, как полагают, с помощью механизма, регулируемого концентрацией CO_2 и ионов водорода, продуцируемых нейронами и клетками глии. Основным фактором регуляции является ион водорода, который непосредственно влияет на тонус мозговых сосудов. Ацидоз способствует расширению сосудов и усилению мозгового кровотока; алкалоз вызывает спазм сосудов и уменьшает интенсивность мозгового кровотока. Таким образом, мозговой кровоток - важная производная кислотно-основного равновесия в мозге. Усиление нейрональной активности сопровождается повышением образования CO_2 и ацидозом. Повышение содержания H^+ в межклеточном пространстве мозга вызывает расширение сосудов, усиливает мозговой кровоток, вымывая углекислый газ и восстанавливая нормальное кислотно-основное равновесие. Интоксикации многими веществами сопровождаются глубоким нарушением кислотно-основного равновесия (метанол, этиленгликоль, цианиды и т.д.), что пагубным образом сказывается на состоянии ЦНС отравленных. Ряд токсикантов оказывает нейротоксический эффект, действуя на сосудистое русло мозга, нарушая мозговой кровоток (свинец, кадмий, висмут, клофиллин).

1.8. Внутричерепное давление

Внутричерепное давление определяется объемом цереброспинальной жидкости, протекающей через мозг крови и объемом самого мозга. В нормальных условиях увеличение одного из указанных объемов компенсируется уменьшением других.

2. Причины уязвимости нервной системы для токсикантов

Уязвимость нервной системы для повреждающего действия химических веществ обусловлена следующими обстоятельствами:

- многие химические вещества легко проникают через ГЭБ, а также действуют на нервные образования, не защищенные ГЭБ;
- длинные нервные отростки (аксоны и дендриты) значительно увеличивают площадь контакта нейрона с окружающей его средой, увеличивая уязвимость клеток для токсического повреждения;

- для нормального течения физиологических процессов в ЦНС необходимо поддержание электрохимического баланса в элементах нервной системы, обеспечивающееся многочисленными механизмами, на которые могут воздействовать различные химические вещества;

- нервные клетки, как правило, не в состоянии регенерировать и потому их гибель приводит к относительно стойким последствиям;

- токсические повреждения, полученные в раннем возрасте, могут проявляться и усиливаться по мере старения организма, так как потеря нейронов и другие изменения в нервной системе прогрессивно нарастают во второй половине жизни;

- даже незначительные нарушения структуры и функции нервной системы могут иметь пагубные последствия для функционирования организма в целом, проявляющиеся неврологическими, поведенческими расстройствами, изменением функций других органов и систем.

3. Характеристика нейротоксикантов и нейротоксических процессов.

3.1. Нейротоксиканты

Нейротоксиканты, как и другие ксенобиотики попадают в организм ингаляционно, через рот или кожу. Ряд веществ могут действовать несколькими путями.

Важнейшим условием прямого действия нейротоксиканта на ЦНС является его способность проникать через гематоэнцефалический барьер. Вещества, не проникающие через ГЭБ, могут вызывать токсические эффекты на периферии, главным образом в области синаптических контактов нервных волокон с иннервируемыми клетками органов, вегетативных и чувствительных ганглиев.

Отдельные токсичные соединения, не способные преодолевать ГЭБ, тем не менее нашли применение в практике медико-биологического эксперимента для изучения свойств центральной нервной системы. Они проявляют свойства нейротоксикантов только при внутрицеребральном или внутримозговом способе введения (6-гидроксидофамин, 5,6-дигидрокситриптамиин и др.).

Некоторые широко используемые промышленные агенты и экополлютанты, обладающие высокой нейротоксичностью, представлены в таблице 3.

Таблица 3. Некоторые промышленные агенты и экополлютанты, обладающие нейротоксичностью

1. Органические растворители: бензол, ксилол, метанол, н-гексан, сероуглерод, метилэтилкетон, перхлорэтилен, стирол, толуол, трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан	3. Пестициды: фосфорорганические соединения, карбаматы, метилртуть, метилбромид, хлорорганические соединения
2. Металлы и их соединения: алюминий, сурьма, мышьяк, висмут, золото, свинец, литий, марганец, ртуть, селен, таллий, олово, кремний, цинк, триэтилолово, тетраэтилсвинец	4. Газы: оксид углерода, сероводород, синильная кислота, этиленоксид, метилхлорид 5. Прочие: акриламид, фенол

Возможно избирательное действие токсикантов на отдельные элементы нервной системы. Так, некоторые вещества повреждают нейроны (причем преимущественно либо тела нервных клеток, либо аксоны, либо синапсы), другие - глиальные элементы. Точки приложения большей части токсикантов не определены. Избирательность токсического действия, носит относительный характер. С увеличением дозы ядов все менее избирательным становится повреждение. Примеры веществ, относительно специфично действующих на отдельные структурные элементы нервной системы, представлены в таблице 4.

Таблица 4. Примеры токсикантов, избирательно действующих на отдельные структурные элементы нервной системы

Тела нервных клеток и дендриты - соединения ртути - марганец - алюминий - глутамат - цианиды - таллий - МФТГ* Аксоны - тетродотоксин - сакситоксин - вератрин - н-гексан - сероуглерод - колхицин - акриламид - перитроиды	Синапсы - никотин - фосфорорганические соединения - карбаматы - хинуклединилбензилаты - бициклофосфаты - норборнан - пикртоксинин - диэтиламид лизергиновой кислоты - канабинол - фенамин - ботулотоксин - тетанотоксин Миелиновая оболочка - гексахлорфенол - триэтилолово - теллур

- триортокрезилфосфат
(ТОКФ)

* - 1 метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин. Вещество, являясь примесью "синтетического героина", вызывает необратимые поражения мозга, проявляющиеся симптомами паркинсонизма.

Анатомия повреждения мозга также зависит от свойств ядов. На таблице 5 представлены морфологические особенности поражения нервной системы наиболее известными токсикантами.

Таблица 5. Структуры нервной системы, повреждаемые некоторыми токсикантами

Диффузное поражение нейронов ЦНС	- фосфорорганические соединения - органические растворители (стирол, трихлорэтилен, толуол, 1,1,1-трихлорэтан) - таллий - марганец
Базальные ганглии	- СО - метанол - тетраэтилсвинец - триэтилолово
Фокальный некроз коры головного мозга и мозжечка	- СО
Чувствительные нервные волокна периферических нервов	- металлы (мышьяк, ртуть, таллий) - сероуглерод - гексан - акриламид - метилбутилкетон - этиленоксид - органические растворители
Двигательные нервные волокна периферических нервов	- гексахлорофен - металлы (свинец, теллур, таллий, мышьяк, ртуть) - триэтилолово - три-О-крезилфосфат
Тройничный и лицевой нервы	- трихлорэтилен
Вегетативные ганглии и дорзальные корешки спинного мозга	- ртуть - метилртуть - пиридоксин

3.2. Нейротоксические процессы

3.2.1. Механизмы действия нейротоксикантов

Развивающаяся патология является следствием воздействия токсикантов на возбудимые мембраны, механизмы передачи нервного импульса в синапсах, пластический и/или энергетический (гипоксия, ишемия) обмен в нервной ткани.

Классификация наиболее известных в настоящее время высокоспецифичных нейротоксикантов, часто используемых в эксперименте для изучения явления нейротоксичности, и механизмы их действия на нервные клетки, представлена на таблице 6.

Таблица 6. Классификация "избирательных" нейротоксикантов в соответствии с механизмами их действия

1. Токсиканты, разрушающие определенные нервные клетки ЦНС - 6-гидроксидофамин: дофаминергические нейроны - 5,6-дигидрокситриптамин: серотонинергические нейроны - капсаицин: нейроны, синтезирующие субстанцию Р - 3-ацетилпиридин: нейроны оливи мозга
2. Токсиканты, действующие на специфические рецепторы: А. Антагонисты: - курарин, α-бунгаротоксин, эрабутоксин: Н-холинорецепторы - атропин, скополамин, хинуклединилбензилат: М-холинорецепторы - ДЛК, псилоцибин: серотонинергические рецепторы - бициклофосфаты, норборнан, пикротоксин, бикикуллин: ГАМК-рецепторы - стрихнин: глициновые рецепторы Б. Агонисты: - никотин, анабазин: Н-холинорецепторы - ФОС, карбаматы: М- и Н-холинорецепторы

- каиновая кислота и её аналоги: рецепторы глутамата
3. Токсиканты, действующие на пресинаптические структуры: - ботулотоксин, кротоксин: Н-холинергические синапсы - резерпин: катехоламинергические синапсы
4. Токсиканты, действующие на натриевые каналы: А. Блокаторы проницаемости: - тетродотоксин - сакситоксин Б. Активаторы проницаемости: - аконитин - вератридин - батрахотоксин - токсины скорпионов
5. Токсины, действующие на калиевые каналы: А. Блокаторы проницаемости: - аминопиридин - новокаин и его аналоги Б. Активаторы проницаемости: - тетраэтиламмоний - пентилентетразол
6. Токсиканты, нарушающие биоэнергетику мозга: - цианиды, сульфиды - фторуксусная кислота - динитрофенол
7. Токсиканты, угнетающие аксональный транспорт: - колхицин - цитохалазин
8. Токсиканты, блокирующие митозы - метилазоксиметанол-гликозид (циказин)

Как видно из таблицы, в основе токсичности большинства известных нейротоксикантов лежит способность действовать на возбудимые мембраны и механизмы передачи нервного импульса в синапсах. Однако, последствия нарушений энергетического и пластического обмена для нервной системы также весьма пагубны.

Дефицит энергообеспечения может быть следствием первичного поражения клеток нервной системы (интоксикация цианидами, производными фторкарбоновых кислот и др.) и действия токсикантов на гемодинамику, кислородтранспортные функции крови, внешнее дыхание. В наибольшей степени нарушение энергетического обмена сказывается на состоянии нейронов, в которых высок уровень процессов потребления кислорода и синтеза макроэргов. В целом клетки малого размера с большим количеством дендритов более чувствительны к гипоксии (ишемии), чем большие нейроны с длинными аксонами и малым количеством дендритов (мотонейроны). Глиальные и эндотелиальные клетки менее чувствительны к гипоксии (ишемии) и по этому показателю распределяются следующим образом: олигодендроциты > астроциты > микроглия > эндотелий капилляров > белое вещество мозга. Среди структур, образуемых серым веществом, наиболее чувствительными к гипоксии являются: кора головного мозга (малые гранулярные клетки - 4 слой), кора мозжечка (клетки Пуркинье), гиппокамп (клетки полей Н₁ и Н₂).

В настоящее время интимные механизмы нейротоксичности большинства токсикантов неизвестны.

4. Проявления нейротоксических процессов

Нейротоксический процесс проявляется в форме нарушений моторных, сенсорных функций, эмоционального статуса, интегративных функций мозга, таких как память, обучение. Часто нарушается зрение, слух, тактильная и болевая чувствительность и т.д. Сенсомоторные нарушения приводят к появлению мышечной слабости, парезов и параличей. Повреждение механизмов регуляции функций жизненно важных органов и систем (дыхательной, сердечно-сосудистой) порой заканчивается гибелью отравленных. В ряде случаев, основными проявлениями токсического процесса могут стать изменение поведения пострадавших или экспериментальных животных.

Последствия действия химических веществ на нервную систему представлены в таблице 7.

Таблица 7. Некоторые проявления нейротоксического действия ксенобиотиков

Общие эффекты - утомление - потеря аппетита - ступор - наркоз - кома Двигательные нарушения - слабость - тремор - подергивания отдельных групп мышц - нарушение координации движений - нарушение рефлексов - параличи	Нарушение когнитивных функций - нарушение памяти - нарушение речи - нарушение обучения Нарушения сознания и эмоций - нарушения сна - раздражительность - беспокойство - депрессия - спутанность сознания - напряженность - иллюзии - галлюцинации

- судороги Сенсорные нарушения - ощущение раздражения глаз, слизистых, кожи - парестезии - тактильные нарушения - болевой синдром - нарушения зрения - нарушения слуха	- бред

В зависимости от условий действия, строения токсиканта, его нейротоксического потенциала развивающиеся процессы протекают остро или хронически.

Острые нейротоксические процессы обычно обусловлены нарушениями физиологических или биохимических механизмов в нервной системе и не связаны с дегенеративными изменениями нейроцеллюлярных элементов. Подобные эффекты обычно формируются после однократного воздействия токсиканта в относительно высокой дозе и носят обратимый характер. Как правило таким образом развивается интоксикация веществами, нарушающими передачу нервного импульса в синапсах (многочисленные синаптические яды), проведение возбуждения по возбудимым мембранам (вератрин, тетродотоксин, сакситоксин, этанол, хлороформ и др.), и некоторыми веществами, нарушающими энергетический обмен в мозге (синильная кислота, динитрофенол и др.).

Острые нейротоксические процессы в ЦНС проявляются либо **гиперактивацией нервных структур** (возбуждение, судорожный синдром), либо **их угнетением** (заторможенность, оглушенность, утрата сознания), либо дезорганизацией высшей нервной деятельности с развитием транзиторного **психодислептического состояния** (неадекватные эмоции, иллюзии, галлюцинации, бред и т.д.). При острой интоксикации любым центральным нейротоксикантом, в зависимости от действующей дозы, можно наблюдать отдельные признаки каждого из упомянутых эффектов. Однако **значительное преобладание в токсическом действии возбуждающего, тормозного или психодислептического элементов, позволяет условно относить вещества, соответственно, к судорожным, седативно-гипнотическим и психодислептическим агентам.**

Проявления острого нейротоксического действия на периферии - это, как правило, следствие нарушений проведения нервных импульсов по двигательным, вегетативным волокнам и блокада или извращение, поступающей сенсорной информации (онемения конечностей, парестезии, боль).

Хронически протекающие нейротоксические процессы обусловлены длительным или, реже, однократным действием токсикантов, преимущественно нарушающих пластический (свинец, тетраэтилсвинец, триметилолово, таллий, ртуть, ТОКФ и др.) или энергетический (оксид углерода) обмен. Их развитие часто сопряжено с альтерацией структурных элементов нервной системы: нейронов, их дендритов и аксонов, миелина, миелинообразующих клеток, эндотелиальных клеток.

Центральные хронические нейротоксические процессы, как правило, мало специфичны. Однако при интоксикациях некоторыми веществами (тетраэтилсвинец) периоду развития хронических эффектов предшествует достаточно специфичная клиника острого нарушения функций мозга.

Периферические нейротоксические эффекты проявляются стойкими нейропатиями. Вследствие того, что репаративные возможности нервной системы относительно малы, даже острые интоксикации могут сопровождаться развитием вялых, длительно текущих расстройств. Так, отравления некоторыми ФОС нередко приводит к формированию стойкой полиневропатии. По существующим данным (Salem E.L., El-Ghaweby S.H., 1980), широкое использование лептофоса для уничтожения вредителей хлопка в Египте привело к развитию тяжелых нейропатий у более чем 3000 человек, причем 30 человек погибло.

Один и тот же токсикант, действуя в разных дозах, может вызывать различные патологические реакции. Так, гексан при остром воздействии в высоких дозах вызывает состояние оглушенности, наркоз, кому (то есть формируется острый токсический процесс), а при длительной экспозиции в относительно малых дозах приводит к формированию стойкой дистальной аксонопатии (хронический токсический процесс).

Основные нарушения со стороны нервной системы, складывающиеся при интоксикациях, представлены на таблицах 8 и 9.

Таблица 8. Центральные нейротоксические эффекты

Острые эффекты	Хронические эффекты
- головокружение - эйфория - возбуждение - галлюцинации - бред - психомоторное возбуждение - нарушение походки - нарушение координации движений - судороги - сопор - кома	- нарушение настроения - депрессия - раздражительность - нарушение сна - нарушение внимания - нарушение памяти - изменение личности - паркинсонизм -экстрапирамидные и мозжечковые знаки

Таблица 9. Периферические нейротоксические эффекты

Острые эффекты	Хронические эффекты
- раздражение покровных тканей; - онемение конечностей; - парестезии; - нарушение тонуса мышц (до полного паралича); - нарушение тонуса гладкой мускулатуры; - нарушение функций экзокринных желез; - нарушение сердечной деятельности и дыхания	- периферические нейропатии, развивающиеся в проксимальном направлении; - нейропатии, сопровождающиеся поведенческими нарушениями; - полиневропатия с вовлечением дистальных отделов нервов; - мультифокальные патологические изменения; - периферическая денервация

Далеко не всегда нейротоксическое действие веществ легко выявить. Судороги, галлюцинации, потеря памяти и др. диагностируются просто. Однако большинство проявлений токсического процесса могут быть выявлены только специалистами невропатологами или психиатрами. Такие явления, как сонливость, умеренные головные боли, легкая бессонница, могут длительное время не предъявляться отравленным в качестве жалоб.

4.1. Острые нейротоксические процессы

4.1.1. Судорожный синдром. Конвульсанты

Известно огромное количество веществ, как синтетических, так и естественного происхождения, способных провоцировать развитие судорожного синдрома у человека и экспериментальных животных. Многие из этих веществ не относятся к избирательным нейротоксикантам и вызывают судороги, действуя в относительно высоких дозах. Действие других, напротив, чрезвычайно селективно и проявляется при попадании в организм в ничтожных количествах. Такие вещества называют **конвульсантами или судорожными агентами**. Их изучение представляет особый интерес, поскольку позволяет вскрывать механизмы, лежащие в основе данной формы нейротоксического процесса, разрабатывать эффективные противосудорожные препараты.

Механизмы, посредством которых токсиканты вызывают судороги, могут быть классифицированы на несколько логических категорий, исходя из представлений, согласно которым нормальное функциональное состояние ЦНС является следствием баланса между процессами возбуждения и торможения нейрональных систем. Судороги возникают либо в результате гиперактивации процессов возбуждения, либо угнетения процессов торможения (таблица 10).

Таблица 10. Возможные общие механизмы генерации судорожного синдрома

Активация процессов возбуждения	Угнетение процессов торможения
- прямая активация возбудимых мембран нервных клеток; - активация постсинаптических рецепторов возбуждающих нейромедиаторов; - увеличение количества возбуждающего нейромедиатора, высвобождающегося в синаптическую щель при прохождении нервного импульса; - пролонгация действия возбуждающего нейромедиатора в следствие угнетения механизмов разрушения или реаптейка; - повышение чувствительности постсинаптических рецепторов к возбуждающему нейромедиатору; - снижение потенциала покоя постсинаптических мембран клеток;	- блокада постсинаптических рецепторов тормозных нейромедиаторов; - уменьшение количества тормозного нейромедиатора, высвобождающегося в синаптическую щель при прохождении нервного импульса; - блок высвобождения тормозного нейромедиатора; - понижение чувствительности постсинаптических рецепторов к тормозному нейромедиатору; - сокращение продолжительности действия тормозного нейромедиатора в результате активации механизмов разрушения и реаптейка

Тормозные процессы в ЦНС осуществляются с помощью пресинаптических и постсинаптических механизмов. В обоих механизмах участвуют специфические нейромедиаторные системы мозга. В спинном и продолговатом мозге постсинаптическое торможение осуществляется с участием глицина. В высших отделах ЦНС механизмы пре- и постсинаптического торможения опосредованы высвобождением в синаптическую щель γ -аминомасляной кислоты (ГАМК).

Основными возбуждающими нейромедиаторами мозга являются ацетилхолин и возбуждающие аминокислоты (глутамат, аспартат).

Острое нарушение энергообмена в организме (тяжелое отравление цианидами, сульфидами, фторуксусной кислотой и т.д.) может сопровождаться развитием судорог.

Предполагаемые механизмы действия конвульсантов представлены в таблице 11.

Таблица 11. Предполагаемые механизмы действия некоторых конвульсантов

Механизмы действия	Вещества
1. Активация возбуждающих систем мозга: -прямое действие на возбудимые мембраны, изменение ионной проводимости; -селективный постсинаптический антагонизм с ГАМК -угнетение активности холинэстеразы и накопление ацетилхолина в синаптической щели -открытие Na^+ каналов в результате прямого действия на возбудимые мембраны -стимуляция рецепторов возбуждающих аминокислот (глутамата, аспартата) -усиление проницаемости возбудимых мембран для Na^+ путем вытеснения Ca^{2+} с поверхности возбудимых мембран 2. Блокада тормозных систем мозга А. Угнетение ГАМК-рецепторов: -постсинаптический антагонизм с ГАМК путем действия на ГАМК-рецепторы -постсинаптический антагонизм с ГАМК в результате действия на барбитуровые рецепторы -усиление инфлюкса Ca^{2+} в нервные терминалии и активация выброса возбуждающих нейромедиаторов Б. Угнетение синтеза ГАМК или её высвобождения: -блокада высвобождения ГАМК из нервных окончаний -угнетение активности декарбоксилазы глутаминовой кислоты (ДГК), глутамилцистеинсинтазы и цистатионазы -угнетение активности ДГК -усиление активности ГАМК-трансаминазы -нарушение метаболизма ГАМК в следствие угнетения активности пиридоксалькиназы В. Действие на глицинергические рецепторы: -действие на глицин-зависимый ионофорный комплекс и нарушение проницаемости возбудимых мембран для Cl^- 3. Нарушение энергетического обмена в мозге и в следствие этого механизмов ионного транспорта 4. Нарушение механизмов ионного транспорта: -угнетение активности $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$азы	пентилентетразол и его аналоги антихолинэстеразные вещества фторэтил* каиновая кислота, иботеновая кислота, N-метил-D-аспартат пикротоксин, бикикуллин, бициклофосфаты, норборнан судорожные барбитураты** тетанотоксин аллилглицин 3-меркаптопропионовая кислота гидразин, тиосемикарбазид и др. стрихнин, бруцин фторацетат, цианиды, сульфиды, динитрофенол и т.д. оубаин

* - гексафтордиэтиловый эфир

** - диметилбутил-этил барбитуровая кислота и др.

Для устранения судорожного синдрома, вызванного токсикантами, помимо этиотропных препаратов (там, где они существуют) рекомендуют вводить средства патогенетической терапии. Среди наиболее употребимых:

1. Диазепам - 0,3 мг/кг, в/м;
2. Гексенал, тиопентал - до 20 мг/кг, в/в;
3. Оксипутират натрия - до 150 мг/кг, в/в, медленно;
4. Дифенин - 15 - 20 мг/кг, в/в;
5. Магния сульфат - 50 мг/кг, 6 % раствор, в/в
6. Миорелаксанты, искусственная вентиляция легких.

4.1.1.1. Конвульсанты, активирующие возбуждающие процессы в ЦНС

К числу веществ, вызывающих судороги путем активации возбуждающих систем мозга, относятся соединения, непосредственно действующие на возбудимые мембраны нейронов, либо иными способами

усиливающие проведение нервных импульсов в холинергических и глутаматергических синапсах (см. таблицу). Структура некоторых таких токсикантов показана на рисунке 1.

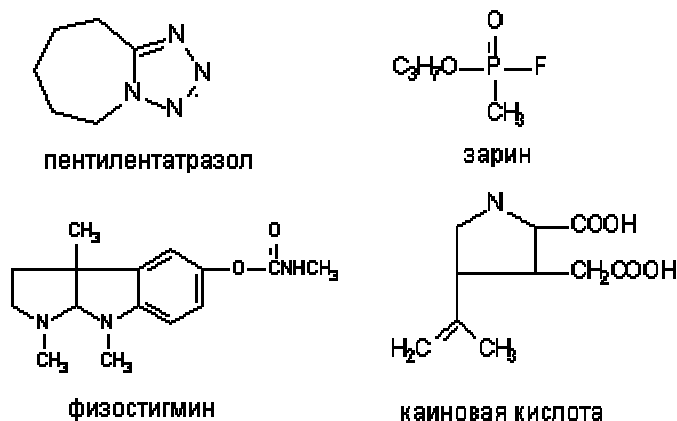


Рисунок 1. Структура некоторых конвульсантов

Пентилентетразол (ПТЗ) является представителем группы тетразолиевых конвульсантов, непосредственно действующих на возбудимые мембраны нейронов ЦНС. Зарин, представитель огромного класса фосфорорганических соединений (ФОС), и физостигмин из группы карбаматов, являются ингибиторами холинэстеразы, возбуждающими холинергические структуры мозга. Наконец, каиновая кислота - агент, действующий на центральные рецепторы возбуждающих аминокислот (глутамата).

4.1.1.1.1. Вещества, действующие на возбудимые мембраны и нарушающие механизмы ионного транспорта

Пентилентетразол (метразол)

В серии производных тетразола от триметилентетразола до гептаметилентетразола, судорожная активность возрастает с увеличением числа метиленовых групп в молекуле (таблица 12). Высказывается предположение, что их активность определяется способностью растворяться в липидах: чем выше коэффициент распределения масло/вода, тем активнее агент. Пентилентетразол (ПТЗ) широко используется в экспериментальной медицине для моделирования судорожного синдрома, при скрининге новых антиконвульсантов.

Таблица 12. Дозы производных тетразола, вызывающие судорожный синдром у мышей при внутрибрюшинном способе введения

Название	Эффективная доза (мг/кг)
Триметилентетразол	900
Тетраметилентетразол	250
Пентаметилентетразол (ПТЗ)	50
Гексаметилентетразол	40
Гептаметилентетразол	30

Вещество легко абсорбируется из мест введения и быстро распределяется в организме, преимущественно в водной фазе. С протеинами плазмы крови связывается менее 9% введенного соединения. ПТЗ подвергается метаболическим превращениям под влиянием микросомальных энзимов. Менее 5% введенного соединения выводится в неизменной форме. Основной путь выведения - через почки. Период полуэлиминации из плазмы крови крысы составляет от 2,5 до 6 часов.

Действуя в предсудорожных дозах, вещество вызывает усиление двигательной активности. Сенсорная стимуляция (свет, звук, прикосновение), на этом фоне, не приводит к развитию приступа судорог, как это имеет место при отравлении стрихнином. Более высокие дозы вещества вызывают генерализованные клонико-тонические судороги.

Механизм действия ПТЗ до конца не выяснен. Установлено, что токсикант обладает прямым действием на возбудимые мембраны. Эти данные получены в опытах с изолированными нейронами, в условиях, при которых синаптические влияния исключены. ПТЗ в концентрациях от 10 до 70 мМ вызывает медленно-волновую осцилляцию мембранного потенциала и разряды импульсов. Полагают, что в основе эффекта лежит способность увеличивать проницаемость возбудимых мембран для ионов хлора и калия и вызывать тем самым их деполяризацию. Имеются противоречивые данные о способности вещества угнетать активность Na^+/K^+ -АТФазы.

Другим важным механизмом действия ПТЗ является его способность избирательно блокировать постсинаптическое торможение нейронов ЦНС млекопитающих, опосредованное ГАМК.

Оубаин

Классическими представителями этой группы веществ являются гликозиды дигиталиса и, в частности, оубаин (G-строфантин). Молекулы всех гликозидов этой группы представляют собой комплекс агликона (генина) с одной или несколькими молекулами сахаров (гликоны). Фармакологическую и токсикологическую активность веществ определяет структура агликона. Однако токсикокинетические характеристики веществ, в частности способность проникать через биологические барьеры, зависит от гликона.

Оубаин содержит в молекуле один остаток рамнозы, присоединенный к С-3 углеродному атому полициклической структуры, стероидной природы (рисунок 2). Вещество выделяют из семян растения *Strophanus gratus*.

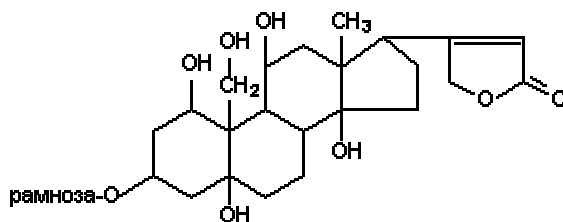


Рисунок 2. Структура молекулы оуабайна

Оуабайн всасывается в желудочно-кишечном тракте. Его действие начинается спустя 5 - 10 минут после приема. Максимальная активность проявляется через 30 минут и продолжается в течение полутора часов. Период полувыведения у человека составляет 21 час. Выделение в основном осуществляется через почки. У взрослых вещество очень плохо проникает через гематоэнцефалический барьер. Отчетливое центральное действие препарата выявляется только при внутривенном способе введения. Максимальная концентрация при этом определяется в гиппокампе и гипоталамусе. Полагают, что проникновение гликозида внутрь нервной клетки осуществляется с помощью натрий-калий АТФ-азы по механизму аналогичному для транспорта калия. *in vitro* увеличение содержания калия в инкубационной среде блокирует поступление оуабайна внутрь клетки.

Из-за плохой проницаемости ГЭБ для оуабайна его действие на ЦНС при системном введении выражено слабо. В эксперименте у взрослых крыс судорожный эффект не развивается даже при действии в дозах близких к ЛД₅₀ (70 мг/кг). Судороги вызывают путем введения вещества в ткань или внутрь желудочков мозга. У крысят в возрасте 3 - 9 дней, когда ГЭБ не сформирован, среднееффективная судорожная доза составляет около 2 мг/кг.

В основе судорожного действия вещества (как и других гликозидов группы дигиталиса) лежит способность нарушать активность Na⁺-K⁺-АТФазы, что приводит к снижению содержания калия и увеличению натрия внутри нейронов, деполяризации их мембран, гиперактивации нервных клеток и судорогам.

Таким образом, гликозиды нельзя отнести в полной мере к группе конвульсантов, но на их основе, при модификации молекулы, обеспечивающей проникновение веществ в мозг через ГЭБ, могут появиться вещества с высокой судорожной активностью.

Средства специфической терапии отсутствуют.

Фторэтил (гексафтордиэтиловый эфир)



Фторэтил - летучее вещество, родственное современным фторсодержащим общим анестетикам, вызывающее у лабораторных животных приступы тяжелых клонико-тонических судорог, как при вдыхании, так и при системном введении в организм (Krantz et.al, 1957). Вещество быстро выделяется из организма через легкие и поэтому действие его кратковременно.

Будучи чрезвычайно близким, по строению и свойствам, фторсодержащим ингаляционным анестетикам (см. ниже), фторэтил обладает совершенно иной физиологической активностью. Его изомер - гексафторизопропил - (CF₃)₂CHOCN₃, практически не обладает свойствами конвульсанта. Полагают, что в основе действия токсиканта лежит способность активировать инфлюкс натрия через возбудимые мембраны, вызывая тем самым активацию нейронов. Не исключено, что в процессе метаболизма фторэтила образуется трифторацетат - вещество близкое по строению фторацетату. Как известно (см. ниже), целый ряд фторкарбоновых кислот, эфиров фторкарбоновых кислот, фторированных спиртов, способных метаболизировать в организме с образованием фторуксусной кислоты, проявляют свойства конвульсантов.

Фенobarбитал, диазепам, этосуксимид - устраняют судорожный синдром, вызываемый фторэтилом.

4.1.1.1.2. Вещества, активирующие холинэргические структуры мозга

Синаптические структуры, в которых медиаторную функцию выполняет ацетилхолин, обнаружены как в центральной нервной системе, так и на периферии (автономный и соматический отделы). Общепринято, что нейромедиатор и в ЦНС и ПНС взаимодействует с двумя видами рецепторов: мускариновыми и никотиновыми, отличающимися между собой способностью отвечать на воздействие ряда агонистов (М-холинорецепторы избирательно возбуждаются мускарином; Н-холинорецепторы - никотином), механизмом рецепции сигнала и его передачи на эффекторную клетку (нейрон, миоцит, железистую клетку). Н-холинорецептор является прямым регулятором состояния ионных каналов постсинаптической мембраны для Na⁺, K⁺, Ca²⁺. М-холинорецепторы (в настоящее время выделяют несколько подтипов) представляют собой рецепторы связанные с G-протеинами (см. раздел "Механизмы токсического действия"). Установлено, что в некоторых мускарин-чувствительных холинэргических синапсах Н-холинорецепторы обнаруживаются на пресинаптической мембране, т.е. выполняют роль регуляторов их активности.

Процесс передачи сигнала в холинэргических синапсах может быть представлен несколькими этапами:

- синтез медиатора из холина и ацетата при участии фермента холин-ацетил трансферазы (ХАТ) и его депонирование в пресинаптических везикулах;
- выделение ацетилхолина в синаптическую щель (спонтанно и при поступлении в нервное окончание возбуждающего сигнала);
- взаимодействие ацетилхолина с холинорецепторами постсинаптической (и, по некоторым данным, пресинаптической) мембраны и инициация стимула в иннервируемой клетке;
- разрушение выделившегося в синаптическую щель нейромедиатора ферментом ацетилхолинэстеразой (АХЭ) и прекращение процесса передачи сигнала;

Наиболее уязвимыми для действия высокотоксичных веществ являются этапы выделения ацетилхолина в синаптическую щель, взаимодействия с холинорецепторами и разрушения АХЭ (рисунок 3).

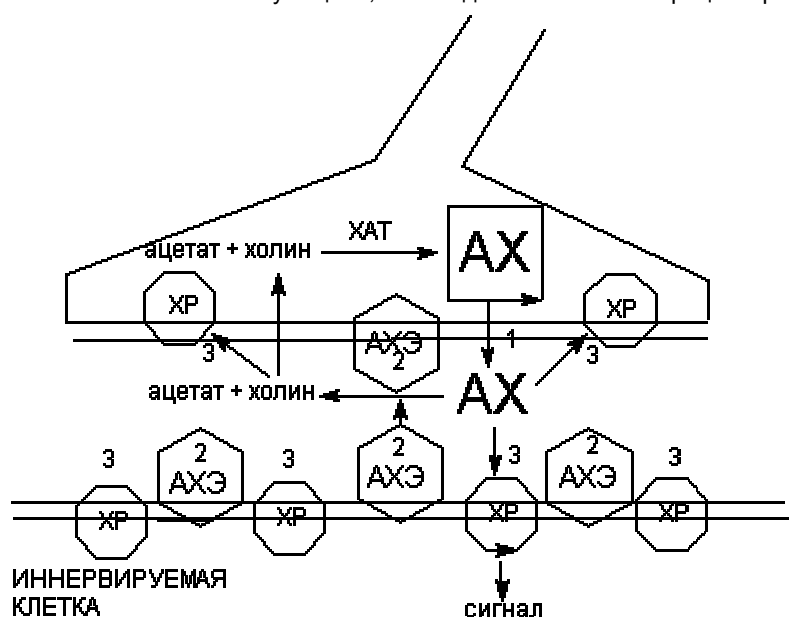


Рисунок 3. Схема функционирования холинэргического синапса.

1 - 3 - механизмы действия токсикантов:

1 - ботулотоксин

2 - ингибиторы АХЭ

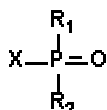
3 - холинэргические и антихолинэргические средства

В ЦНС плотность М-холинорецепторов существенно выше, чем Н-холинорецепторов. Наивысшая плотность холинэргических нервных окончаний определяется в хвостатом, прилежащем, чичевичном ядрах, гиппокампе, гипоталамусе, коре головного мозга, мозжечке.

ПЕРЕВОЗБУЖДЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНЫХ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ МОЖЕТ ПРИВОДИТЬ К РАЗВИТИЮ СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА. НАИБОЛЬШЕЙ АКТИВНОСТЬЮ В ЭТОМ ПЛАНЕ ОБЛАДАЮТ ИНГИБИТОРЫ АХЭ, СПОСОБНЫЕ ПРОНИКАТЬ ЧЕРЕЗ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР (ФОС, КАРБАМАТЫ).

Фосфорорганические соединения

Все соединения фосфорной и фосфоновой кислот, обозначаемые как фосфорорганические соединения (ФОС), имеют структуру:



R₁ и R₂ - алкил-, алкокси-, диалкиламидные и др. группы; X - кислотный остаток, в качестве которого могут выступать фтор-, циан-, ацильный- и другие радикалы.

Фосфорорганические соединения нашли применение как инсектициды (хлорофос, карбофос, фосдрин, лептофос и др.) и лекарственные препараты (фосфакол, армин и т.д.). Наиболее токсичные представители группы были приняты на вооружение армий целого ряда стран в качестве боевых отравляющих веществ (зарин, зоман, табун, Vx).

ФОС хорошо растворяются в липидах и, вследствие этого, легко проникают через гематоэнцефалический барьер и оказывают непосредственное действие на холинэргические синапсы мозга. ФОС являются ингибиторами АХЭ, практически необратимо взаимодействующими с ее активным центром (фосфорилирование энзима). В результате их действия угнетается процесс разрушения АХ в синапсах. Медиатор накапливается в синаптической щели и вызывает гиперактивацию постсинаптических холинэргических рецепторов (непрямое холиномиметическое действие). Легкое поражение ФОС, как правило, развивается при угнетении АХЭ более, чем на 50%, средней степени тяжести - более 70%, тяжелой - около 90%. Кроме того, будучи в известной степени структурными аналогами ацетилхолина, вещества оказывают прямое возбуждающее действие на холинорецепторы. Гиперактивация холинорецепторов приводит к перевозбуждению холинэргических механизмов мозга, что, при достаточной степени поражения, приводит к развитию судорожного синдрома.

Восстановление нормального проведения нервного импульса осуществляется за счет медленно протекающих процессов дэсфосфорилирования АХЭ (спонтанная реактивация энзима), синтеза АХЭ de novo, десенситизации холинорецепторов.

Элиминация ядов из организма происходит с разной скоростью. Некоторые вещества способны к относительно продолжительному персистированию (карбофос - сутки и более). Наиболее токсичные представители очень быстро разрушаются при участии гидролаз и оксидаз смешанной функции и уже спустя час после внутрибрюшинного введения экспериментальным животным в крови определяются в

следовых количествах. Значительная часть ФОС связывается эстеразами плазмы крови и не оказывает действия на холинэргические синапсы ЦНС и ПНС.

Симптомы интоксикации ФОС при ингаляционном поражении развиваются практически немедленно, при поступлении через рот или кожу - через десятки минут. При действии в несудорожных дозах вещества вызывают возбуждение, бессонницу, головные боли, галлюцинации, чувство страха, апатию, депрессию, тремор. Интоксикация всегда сопровождается нарушениями со стороны жизненно важных органов и систем: дыхательной, сердечно-сосудистой, желудочно-кишечного тракта (активация парасимпатического отдела вегетативной нервной системы). При тяжелых поражениях судорожный синдром протекает на фоне полной утраты сознания и если не заканчивается летальным исходом (от остановки дыхания) приводит к коме. Продолжительность острой фазы интоксикации от нескольких часов до суток.

Специфическими противоядиями ФОС являются реактиваторы холинэстеразы (дипириксим, прадиоксим, токсогонин и др.) и холинолитики (М- и Н-, центральные и периферические). Наиболее часто используемый в клинической практике препарат - атропин, вводимый в дозах, существенно превосходящих максимальную суточную, рекомендуемую фармакопеей (десятки миллиграмм в сутки). В качестве средств борьбы с судорогами рекомендуют назначение производных бензодиазепаина (диазепам).

Карбаматы

Производные карбаминовой кислоты - карбаматы (рисунок 4) давно известны, как активные ингибиторы холинэстеразы (ХЭ).

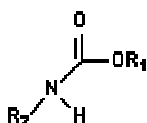
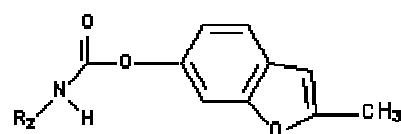
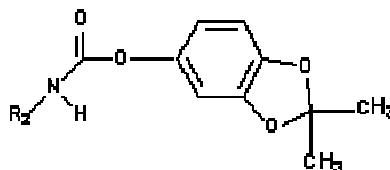


Рисунок 4. Структурная формула карбаматов

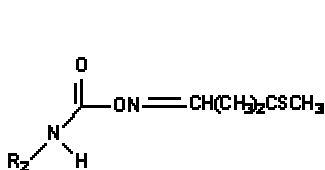
Некоторые представители группы, прежде всего растительного происхождения (физостигмин, галантамин), обладают высокой токсичностью, но в силу избирательности действия широко используются в качестве лекарственных препаратов. Многие синтетические аналоги, обладающие меньшей токсичностью для млекопитающих, но высокотоксичные для насекомых, применяются в качестве инсектицидов. Среди них: пропоксур (ЛД₅₀ - 90 - 124 мг/кг), изопрокарб (ЛД₅₀ - 400 - 485 мг/кг), диоксакарб (ЛД₅₀ - 60 - 80 мг/кг), бендиокарб (ЛД₅₀ - 60 мг/кг). В настоящее время известны и весьма токсичные для человека синтетические производные карбаминовой кислоты. Например, аминостигмин, альдикарб (ЛД₅₀ - 1 мг/кг), бис-(диметилкарбамокси-бензил)-алкан-диметил-галид (ЛД₅₀ - 0,005 мг/кг). Токсичность соединений определяется строением радикала (R₁) при кислородном атоме карбоксильной группы кислоты (рисунок 5).



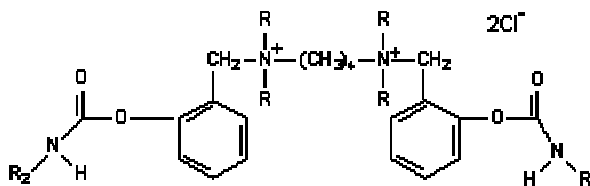
диоксакарб



бендиакарб



альдикарб



бис(диметилкарбамокси бензил)
алкан диметил галид

Рисунок 5. Структура некоторых производных карбаминовой кислоты (карбаматов)

Липофильные незаряженные молекулы легко проникают через гематоэнцефалический барьер и оказывают непосредственное действие на холинэргические синапсы. Соединения, содержащие в молекуле четвертичный (заряженный) атом азота, действуют в основном на ПНС (вегетативный и двигательный отделы). Поражение карбатами (по механизму действия, патогенезу токсического процесса и проявлениям) чрезвычайно напоминает поражение ФОС. Основным проявлением тяжелого поражения карбатами является судорожный синдром. Особенностью действия карбаматов, в сравнении с ФОС, является обратимый характер ингибирования АХЭ (карбамирование энзима). В этой связи процесс восстановления нормального проведения нервного импульса в холинэргических синапсах осуществляется, в основном, за счет быстрого, в течение нескольких часов, декарбамиривания АХЭ (спонтанной реактивации).

Холинолитики, как и в случае ФОС, являются специфическими противоядиями карбаматов.

Интересно отметить, что профилактическое введение веществ этой группы обеспечивает существенную защиту экспериментальных животных от высокотоксичных ФОС. Наибольшей активностью обладают третичные (проникающие через ГЭБ) карбаматы (физостигмин, галантамин, аминостигмин и др.). Защитный механизм объясняют экранированием АХЭ и ХР от действия ФОС как самим карбаматом, так и АХ, накапливающимся в синаптической щели вследствие угнетения некоторой части холинэстеразы, а

также развивающейся десенситизацией ХР. Добавление к профилактически вводимому обратимому ингибитору АХЭ холинолитических препаратов еще более усиливает степень защищенности экспериментальных животных.

4.1.1.1.3. Вещества, активирующие глутаматэргические структуры мозга

Глутамат представляет собой аминокислоту, в высокой концентрации содержащуюся в структурах центральной нервной системы. Она образуется путем аминирования α -кетоглутаровой кислоты. Декарбоксилирование глутаминовой кислоты под влиянием фермента декарбоксилазы (ДГК) приводит к образованию ГАМК. Действуя в малых количествах, глутамат возбуждает нейроны спинного мозга, коры головного мозга, мозжечка и других структур ЦНС млекопитающих. Установлено, что вещество является нейромедиатором, выделяющимся в специальных синаптических структурах и взаимодействующим с глутамат-чувствительными рецепторами постсинаптических мембран.

Основными глутаматэргическими нейрональными трактами ЦНС являются: кортико-стриатный, энторинал-гипокампальный; первичные слуховые волокна кохлеарного ядра, боковой обонятельный, ретино-тектальный, зрительный кортико-тектальный, зрительный кортико-геникулярный, кортико-таламический и др. (McGeer, McGeer, 1980).

Деполаризация постсинаптической мембраны, развивающаяся после действия глутамата на рецепторы, связана с увеличением её проницаемости для ионов натрия. Глутаматэргические рецепторы активируются также такими веществами как аспарагиновая кислота, N-метил-D-аспарагиновая кислота (NMDA), α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоазолпропионовая кислота (АМПК) и др. Эти возбуждающие аминокислоты не способны проникать через гематоэнцефалический барьер, но вызывают судорожный синдром при их внутрицеребральном введении экспериментальным животным. По способности вызывать судороги аналоги глутамата могут быть ранжированы следующим образом: NMDA (0,5 мМ/кг) > иботеновая кислота (1,0 мМ/кг), D,L-гомоцистеиновая кислота > N-метил-L-аспартат (> 1 мМ/кг) > L-глутамат (20 мМ/кг) > D-глутамат > L-аспартат. Неодинаковая чувствительность глутаматэргических рецепторов разных структур мозга к агонистам, позволила выделить несколько подтипов этих рецепторов: NMDA-чувствительный, каинатный, квисквалатный, метаботрофный рецепторы.

Токсические проявления системного действия глутамата в больших дозах у млекопитающих - это судороги (крысы, кошки) и рвота (собаки, обезьяны). У людей картину отравления глутаматом называют "синдром китайского ресторана" (поскольку в этих заведениях подают пищу богатую глутаматом), она характеризуется болями и ощущением жжения в верхней половине тела, возбуждением.

Веществом, широко используемым в эксперименте в качестве судорожного агента, является каиновая кислота.

Каиновая кислота - одна из целой серии аминокислот, выделенных из растений, грибов, водорослей японским химиком Takemoto (1978). Многие из этих аминокислот структурно напоминают глутамат и обладают возбуждающими свойствами. Каиновая кислота является наиболее активным агентом. Судорожный синдром в эксперименте вызывают внутрицеребральным введением каината, поскольку вещество плохо проникает через ГЭБ. Богатым природным источником каиновой кислоты являются морские водоросли *Digenea simplex*.

Интересной особенностью действия агонистов возбуждающих аминокислот является их способность вызывать гибель нейронов мозга, активирующихся глутаматом, через механизм гиперактивации глутаматэргических рецепторов. Это свойство получило название эксайтотоксическое действие (excitotoxic action). В основе эффекта, как полагают, лежит нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция в перевозбужденных нейронах.

В настоящее время синтезировано большое количество антагонистов глутамата, как неконкурентных (кетамин, фенциклидин, МК-801 - дозициллин и др.), так и конкурентных (кинуренат, 2-амино-5-фосфоновалериановая кислота, 2-амино-7-фосфоногептановая кислота и др.), обладающих противосудорожной активностью.

4.1.1.2. Конвульсанты, блокирующие тормозные процессы в ЦНС

Многие конвульсанты, блокируют проведение нервного импульса в синапсах, участвующих в осуществлении механизмов пресинаптического и постсинаптического торможения в ЦНС. К числу таковых, прежде всего, относятся ГАМК-эргические и глицинергические синапсы. В этой связи и токсиканты разделяются на две группы:

- нарушающие проведение импульса в ГАМК-эргических синапсах;
- нарушающие проведение нервного импульса в глицинергических синапсах. ГАМК-эргические синапсы вовлечены в механизмы как пре-, так и постсинаптического торможения, глицинергические - только постсинаптического.

4.1.1.2.1. Конвульсанты, действующие на ГАМК-эргический синапс.

Существуют многочисленные данные, подтверждающие участие ГАМК в механизмах пресинаптического и, резистентного к глицину, постсинаптического торможения. ГАМК - нейромедиатор в тормозных синапсах, как позвоночных, так и беспозвоночных животных. ГАМК вызывает гиперполяризацию возбудимой мембраны, что сопровождается формированием ингибиторного постсинаптического потенциала (ИПСП). Установлено, что в основе этого действия лежит усиление проницаемости возбудимых мембран для ионов хлора.

ГАМК обнаружена во всех структурах ЦНС. Концентрация аминокислоты в разных областях мозга колеблется в пределах от 2 до 10 мкМ/г ткани. Наивысшее её содержание - в чёрной субстанции. Высокая плотность ГАМК-эргических синапсов, выявлена в клиновидном ядре, ядре Дейтерса, на телах спинальных интернейронов, в обонятельных бугорках, коре головного мозга, коре мозжечка, гиппокампе, продолговатом мозге (нейронах ретикулярной формации), латеральных колечных телах, гипоталамусе, ядрах дорзальных рогов спинного мозга. Нейроны этих образований высоко чувствительны к ГАМК.

В нервных окончаниях ГАМК обнаруживается главным образом в цитоплазме в несвязанной форме (60 - 80%); относительно небольшое количество вещества находится в пресинаптических везикулах.

ГАМК образуется из глутамата под влиянием пиридоксальфосфат-зависимого фермента глутаматдекарбоксилазы (ДГК) (рисунок 6). ДГК - цитоплазматический фермент, широко представленный в структурах мозга, содержащих ГАМК в высокой концентрации. Источником глутамата является цикл Кребса. Катаболизм нейромедиатора осуществляется митохондриальным ферментом - трансаминазой ГАМК (ГМАК-Т). Он превращает вещество в сукцинатсемальдегид, который, в свою очередь, окисляется другим митохондриальным ферментом, дегидрогеназой сукцинатсемальдегида, с образованием янтарной кислоты. Последняя утилизируется циклом Кребса.

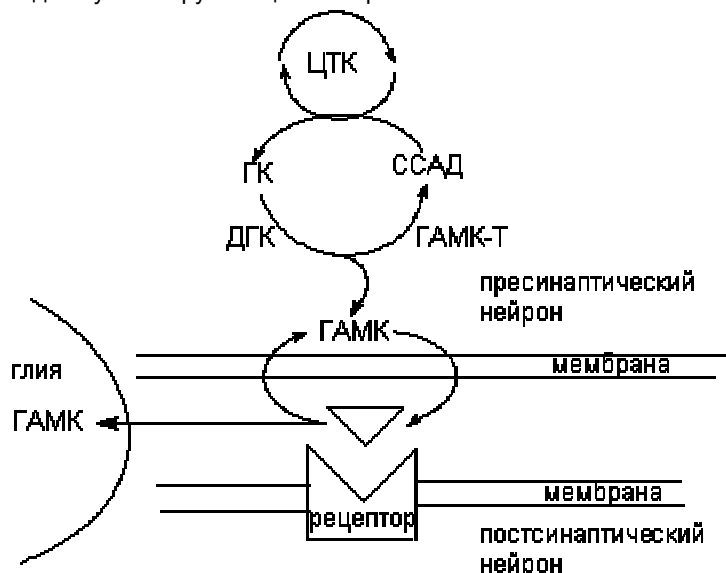


Рисунок 6. Схема обмена ГАМК в ЦНС:

ЦТК - цикл трикарбоновых кислот; ГЛТ - глутаминовая кислота; ДГК - декарбоксилаза глутаминовой кислоты; ГМАК-Т - трансаминаза ГАМК; ССАД - сукцинатсемальдегид

Большая часть выделившейся в синаптическую щель ГАМК удаляется путем высоко аффинного, Na-зависимого активного обратного захвата, как нервными окончаниями, так и клетками глии. До 50% ГАМК ЦНС определяется в глиальных элементах мозга.

Конвульсанты, действующие на ГАМК-ергический синапс, либо блокируют синтез и высвобождение ГАМК в синаптическую щель (аллилглудин, 3-меркаптопропионовая кислота, антагонисты пиридоксальфосфата) либо являются её физиологическими антагонистами.

4.1.1.2.1.1. Антагонисты ГАМК

Структура и физиология ГАМК-рецепторов окончательно не изучены. Не существует и их единой классификации. Наиболее распространено разделение рецепторов на ГАМК_A и ГАМК_B типы по их чувствительности к биксуллину. Наиболее изучены ГАМК_A рецепторы, действию на которые и приписывают основные эффекты, вызываемые тормозным нейромедиатором. С ГАМК_A-рецепторами связывается большое количество химических веществ, как облегчающих, так и блокирующих поступление ионов хлора через возбудимую мембрану (рисунок 7). Эти вещества являются соответственно агонистами или антагонистами ГАМК.

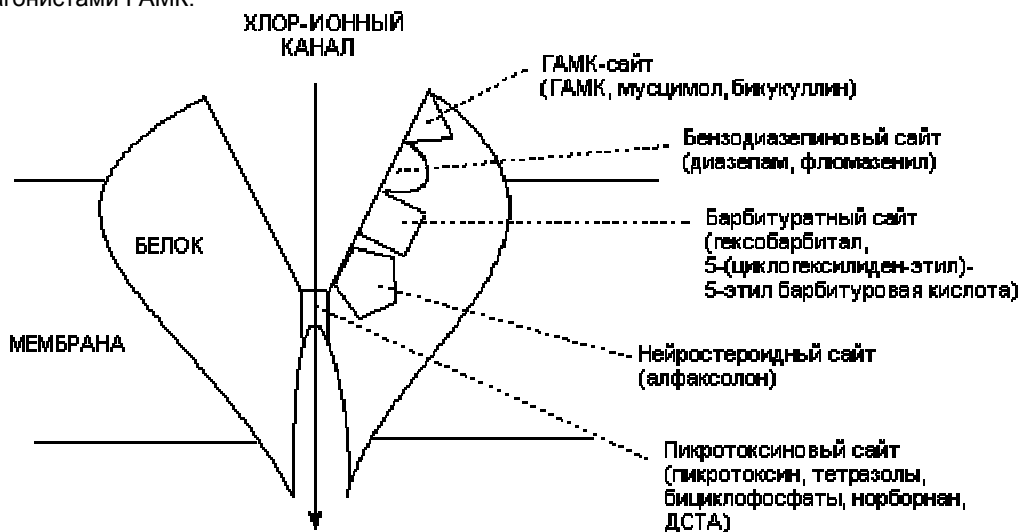
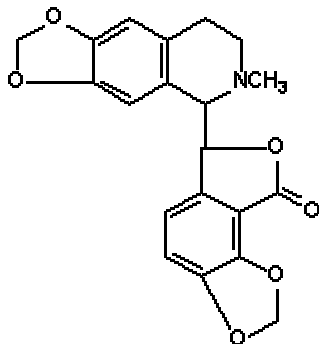


Рисунок 7. Схема строения ГАМК-рецептора, с указанием сайтов связывания ГАМК-ергических биологически активных веществ
Биксуллин

Бикукуллин - алкалоид, выделяемый из растения *Dicentra cucullaria*. Его структура представлена на рисунке 8.



бикукуллин

Рисунок 8. Структура молекулы бикукуллина

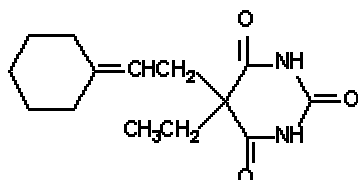
В настоящее время вещество широко используется в практике экспериментальных исследований. Судорожный синдром развивается при подкожном введении крысам в дозе 5 мг/кг.

Токсикокинетика соединения не изучена.

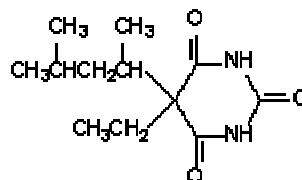
Проявления судорожного синдрома похожи на судороги вызываемые пикротоксином. По существующим представлениям бикукуллин является селективным антагонистом ГАМК в структурах спинного мозга, ствола мозга и мозжечке и не вмешивается в проведение нервного импульса в глицинергических синапсах. Чувствительность различных ГАМК-рецепторов корковых нейронов к токсиканту неодинакова (на этом признаке построена их классификация на ГАМК_A- и ГАМК_B-рецепторы). Полагают, что судороги, развивающиеся при отравлении бикукуллином, имеют субкортикальное происхождение и обусловлены гиперактивацией клеток Пуркинье мозжечка, а также нейронов клиновидного ядра, ствола мозга, спинальных нейронов, гиппокампа, латеральных коленчатых тел, гипоталамуса, ретикулярной формации. Бикукуллин препятствует связыванию ГАМК синаптическими ГАМК-рецепторами, что указывает на его способность действовать на сайт для ГАМК. В судорожных дозах вещество не влияет на активность ГАМК-трансаминазы и ДГК, а также на уровень ГАМК в структурах мозга. Этосуксимид и вальпроевая кислота практически не препятствуют развитию судорог, вызываемых бикукуллином.

Судорожные барбитураты

Судорожные барбитураты представляют большой интерес, поскольку являются антагонистами своих аналогов - барбитуратов, усиливающих тормозные процессы в ЦНС (гексенал, барбитал и др.). Структура таких соединений представлена на рисунке 9. ЦГБК синтезирована и впервые изучена Vellus et al. в 1951 году, ДМБК - Swanson и Chen в тридцатые годы.



**5-этил(2-циклогексилиден-этил)-
5-этил барбитуровая кислота (ЦГБК)**



**5-(1,3-диметилбутил)- 5-этил
барбитуровая кислота (ДМБК)**

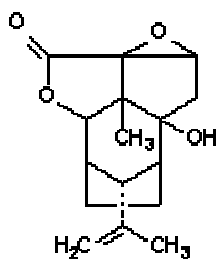
Рисунок 9. Структура молекул судорожных барбитуратов

Токсикокинетические характеристики веществ такие же, как и у других производных барбитуровой кислоты.

Клонико-тонические судороги у мышей ЦГБК при внутривенном введении вызывает в дозах 3 - 9 мг/кг, ДМБК - около 3 мг/кг. Судорожное действие веществ подавляется пентабарбиталом. Такие противосудорожные средства как фенитоин, триметадоин, мефенезин не предотвращают развитие эффекта. Механизм действия веществ не изучен. По всей видимости, они действуют на сайт связывания барбитуратов, выступая в качестве антагонистов ГАМК. При этом каким-то образом изменяется проницаемость возбудимой мембраны для ионов кальция, поскольку токсиканты не оказывают действия на реактивные структуры (препарат аорты кролика) в инкубационной среде, не содержащей Ca^{2+} .

Пикротоксин

Пикротоксин выделяют из *Anamerta socculus* - кустарника, произрастающего в Восточной Индии. Исходный экстракт содержит два дилактона: пикротин, практически инертное вещество, и пикротоксинин активный конвульсант, структура которого представлена на рисунке 10.



пикротоксинин

Рисунок 10. Структура молекулы пикротоксинина

Токсикокинетика вещества изучена недостаточно. Оно быстро абсорбируется при всех способах аппликации, однако судороги развиваются по прошествии определенного скрытого периода. Возможно, в этот период происходит биотрансформация вещества, его взаимодействие с ДГК или другие явления. Однако не исключено, что скрытый период - следствие медленного преодоления веществом гематоэнцефалического барьера. Особенности распределения вещества и пути его биотрансформации неизвестны. Судя по кратковременности действия, процесс элиминации происходит с большой скоростью.

Пикротоксин вызывает клонические судороги. При увеличении дозы преобладает тонический компонент, причем тоническое сокращение сгибателей предшествует сокращению разгибателей. На фоне двигательных нарушений появляются вегетативные реакции: слювация, иногда рвота, повышение артериального давления. Предсудорожные дозы вещества стимулируют дыхание. Пикротоксин возбуждает все отделы ЦНС, однако у спинальных животных судорожный синдром вызывается более высокими дозами яда.

В опытах на животных установлено, что пикротоксин блокирует как пресинаптическое, так и резистентное к стрихнину постсинаптическое торможение в ЦНС. Известно, что стрихнин не влияет на тормозные процессы, реализуемые через ГАМК. Ни стрихнин, ни пикротоксин, примененные в отдельности не вызывают полной активации мотонейронов спинного мозга. Совместное действие стрихнина и пикротоксина приводит к полному блоку механизма торможения мотонейронов и их перевозбуждению. Таким образом, по крайней мере, половина тормозных синапсов мотонейронов ГАМК-эргичны.

ГАМК-эргические механизмы пресинаптического торможения представлены в структурах, ответственных за обработку сенсорной информации: дорзальных рогах спинного мозга, клиновидном и нежном ядрах продолговатого мозга, латеральных колленчатых телах, хвостатом ядре, таламусе. Блокадой механизмов торможения в сенсорных структурах можно объяснить своеобразный эффект, наблюдаемый у отравленных - появление генерализованных судорог при стимуляции сенсорных систем.

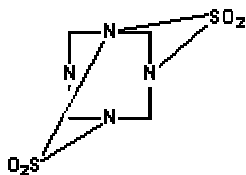
Поскольку ни ГАМК, ни её агонист мусцимол не влияют на связывание пикротоксина с ГАМК-рецептором, вероятно, токсикант не взаимодействует с сайтом, связывающим ГАМК.

Существуют данные о прямом действии пикротоксина на возбудимые нейрональные мембран. При этом вещество угнетает прохождение ионов хлора через ионный канал.

Пикротоксин практически не влияет на ферменты синтеза и разрушения ГАМК, хотя в некоторых исследованиях зарегистрировано подавление синтеза нейромедиатора в мозге отравленных лабораторных животных.

Тетраметилendisulfотетрамин (дисульфотетраадамантан, ДСТА).

ДСТА - смолоподобное вещество, которое первоначально, до обнаружения его высокой токсичности, использовали в мебельной промышленности для обработки древесины. Структура соединения представлена на рисунке 11.



**дисульфотетраадамантан
(ДСТА)**

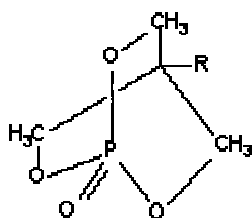
Рисунок 11. Структура молекулы дисульфотетраадамантана

Средняя смертельная доза токсиканта для грызунов составляет 0,2 - 0,4 мг/кг.

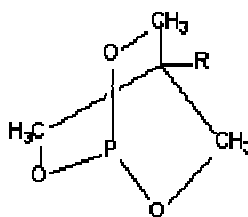
ДСТА является неконкурентным и обратимым антагонистом ГАМК. При системном введении экспериментальным животным ДСТА чувствительность части нейронов ствола головного мозга и клиновидного ядра к ГАМК и глицину существенно снижается. Поскольку вещество не влияет на характер связывания с рецептором ГАМК, бикукуллина и пикротоксин, полагают, что ДСТА действует через собственный сайт, вероятно ионофорный канал.

Бициклические фосфорорганические соединения (БЦФ)

В 1973 году Bellet и Casida исследовали группу бициклических фосфорорганических соединений, не обладающих антихолинэстеразной активностью, но вызывающих приступ судорог и гибель экспериментальных животных при введении в малых дозах. Структура БЦФ представлена на рисунке 12. Биологически активные вещества такого строения относятся к бициклофосфатам, бициклофосфотионатам и бициклофосфитам.



бициклофосфаты



бициклофосфиты

Рисунок 12. Структура молекул бициклических фосфорорганических соединений

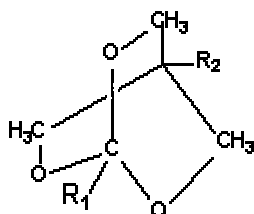
Все они твердые вещества, плохо растворимые в воде. Могут оказывать токсическое действие при подкожном, внутримышечном, внутривенном, а некоторые представители, и при ингаляционном способе введения (в форме аэрозоля).

Токсичность веществ существенно зависит от строения радикала R и может быть очень высокой для отдельных соединений. Так, ЛД₅₀ третбутилбициклофосфата для грызунов составляет около 50 мг/кг массы. Проявления судорожного синдрома одинаковы при действии всех токсикантов и характеризуются быстрым развитием приступов клонических судорог, постепенно перерастающих в клонико-тонические.

Токсикокинетика веществ не изучена.

Считается, что БЦФ - неконкурентные антагонисты ГАМК. Их токсичность обусловлена блокадой хлор-ионных ГАМК-рецепторов.

Близкие по структуре соединения бициклоортокарбоксилаты и бициклоортобензоаты (рисунок 13) также способны связываться с хлор-ионофорным сайтом ГАМК-рецептора и вызывать судороги.



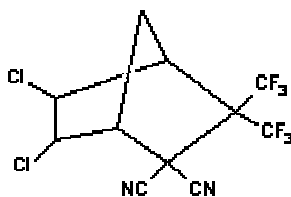
бициклоортокарбоксилаты

Рисунок 13. Структура молекул триоксибициклокарбоксилатов

Токсичность веществ зависит от строения радикалов R₁ и R₂ и для некоторых представителей, при внутрибрюшинном способе введения, ЛД₅₀ составляет около 1 мг/кг массы экспериментального животного (4-третбутил-1(3,4-дихлофенил)-бициклоортобензоат).

Норборнан

2,2-ди(трифторметил)-3,3-дициано-5,6-дихлорнорборнан (норборнан) - один из самых токсичных синтетических конвульсантов. Вещество синтезировано в начале 80-х годов Мидлтоном (США). Структура вещества представлена на рисунке 14.



норборнан

Рисунок 14. Структура молекулы 2,2-ди-(трифторметил)-3,3-дициано-5,6-дихлорнорборнана

Кристаллическое вещество, растворимое в воде, оказывает эффект при всех способах введения. Видовая чувствительность к норборнану выражена слабо и составляет в среднем 0,07 - 0,2 мг/кг.

Токсикокинетика вещества не изучена.

Интоксикация характеризуется растянутой во времени клиникой поражения, что отличает её от клиники поражения лабораторных животных другими ГАМК-литиками. Так, при подкожном введении крысам смертельной дозы норборнана, скрытый период составляет около 1,5 часов, судорожный - до 4 часов, продолжительность жизни отравленных животных - более 6 часов (для сравнения, аналогичные токсикодинамические характеристики пикротоксина составляют, соответственно: 0,5 часа; 0,5 часа и 1 час). Судорожный период характеризуется волнообразным течением. Приступы клонико-тонических судорог сменяются периодами ремиссии. Сенсорная стимуляция провоцирует формирование ризуса.

По существующим представлениям норборнан - избирательный блокатор хлор-ионофоров ГАМК_A-рецепторов. Фенобарбитал препятствует развитию судорог, вызываемых норборнаном. Производные бензодиазепаина - малоэффективны.

4.1.1.2.1.2. Ингибиторы синтеза ГАМК

К числу веществ, угнетающих синтез ГАМК, принадлежат, прежде всего, ингибиторы декарбоксилазы глутаминовой кислоты (ДГК), в частности: аллилглицин, 3-меркаптопропионовая кислота, кислород под повышенным давлением, соединения - антагонисты пиридоксальфосфата (коэнзим ДГК). Антагонисты

пиридоксальфосфата, в силу широкого использования их в практике, представляют особый интерес. Структура некоторых из них представлена на рисунке 15. По большей части это производные гидразина.

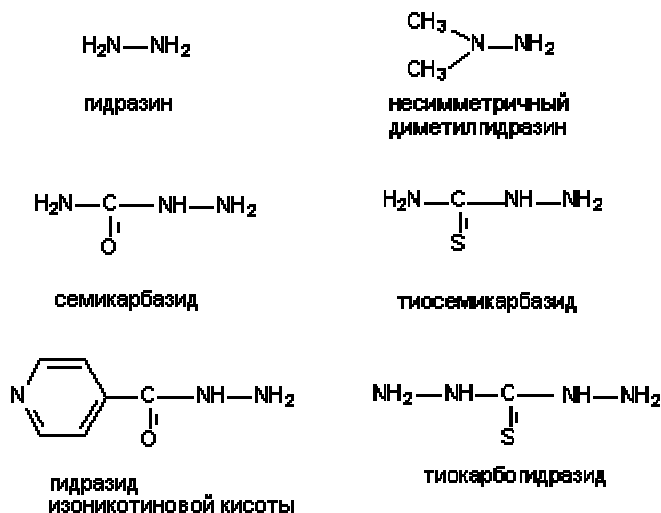


Рисунок 15. Структура некоторых веществ - антагонистов пиридоксальфосфата

При введении в дозах, близких к смертельным, вещества вызывают клонико-тонические судороги, приступы которых чередуются с периодами ремиссии. Судорогам предшествует скрытый период, продолжительность около полутора часов. Наиболее токсичным, из представленных на рисунке, веществом является тиокарбогидразид, наименее токсичным - изониазид. ЛД₅₀ несимметричного диметилгидразина для крыс при внутрибрюшинном введении составляет около 100 мг/кг.

Фенобарбитал, триметадон, а также пиридоксин подавляют судороги, вызываемые производными гидразина, как у человека, так и у лабораторных животных. Фенитоин практически не эффективен.

В основе токсического действия рассматриваемых веществ лежит способность взаимодействовать с пиридоксалем с образованием пиридоксальгидразонов, которые, являясь ингибиторами энзима пиридоксалькиназы как *in vitro*, так и *in vivo*. Это, в свою очередь, приводит к нарушению синтеза в цитоплазме нейронов пиридоксальфосфата - коэнзима многих ферментов, среди которых ДГК и трансаминаза ГАМК (ГАМК-Т). Таким образом, гидразин и его производные угнетают не только синтез, но и разрушение ГАМК, однако действие на синтетический процесс выражено сильнее и потому содержание ГАМК в ткани мозга снижается. Обычно судороги развиваются при снижении активности ДГК на 40 и более процентов. Тем не менее, в условиях эксперимента не удается проследить четкую зависимость между выраженностью проявлений интоксикации и степенью снижения уровня ГАМК в мозге. Отчасти это связано с тем, что подавление синтеза нейромедиатора в пресинаптических структурах маскируется его накоплением в глиальных клетках вследствие угнетения инактивации ГАМК-Т.

4.1.1.2.1.3. Вещества, блокирующие высвобождения ГАМК из нервных окончаний

С действием на пресинаптические ГАМК-эргические структуры связывают судорожную активность тетанотоксина.

Тетанотоксин продуцируется анаэробными бактериями *Clostridium tetani*. Это белок, состоящий из двух субъединиц с молекулярной массой 100000 и 50000 дальтон. Неустойчив при нагревании.

Летальная доза для грызунов - около $2 \cdot 10^{-6}$ мг/кг массы животного. Для людей смертельная однократная доза токсина составляет 0,2 - 0,3 мг.

После действия токсина скрытый период может продолжаться в течение нескольких суток. Вслед за общими проявлениями недомогания развивается тризм жевательной мускулатуры, а затем и других групп мышц. Смерть наступает от остановки дыхания в результате тонического сокращения дыхательной мускулатуры. У млекопитающих токсин также вызывает приступы тонических судорог. Установлено, что при этом блокируется выброс тормозных нейромедиаторов ГАМК и глицина пресинаптическими структурами.

При внутримышечном введении лабораторным животным, вещество с помощью механизма ретроградного аксонального тока по волокнам нервных стволов проникает в ЦНС. Имеются доказательства способности токсина к трансинаптической миграции. ГЭБ для тетанотоксина не проницаем.

Механизм действия вещества изучен недостаточно. В ряде исследований показано наличие в нервных окончаниях специфических сайтов связывания токсина. Эти структуры представляют собой ганглиозиды или углеводные комплексы, близкие по строению ганглиозидам. Сиаловая кислота, как полагают, - важнейший компонент этих сайтов. Тетанотоксин не связывается с ненейрональными клеточными мембранами и в этом одна из причин его высокой токсичности. Структурно рецептор тетанотоксина вероятно напоминает рецептор тиреотропина. Токсин способен связываться с препаратом мембран, приготовленных из ткани щитовидной железы, при этом тиреотропин блокирует это связывание. Вместе с тем *in vivo* гормон потенцирует связывание токсина мембранами нервных клеток.

4.1.1.2.2. Конвульсанты, действующие на глицинергические синапсы

Глицин является тормозным медиатором интернейронов спинного мозга и ствола головного мозга, регулирующих функциональную активность мотонейронов, локализуемых в этих анатомических образованиях. В других структурах ЦНС глицинергические синапсы не обнаружены, хотя свободная аминокислота определяется не только во всех отделах мозга, но и в цереброспинальной жидкости. При ионтофоретической аппликации глицин вызывает гиперполяризацию мембраны мотонейрона, формирует

ингибиторный постсинаптический потенциал (ИПСП). В основе феномена лежит увеличение проницаемости возбудимой мембраны для ионов хлора.

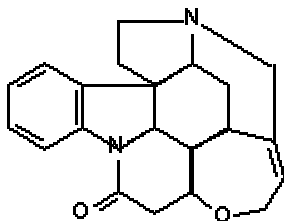
Прерывание нервного импульса в глицинергических синапсах осуществляется путем высокоафинного обратного захвата медиатора пресинаптическими нервными окончаниями и клетками глии. Обмен глицина в нейронах изучен недостаточно.

Антагонисты глицина в действии на глицинергический синапс обладают свойствами конвульсантов. Наиболее известным представителем группы является стрихнин.

Стрихнин

Стрихнин - бесцветное кристаллическое вещество, горькое на вкус. Растворяется в воде и органических растворителях. Это основной алкалоид, содержащийся в плодах растения, произрастающего в Индии - *Strychnos nuxvomica* (рвотные орехи). Препараты из рвотных орехов с 16 века и до нашего времени используют в Европе для борьбы с грызунами. Поэтому бытовые отравления стрихнином, особенно детей, встречаются здесь по сей день.

Структура стрихнина представлена на рисунке 16.



стрихнин

Рисунок 16. Структура молекулы стрихнина

Рвотные орехи содержат и другой алкалоид близкого стрихнину строения - бруцин (2,3-диметокси производное стрихнина). Вещество обладает значительно меньшей токсичностью (в 8 - 40 раз). В настоящее время известны и другие аналоги стрихнина, выделенные из растительного сырья и полусинтетического происхождения, но все они менее токсичны.

Стрихнин быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте и распределяется в организме. Содержание его в мозге при этом не выше содержания в других органах и тканях. Алкалоид метаболизирует при участии микросомальных энзимов печени. Основным метаболитом является 2-гидроксистрихнин. До 20% вещества выводится из организма с мочой в неизменённом состоянии.

Смертельной дозой для человека является 15 - 100 мг.

В малых дозах вещество обладает стимулирующим действием на ЦНС. При этом резко понижается порог сенсорного восприятия: слуха, обоняния, тактильного чувства и т.д. В более высоких дозах развивается возбуждение, появляется чувство страха, повышается тонус мускулатуры, особенно затылочной группы мышц (голову тянет назад). Любой раздражитель (звук, прикосновение) может спровоцировать развитие тонических судорог. Сознание пострадавший не утрачивает, поэтому судорожные приступы болезненны и субъективно тяжело переносятся отравленным.

При подкожном введении смертельной дозы алкалоида лабораторным животным (крысам) скрытый период составляет около 20 минут, судорожный - около 5 минут; на высоте судорожного приступа животное погибает.

Проявления и механизмы отравления стрихнином исследованы достаточно хорошо. Первые опыты были выполнены Шерингтоном еще в начале XX века. Установлено, что в спинном мозге, ретикулярной формации, ядре подъязычного нерва, вентромедиальном и латеральном отделах таламуса, клиновидном ядре и ядре Дейтерса, стрихнин является высоко селективным, конкурентным антагонистом глицина в действии последнего на рецептор. Показано также, что этот алкалоид является конкурентным антагонистом и других тормозных аминокислот: β -аланина и таурина. В отношении ГАМК-ергических структур активность стрихнина незначительна.

Судороги, вызываемые веществом, хорошо снимаются бензодиазепинами.

4.1.1.3. Вещества, нарушающие процессы биоэнергетики в мозге

Острое нарушение энергетического обмена в организме может сопровождаться судорожным синдромом. При тяжелом отравлении цианидами, сульфидами, молниеносной форме интоксикации СО судороги - характерное проявление токсического процесса. Механизмы явления до конца не выяснены. Возможно, судороги являются следствием патологической импульсации в ЦНС, развивающейся в результате перевозбуждения рецепторов *glomus caroticum* и аортального тела, под влиянием вызванного токсикантами быстрого снижения содержания макроэргов в этих специализированных регуляторных структурах. Возможно, конвульсии - это результат повреждения энергетических процессов непосредственно в нервных клетках и, как следствие, нарушения механизмов регуляции проницаемости возбудимых мембран для ионов, т.е. нервной возбудимости.

Важной, с практической и теоретической точек зрения, группой веществ, вызывающих судороги, путем нарушения энергетики мозга, являются фторорганические соединения.

Фторорганические соединения

Синтез фторорганических соединений стал в середине XX века необходимым элементом крупномасштабного производства пластмасс, хладагентов, пестицидов, красителей, смазочных материалов и т.д. С позиций общей токсикологии особый интерес представляют фторпроизводные карбоновых кислот, их эфиры (метилловый эфир фторуксусной кислоты и др.) и фторированные спирты (фторэтанол и др.).

Высокая токсичность некоторых фторорганических соединений стала поводом для их пристального изучения, в том числе и с военными целями. Эти соединения значительно различаются по токсичности. По данным С. Saunders (1957) решающим фактором, определяющим токсичность веществ, является их способность метаболизировать в организме с образованием фторуксусной кислоты. Именно это соединение ответственно за инициацию токсического процесса при поступлении в организм токсичных аналогов. Согласно данным автора, в ряду производных фторкарбоновых кислот ($F(CH_2)_nCOOR$) ядовиты лишь соединения с нечетным числом метиленовых групп в молекуле (n - нечетное).

Чередование токсичности в пределах гомологического ряда объяснимо с позиций теории β -окисления в организме жирных кислот, согласно которой последние ступенчато расщепляются, последовательно отделяя от исходной молекулы радикалы ацетата. Если n - четное число, то в результате такого превращения последним метаболитом оказывается относительно малотоксичная 3-фторпропионовая кислота (LD_{50} для мышей при внутривенном способе введения - 60 мг/кг), если n - нечетное - фторуксусная. Понятно, что наиболее токсичным представителем фторкарбоновых кислот является фторуксусная кислота.

Фторуксусная кислота синтезирована Свартом в 1900 году. Позже она была выделена из листьев Южноафриканского растения *Dichapetalum cymosum*. Несколько листьев этого растения достаточно для приготовления снадобья, способного умертвить животное.

Фторуксусная кислота - кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде. Токсичность её неодинакова для разных видов. Летальная доза для мышей составляет около 0,6 мг/кг, для овец - 0,7 мг/кг, для лошадей - 1,0 мг/кг, собак - 0,1 мг/кг. Средняя смертельная доза для человека определяется, как 2 - 5 мг/кг массы.

Вещество хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте и быстро распределяется в организме. Проницаемость через гематоэнцефалический барьер умеренная. Вещество медленно метаболизирует в организме. Метаболиты выделяются с мочой и через легкие. У грызунов интоксикация протекает очень бурно. Уже через несколько минут после введения смертельной дозы развиваются судороги и через минуту - полторы после их начала у отдельных особей регистрируют смерть. Если смертельный исход не наступал, нормализацию состояния отмечают уже через 20 минут после прекращения судорог.

У человека, в зависимости от принятой дозы, действие на организм проявляется спустя 0,5 - 6 часов. Появляются тошнота, боли в животе, развивается оглушенность, а затем и кома. На высоте интоксикации появляются приступы клонико-тонических судорог. Даже после прекращения приступов пострадавший может оставаться в тяжелом бессознательном состоянии в течение 6 дней. Смерть наступает от остановки дыхания.

В основе механизма токсического действия фторацетата лежит его способность в форме $FAcCoA$ проникать в митохондрии, и вступать в метаболические превращения в цикле Кребса. Установлено, что продукт превращения фторацетата в цикле - фторцитрат, ковалентно связывается с ферментом (транслоказой) внутренней мембраны митохондрий, участвующим в переносе цитрата через митохондриальную мембрану, нарушая этот процесс. Ко-фактором транслоказы является глутатион, который также связывается с фторцитратом. Известно, что синтез $AcCoA$ идет только при условии трансмембранного тока цитрата. Кроме того, на этапе превращения цитрата в цис-аконитат развивается блок цикла трикарбоновых кислот в результате конкурентного обратимого ингибирования токсикантом фермента аконитатгидратазы. Поскольку цитрат не облегчает течения интоксикации, этот механизм нарушения митохондриальных процессов не считают основным. В результате такого комплексного действия повреждаются митохондриальные процессы, лежащие в основе образования субстратов аэробной фазы дыхания - нарушается синтез макроэргов.

К числу средств, облегчающих течение острого отравления, относятся этанол, сульфат магния, бензодиазепины, вещества, содержащие SH-группы.

4.1.2. Седативно-гипнотический эффект. Наркотики

Седативно-гипнотический эффект развивается при действии на организм огромного числа химических веществ с различным строением и механизмами токсического действия. Острое отравление этими веществами чрезвычайно распространенное явление в наше время. Условно можно выделить две основные группы:

- агонисты тормозных нейромедиаторных систем мозга (в основном ГАМК-ергической);
- вещества с неспецифическим, так называемым "неэлектролитным" (по определению Н.В. Лазарева), действием на ЦНС.

К первой группе относятся седативные, снотворные средства, препараты для внутривенной анестезии, широко используемые в клинической практике. Основными представителями являются производные барбитуровой кислоты (фенобарбитал, пентабарбитал, секобарбитал и др.), бензодиазепины (диазепам, нитразепам, феназепам и др.), некоторые стероидные препараты (алфаксолон) и др. По существующим представлениям эти вещества избирательно взаимодействуют с бензодиазепиновым, барбитуратным и стероидным сайтами $GAМК_d$ рецепторов ЦНС, повышая их чувствительность к тормозному нейромедиатору. При передозировке веществ (преднамеренной или случайной) развивается интоксикация, в основе которой лежат хорошо изученные эффекты:

- седативный - подавление реакции организма на внешние раздражители, снижение уровня двигательной активности и мышления;
- снотворный - сон при интоксикациях может быть чрезвычайно глубоким и перерасти в кому;
- миорелаксирующий - полное расслабление скелетной мускулатуры отмечается лишь при тяжелых отравлениях;
- угнетение дыхания и сердечной деятельности - основная причина смерти при отравлении веществами; развивается в результате угнетения дыхательного и сосудо-двигательного центров.

Биологическая активность веществ, механизмы их действия широко освещены в фармакологической литературе.

4.1.2.1. Неэлектролиты

Представители группы "неэлектролитов" - многочисленные соединения разного химического строения, но с близкими физико-химическими свойствами. Это неполярные, хорошо растворимые в липидах вещества, инертные в химическом отношении, не диссоциирующие в воде с образованием ионов (отсюда и их название), при нормальных условиях представляющие собой летучие жидкости или газы. Основное свойство этих веществ - способность вызывать наркоз. Любой "неэлектролит" в той или иной степени обладает наркотической активностью. Некоторые представители группы широко используются в клинической практике, как общие ингаляционные анестетики (галотан, энфлюран, метоксифлюран и др.). Подавляющее же большинство "неэлектролитов" применяются в промышленности (многочисленные органические растворители и т.д.), сельском хозяйстве и для них наркотическая активность лишь один из механизмов токсического действия при случайных или преднамеренных интоксикациях. Один из известнейших неэлектролитов - этиловый спирт, в течение многих столетий используется человеком с целью вызвать транзиторную токсическую реакцию - опьянение.

Группы веществ, обладающих наркотической активностью и их отдельные представители, приведены в таблице 13.

Таблица 13. Химическая классификация веществ, обладающих наркотической активностью

1. Инертные газы:
 - ксенон
 - азот, криптон, аргон, неон - под повышенным давлением
2. Неорганические оксиды:
 - закись азота
3. Алифатические углеводороды:
 - метан, н-гексан
 - этилен, амилан
 - ацетилен, кротонилан
4. Циклические углеводороды:
 - циклопропан, циклобутан, бензол
 - ксилол
5. Эфиры:
 - диэтиловый, дивиниловый, этилвиниловый
6. Спирты:
 - метанол, этанол, пропанол
 - этиленгликоль
7. Галогенированные углеводороды:
 - четыреххлористый углерод, дихлорэтан, хлороформ, этилхлорид
 - галотан (CF_3CHBrCl), норфлюран ($\text{CF}_3\text{CH}_2\text{F}$)
8. Галогенированные эфиры:
 - метоксифлюран, энфлюран, флюроксен
9. Другие:
 - сероуглерод

Отравление "неэлектролитами" любого строения сопровождается быстрым развитием практически одинаковых эффектов. Это состояние, напоминающее опьянение, анальгезия, потеря сознания, подавление сенсорных и автономных рефлексов, кома, миорелаксация, угнетение дыхания и сердечной деятельности. Если интоксикация не приводит к гибели пострадавшего, практически все эффекты исчезают через непродолжительное время (часы) после прекращения действия токсикантов (особенно это справедливо при ингаляционном воздействии высоко летучих веществ). По выходе из тяжелого состояния наблюдается амнезия.

Очень часто в патологический процесс вовлекается не только ЦНС, но и другие органы и системы и не только в результате нарушения механизмов нейрорегуляции, но и вследствие "специфического" действия веществ или их метаболитов на печень, почки, сердечную мышцу, систему крови, легкие и т.д. Поэтому многие "неэлектролиты" в руководствах по токсикологии фигурируют как гепато-, нефро-, пулмонотоксиканты (см. соответствующие разделы). Наконец, на нервную систему, помимо седативно-гипнотического, некоторые "неэлектролиты" оказывают и иное действие, связанное с нарушением пластических и биоэнергетических процессов в нервной ткани, что приводит к развитию порой тяжелых энцефало- и нейропатий. Эти эффекты развиваются вслед за периодом неэлектролитного действия и составляют вторую, отсроченную, порой длительно текущую, фазу интоксикации.

За более чем полуторовековую историю изучения состояний наркоза, опьянения и т.д. для объяснения угнетающего действия на ЦНС (и вообще возбудимые ткани) веществ с совершенно различным строением, но обладающих общностью физико-химических свойств, были предложены самые разнообразные физиологические, биохимические и физико-химические механизмы. Некоторые гипотезы механизма действия веществ суммированы в таблице 14.

Таблица 14. Основные гипотезы механизма действия "неэлектролитов" (наркотиков)

Год	Краткое название	Авторы
1847	Растворение клеточного жира	von Bibra
1864	Экхимоз клеточных мембран	Harles
1866	Индурация клеточной стенки	Faure, Sansom

1873	Полукоагуляция протоплазмы	Bernard
1883	Корреляция с растворимостью в воде	Richet
1901	Корреляция с растворимостью в липидах	Meyer, Overton
1961	Стабилизация "льдоподобной" структуры тканевой воды	Pauling, Miller
1971	Гипотеза критического объема клеточных мембран	Lever et al
1990	Специфическое взаимодействие с белками-мишенями	Franks, Lieb

Установлено, что все рассматриваемые токсиканты действуют на клетки, изменяя свойства возбудимых мембран и электрон-транспортных мембран митохондрий. Наиболее чувствительными оказываются нейроны ЦНС.

В классических исследованиях Н. Meyera (1899), Overtona (1896), К. Meyera (1937), Н.В. Лазарева (1938) было установлено, что наркотическая активность веществ прямо пропорциональна величине их коэффициента распределения в среде масло/вода (степень гидрофобности молекулы) (смотри, в частности, данные, представленные на таблице 15). Это дало основание сформулировать правило Овертона-Мейера: "Наркоз развивается, когда любое химически инертное вещество накапливается в липидной клеточной мембране в определенной молярной концентрации". В качестве подтверждения справедливости этого правила к настоящему времени приведено огромное количество фактов.

Таблица 15. Характеристика наркотической активности некоторых химических веществ (в опытах на мышах)*

Вещество	Коэффициент (масло/вода)	Эффективная концентрация (объемные %)
метан	0,54	370
этилен	1,3	80
оксид азота	1,4	100
пентан	37	13,2
диэтиловый эфир	50	3,4
хлороформ	265	0,5

* По данным Meyer, Gottlier, 1926

Вместе с тем до настоящего времени не получены исчерпывающие ответы на вопросы, без которых не возможно говорить о раскрытии механизмов действия незлектролитов:

1. Какова степень избирательности действия наркотиков на различные отделы нервной системы; какие структуры наиболее чувствительны к веществам?

2. Какова степень избирательности действия наркотиков на различные части нейрона?

3. Какие механизмы синаптической передачи нервного импульса прежде всего нарушаются?

4. Каковы молекулярные механизмы действия незлектролитов?

Общая характеристика феномена содержится в современной версии теории "распределения" Овертона-Мейера, согласно которой биологический эффект (угнетение ЦНС) развивается, когда концентрация вещества в липидной мембране нейрона достигает 40 - 60 мМ (мМ/кг сухого веса мембраны). При этом постулируется, что молекулярные сайты действия любого анестетика представляют собой либо с липиды, формирующие клеточные мембраны, либо гидрофобные участки белковых молекул, являющихся компонентами этих биомембран. Такие представления позволяют объяснить, почему наркотическая активность веществ возрастает при понижении температуры тела человека или экспериментального животного (примерно на 8% на градус). Снижение температуры увеличивает растворимость веществ в гидрофобной фазе и, вследствие этого, требуется меньшее количество токсиканта, для того, чтобы создать в критической области необходимую его концентрацию.

Однако интимные механизмы взаимодействия незлектролитов с мембранами остаются не известными.

Так, как уже сказано, гидрофобными сайтами мембраны, которые взаимодействуют с незлектролитами, могут быть как липиды, так и участки белковых молекул. Белки непосредственно контролируют функции возбудимых мембран (ионные токи, высвобождение нейромедиаторов, свойства рецепторов), в то время как физико-химические свойства окружающих липидов, влияют на активность белков. Существует большое количество исследований, в которых доказывается значение действия "незлектролитов" именно на липиды. Липиды находясь в постоянном тепловом движении (флюидность мембраны). Показано, что растворение в биомембране незлектролита приводит к увеличению её текучести, что, по мнению авторов, должно сказываться на функциональных свойствах мембраны в целом.

Альтернативные представления связаны с объяснением действия веществ путем их взаимодействия с определенными белковыми молекулами. В качестве таких молекул предлагаются белки особого строения (rocket-proteins; модельный белок - люцифераза,) с неизученными пока функциями, белки-регуляторы состояния натриевых каналов, холинорецепторные протеины и рецепторы ГАМК.

Ни одно из представлений не является в настоящее время окончательно доказанным. Исследователи приходят к выводу, что, по-видимому, оба механизма (действие на липиды и действие на белки) играют свою роль, а относительная значимость обратимого взаимодействия анестетика с каждым из компонентов биологической мембраны вероятно неодинакова для токсикантов с различным строением и для различных биологических мембран.

Согласно гипотезе, "критического объема" - наркоз наступает тогда, когда объем возбудимых мембран нервных клеток увеличивается примерно на 0,4% вследствие накопления в них химически инертных молекул. Доказательством справедливости этой гипотезы являются данные, полученные при прямом измерении концентрации молекул токсиканта (например, летучего анестетика) в мембранах эритроцитов при воздействии эффективных доз. Эта гипотеза подтверждается и данными Миллера и Вильсона (1978), согласно которым при действии на экспериментальное животное, находящееся в состоянии наркоза, высокого барометрического давления (более 10 атмосфер) можно восстановить его сознание.

Барометрическое давление "уплотняет" мембраны, возвращая их к исходному объему. В развитии этого представления сформулирована гипотеза, согласно которой неэлектролит избирательно накапливается в ограниченном количестве сайтов мембран определенного строения и именно здесь реализует свое действие, при этом изменяется объем мембраны, свойства липидов и активность вполне конкретных белков.

В настоящее время хорошо известно, что общие анестетики (наркотики, "неэлектролиты") в действующих дозах угнетают передачу нервного импульса в синапсах, при этом проводимость по нервным волокнам не изменяется. Однако не ясно, какой из процессов, высвобождения нейромедиатора или его взаимодействие с рецептором постсинаптической мембраны, страдает в большей степени. Не ясно и какие синапсы, возбуждающие или тормозные более чувствительны к действию токсикантов. В некоторых исследованиях показана способность этанола устранять судороги, вызываемые пикротоксином и бикукуллином. Авторы (Hunt, 1983 и др.) утверждают, что эти и другие данные являются доказательством избирательности действия этилового спирта на ГАМК-рецепторы.

Электрофизиологические исследования головного мозга животных, подвергшихся действию неэлектролитов, позволили выявить структуры, наиболее чувствительные к токсикантам. Ими оказались образования вентробазального таламуса и нейроны V слоя коры головного мозга. Эти данные позволили предположить, что нейрофизиологическим механизмом седативно-гипнотического действия токсикантов является угнетение гипотетической кортико-таламической и ретикулярно-таламической нейронной петли, функция которой состоит в контроле реактивности вентробазальных клеток таламуса - основного релейного образования мозга, ответственного за восприятие сенсорных сигналов (Angel, 1984).

Таким образом, не смотря на многочисленные исследования, большое количество полученных данных, широкое использование феномена в медицинской практике, представления об интимных процессах, лежащих в основе седативно-гипнотического эффекта все еще требуют уточнения.

Бензол

Острое поражение бензолом приводит к нарушению функций ЦНС, проявляющемуся возбуждением, сменяющимся угнетением сознания, комой, смертью от остановки дыхания, сердечной деятельности и сосудистого коллапса. Бензол в полной мере проявляет свойства "неэлектролита". При действии вещества в концентрации 20000 ppm смерть развивается в течение нескольких минут. Кратковременное воздействие меньших доз (3000 - 10000 ppm) сопровождается эйфорией, головокружением, головной болью, тошнотой, рвотой, потерей сознания. Отмечается выраженная индивидуальная чувствительность к токсиканту. Важным фактором, определяющим тяжесть поражения, является продолжительность действия. Ингаляция паров бензола в концентрации 7500 ppm в течение 30 мин. представляют угрозу для жизни; - 1500 ppm в течение 60 мин. приводит к тяжелой интоксикации; - 50 - 150 ppm в течение 5 часов сопровождается головной болью и слабостью; - 25 ppm в течение 8 часов не вызывает отчетливых симптомов интоксикации.

При несмертельных формах поражения нормализация состояния проходит быстро и как правило является полной. Эффекты, развивающиеся в результате специфического действия бензола, проявляются позже (см. соответствующие разделы).

Для военных формирований, участвующих в ликвидации последствий аварий с заражением территории бензолом, рекомендуемые предельные уровни воздействия составляют: 1000 ppm - в течение 10 минут, 500 ppm - в течение 30 минут, 300 ppm - в течение часа.

Этиловый спирт

Этиловый спирт (этанол - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) - бесцветная прозрачная жидкость со специфическим запахом. Хорошо растворяется в воде и органических растворителях. Температура кипения $+78,4^\circ$. В основном используется, как сырье для производства ликеро-водочных изделий и в качестве органического растворителя. Основная причина острых отравлений - прием вещества внутрь с целью вызвать опьянение. Тяжесть интоксикации определяется концентрацией этилового спирта в крови отравленного (таблица 16).

Таблица 16. Концентрация этанола в крови человека и соответствующие проявления интоксикации

Концентрация этанола в крови (г/л)	Клинические проявления
0,20 - 0,99	Легкое изменение настроения, эйфория, прогрессирующее нарушение координации движений, расстройство сенсорных функций, нарушение поведения.
1,00 - 1,99	Отчетливые нарушения умственной активности, нарушение координации движений вплоть до атаксии
2,00 - 2,99	Углубление атаксии, тошнота, рвота, диплопия
3,00 - 3,99	Гипотермия, 1 стадия наркоза, по выходе из состояния - амнезия
4,00 - 7,00	Кома, нарушение дыхания, смерть

Этиловый спирт полностью абсорбируется из желудочно-кишечного тракта в течение 30 - 120 минут после приема. Абсорбция осуществляется путем простой диффузии. После распределения вещество накапливается преимущественно в водной фазе организма. Однократный прием 15 г этилового спирта мужчиной массой 70 кг приводит к появлению в его крови этанола в концентрации 0,3 г/л. Этиловый спирт легко преодолевает гистогематические барьеры, в том числе гематоэнцефалический и плацентарный.

Метаболизм этанола в основном осуществляется в печени. Под влиянием алкогольдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы, каталазы и цитохром-Р-450-зависимых оксидаз вещество превращается сначала в уксусный альдегид, а затем уксусную кислоту, утилизирующуюся клетками организма. Элиминация спирта осуществляется с постоянной скоростью 0,1 - 0,2 г/л крови в час, т.е. подчиняется кинетике нулевого порядка (нелинейная кинетика).

В малых дозах вещество вызывает появление транзиторной токсической реакции, известной как состояние опьянения. Даже легчайшие формы опьянения сопровождаются снижением скорости мышления, нарушением реакции на внешние раздражители, быстрым утомлением.

При действии в более высоких дозах развивается классический "неэлектролитный" эффект (см. выше). При крайне тяжелых формах отравления может наступить смерть от остановки дыхания и сердечной деятельности

Медицинские мероприятия при оказании помощи направлены на прекращение всасывания алкоголя из желудочно-кишечного тракта, ускорение его элиминации, нормализацию функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем, коррекцию метаболических нарушений. Антидотов этанола, как и других "неэлектролитов", не существует.

4.1.3. Психодислептический синдром. Психодислептики

Научное изучение психоактивных веществ началось лишь во второй половине XX века. Однако уже сейчас многие соединения широко используются в клинической практике, а некоторые - испытывались на предмет возможности их применения с военными целями, как боевых отравляющих веществ или диверсионных агентов.

Используемые в качестве медикаментов средства обычно подразделяют на следующие группы:

- нейролептики;
- антидепрессанты;
- психостимуляторы;
- транквилизаторы;
- ноотропные препараты.

В рекомендованных врачом дозах, эти вещества угнетают или активируют, в зависимости от свойств, восприятие, эмоции, память, обучение, мышление (ассоциативные процессы), сохраняя в целом адекватное отношение личности к окружающей действительности. В больших дозах в той или иной степени эти вещества могут провоцировать нарушение процессов восприятия, эмоций, памяти и т.д., то есть вызывать **психодислептический эффект, характеризующийся неадекватной реакцией личности на внешние раздражители**. Такой же способностью обладают наркотические анальгетики, некоторые средства для наркоза, алкоголь, а среди промышленных токсикантов, вещества, обладающие свойствами неэлектролитов (см. выше). Способность вызывать психодислептический эффект у разных веществ выражена неодинаково. В ряде случаев, при интоксикациях, формируются лишь минимальные проявления, развивающиеся при действии веществ в дозах, близких к вызывающим угнетение сознания или тяжелые соматические нарушения. Известны и соединения, для которых психодислептический эффект является основным в профиле их токсической активности, и развивается при действии в дозах, практически не вызывающих других токсических реакций. Изучение таких веществ имеет особое значение для понимания механизмов формирования нарушения психики при острых интоксикациях. Условно их иногда называют **психодислептиками, психотомиметиками, психогениками, психоделиками**, подчеркивая особую способность извращать функции высшей нервной деятельности.

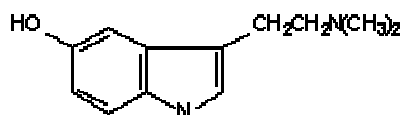
Итак, **психодислептики - это вещества, способные в минимальных дозах, в сотни - тысячи раз меньше тех, в которых они вызывают угнетение сознания или соматические расстройства, извращать психические процессы восприятия, эмоций, памяти, обучения, мышления, делать поведение неадекватным реальной ситуации**. На таблице 17 представлена классификация таких веществ.

Таблица 17. Химическая классификация психоделиков

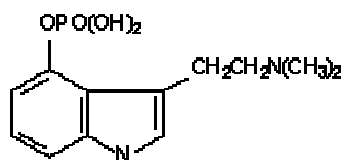
1. Производные триптамина
 - диметилтриптамин
 - буфотенин
 - псилоцин
 - псилоцибин
 - диэтиламид длизергиновой кислоты (ДЛК)
 - гармин
2. Фенилалкиламины
 - мескалин
 - 2,5-диметокси-4метиламфетамин
 - 2,5-диметокси-4этиламфетамин
 - триметоксифенизопропиламин
3. Пиперидилгликоляты
 - атропин
 - скополамин
 - хинукледирилбензилат
 - BZ
4. Разные
 - фенциклидин (сернил)
 - Δ^9 -тетрагидроканнабинол

Строение некоторых веществ, относящихся к этой группе, представлено на рисунке 17.

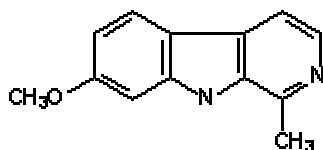
1. Производные триптамина



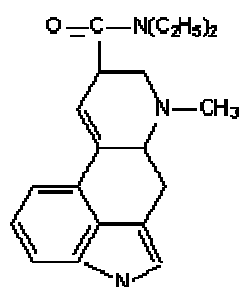
буфотенин (ЕД = 1 мг/кг)



псилоцибин (ЕД = 60 мкг/кг)

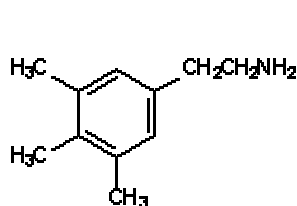


гармин (ЕД = 5 мг/кг)

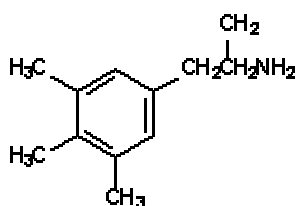


ДЛК (ЕД = 0,2 - 1 мкг/кг)

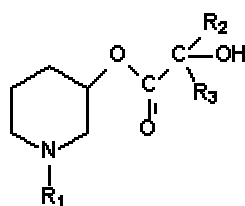
2. Производные фенилэтиламина



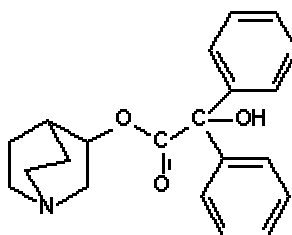
мескалин (ЕД = 0,7 - 3 мг/кг)

триметоксифенизопропиламин
(ЕД = 0.01 - 0,03 мг/кг)

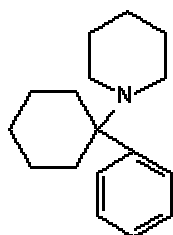
3. Пиперидилгликоляты



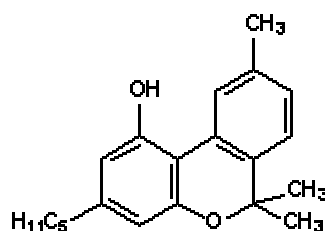
дитран (ЕД = 0,1 мг/кг)

хинукледирил бензилат
(ЕД = 100 мг мин/м³)

4. Разные



фенциклидин (ЕД = 0,1 мг/кг)



каннабинол

Рисунок 17. Структура некоторых химических веществ, обладающих психодислептической активностью. Психотоксический профиль психодислептиков неодинаков. При отравлении некоторыми из них доминирует изменение эмоционального статуса и некоторых тонких характеристик психической активности; другие - вызывают нарушения процессов восприятия с умеренным извращением ассоциативных процессов; третьи - формируют глубокое извращение психической активности, затрагивающие все её стороны.

Это дает основание выделить группы веществ в соответствии с особенностями формируемых ими токсических процессов:

1. Эйфориогены:

Δ-тетрагидроканнабинол, морфин, кокаин, этанол

2. Галлюциногены (иллюзиогены):

ДЛК, псилоцин, псилоцибин, буфотенин, мескалин

3. Делириогены:

атропин, скополамин, дитран, ВЗ, фенциклидин, фторацизин и др.

4.1.3.1. Эйфориогены

Определенный токсикологический интерес среди веществ этой группы представляет Δ-тетрагидроканнабинол. Это вещество выделяют из масла индийской конопли (*Cannabis indica*). Высушенный сок из листьев растения получил название гашиш. Наркоманы применяют гашиш (каннабинол) либо путем курения, либо - через рот. Ингаляционно вещество всасывается быстрее. Через ЖКТ 95% токсиканта проникает в кровь в течение 2 - 3 часов. Выведение из организма - двухфазный процесс: период полужизни в первой фазе составляет 30 минут, во второй - 36 - 48 часов. Эффективная доза каннабинола для человека равна 0,001 - 0,01 мг/кг.

В процессе развития транзиторной токсической реакции выделяют два периода действия. В первом, коротком, наблюдается эйфория, возбуждение, усиление восприятия. Во втором периоде (продолжительном) развивается сонливость, расслабление мускулатуры, сноподобное состояние, нарушение чувства времени, парестезии, нарушение концентрации внимания, нарушение речи, иллюзии.

Повторный прием приводит к развитию толерантности (в том числе к этанолу) и зависимости от наркотика. Синдром отмены характеризуется раздражительностью, беспокойством, нарушением сна, тремором, слюиванием, рвотой. Больные теряют в весе.

4.1.3.2. Галлюциногены

Галлюциногенами называют вещества, в клинике отравления которыми преобладают нарушения восприятия в форме иллюзий и галлюцинаций, при этом пострадавшие, как правило, не утрачивают контакт с окружающими. К числу галлюциногенов относятся некоторые производные триптамина и фенилэтиламина (см. выше), нарушающие проведение нервного импульса в центральных серотонинергических и катехоламинергических синапсах. Характерной особенностью интоксикации галлюциногенами является отсутствие амнезии на пережитые события.

Большинство галлюциногенов - вещества животного и растительного происхождения, используемые человеком с древних времён для самоотравления с ритуальными целями. Некоторые токсиканты и сегодня используются наркоманами. 3 - 4 ежедневных приема веществ приводит к развитию толерантности, которая однако быстро проходит. Перекрестная толерантность отмечается между мескалином, псилоцибином, ДЛК, некоторыми другими психодислептиками. Наиболее опасным из галлюциногенов считается синтетическое вещество - метилен диоксифетамин (МДА). Острые отравления МДА иногда заканчиваются смертью.

Классическим представителем группы является диэтиламид лизергиновой кислоты.

Диэтиламид лизергиновой кислоты (ДЛК)

Психодислептические свойства ДЛК стали известны человечеству 16 апреля 1943 года. Именно в этот день Гофман, работавший в лаборатории Штоля в Базеле, случайно принял ничтожное количество вещества внутрь. В результате развилась интоксикация, сопровождавшаяся нарушением психики. С этого началось экспериментальное изучение галлюциногенов. Долгое время ДЛК рассматривали, как потенциальное ОВ, диверсионный агент, и потому свойства его подверглись глубокому исследованию.

ДЛК - белый порошок без запаха, его соль (тартарат) хорошо растворима в воде. При приеме вещества внутрь в дозе 0,5 мг/кг развиваются тяжелые психозы. Выводящая из строя токсодоза, при ингаляционном воздействии, составляет 0,01 - 0,1 г мин/м³. Летальная доза для мышей - 50 мг/кг, для крыс - 15 мг/кг.

Вещество быстро всасывается в кровь. Максимальная концентрация в тканях отмечается через 10 - 20 минут после приема. В ткани мозга в этот момент содержится менее 1% от введенного количества. Через 3 часа 80% вещества определяется в стенках и содержимом кишечника, 3% - в печени, 8% - в костях.

У экспериментальных животных вещество нарушает спонтанное поведение и условно-рефлекторную деятельность. Аминазин ослабляет действие ДЛК, резерпин - усиливает.

Клиника отравления ДЛК у человека складывается из нарушения психики, соматических и вегетативных нарушений (таблица 18).

Таблица 18. Основные проявления интоксикации ДЛК у человека (Rothlin, 1957)

Психические нарушения	Нарушение двигательных функций	Вегетативные нарушения
-беспокойство -эмоциональная неустойчивость: эйфория, сменяющаяся депрессией -спутанность сознания -галлюцинации -деперсонализация	пирамидные и экстрапирамидные знаки: -атаксия -спастические состояния	а) мезодизэнцефальные эффекты: -мидриаз -тахикардия -гипергликемия -пиломоторные реакции б) бульбарные эффекты: -гипотония

-нарушение времени	чувства	-брадикардия -угнетение дыхания

Первые признаки отравления появляются через 15 - 60 мин после приема токсиканта. Симптомы достигают максимума через 2 - 5 часов. Общая продолжительность интоксикации составляет 12 - 24 часа. Возможны спонтанные рецидивы, а также затяжные психозы в результате воздействия галлюциногена в обычной дозе.

В основе токсических эффектов, развивающихся при интоксикации ДЛК, лежит способность блокировать центральные серотонинергические рецепторы. Однако далеко не все серотонинолитики обладают свойствами психодислептиков, поэтому этот механизм, вероятно не является единственным. Особенности действия ДЛК являются:

- способность угнетать спонтанную активность серотонинергических нейронов мозга и повышать уровень серотонина в ЦНС. 10 - 20 тысяч клеток (менее 0,1% нейронов), компактно залегающие в ядрах шва головного мозга, иннервируют все структуры ЦНС, особенно плотно - образования зрительного анализатора, лимбической системы, гипоталамуса. ДЛК не только блокирует проведение нервных импульсов в синапсах, образуемых окончаниями аксонов этих нейронов, но и подавляет их активность. В результате в нервных окончаниях накапливается нейромедиатор (в норме содержание серотонина в структурах мозга составляет 5 - 30 нг/мг белка);

- дофаминомиметическое действие. ДЛК активирует ДА-ергические нейроны нигростриальной, мезолимбической, тубероинфундибулярной систем мозга, при этом активируется процесс синтеза нейромедиатора, ускоряется его оборот в стриатуме, гипоталамусе, лимбических ядрах.

- слабое центральное холинолитическое действие.

Оказание помощи осуществляется назначением нейролептиков (трифтазин) и седативных препаратов (бензодиазепины). Специфические противоядия ДЛК отсутствуют.

4.1.3.3. Делириогены

Делирий способны вызывать все вещества, обладающие центральной М-холинолитической активностью. Наиболее токсичным представителем группы является вещество ВЗ - производное хинуклединилбензилата, находившееся на снабжении армий некоторых государств в качестве ОВ несмертельного действия.

Наряду с веществами, представленными на таблице 17, к числу делириогенов могут быть отнесены лекарственные препараты из группы нейролептиков (производные фенотиазина) и некоторые трициклические антидепрессанты (фторацизин и др.), которые в высоких дозах также проявляют свойства холинолитиков. Основными симптомами интоксикации являются:

- спутанность сознания;
- нарушение оценки своего состояния;
- эйфория;
- беспокойство;
- нарушение координации движений;
- галлюцинации;
- нарушение контакта с внешним миром;
- гиперрефлексия;
- гипертермия;
- судороги;
- кома;
- амнезия.

В зависимости от действующей дозы токсикантов можно выделить несколько степеней тяжести острого отравления (таблица 19).

Таблица 19. Степени тяжести и стадии течения интоксикаций атропиноподобными препаратами (Цит. по Крылову С.С. и соавт., 1999)

Степени тяжести	Основные проявления	Фазы течения
Субпсихотическая	Снижение работоспособности, ухудшение самочувствия	Не прослеживаются
Легкая	Оглушенность, маниакально- и галлюцинозоподобные комплексы	Астения с резидуальными состояниями
Средняя	"Субделирий"	Оглушенность - "субделирий" - критический сон - астения
Тяжелая	Делирий, делириозноаментивные состояния	Оглушенность - делирий - критический сон - астения (возможна энцефалопатия)
Сверхтяжелая	Кома, сопор	Кома - делирий (при недостаточности лечения) - астения

ВЗ

Табельное психотомиметическое ОВ армии США. Это твердое кристаллическое вещество без цвета и запаха, устойчивое в водном растворе. Планируемый способ применения - аэрозоль. Токсодоза для человека составляет около 100 мг мин/м³.

При поступлении во внутренние среды организма вещество легко проникает через гематоэнцефалический барьер. Так, уже через 3 минуты после внутривенного введения экспериментальным животным вещество достигает высоких концентраций во всех структурах мозга.

Динамика развития отравления ВЗ в относительно высокой дозе представлена на таблице 20.

Таблица 20. Развитие интоксикации ВЗ средней степени тяжести

1 - 4 час - головокружение, спутанность сознания, оцепенение, переходящее в ступор, сухость во рту, тахикардия, нарушение походки и речи, рвота, гипертермия
4 - 12 час - затруднение концентрации внимания, потеря логической связи мыслей, потеря связи с окружающей средой, галлюцинации, бред, агрессивное поведение, эмоциональная неустойчивость, нарушение координации движений, выраженная тахикардия
12 - 96 час - усиление симптоматики, психомоторное возбуждение, беспорядочное, непредсказуемое поведение; постепенное возвращение к нормальному состоянию в течение 2 - 4 дней; по выходе из состояния - амнезия

Помимо центральных эффектов, при отравлении ВЗ, отмечаются соматические, главным образом вегетативные, нарушения. При выраженных нарушениях сердечной деятельности, как правило в условиях повышенной температуры окружающего воздуха, при тяжелых интоксикациях возможны смертельные исходы.

ВЗ - мощный центральный холинолитик, прочно связывающийся с М-холинорецепторами мозга. Характер его распределения в ЦНС соответствует плотности М-холинорецепторов в структурах мозга: полосатое тело > кора больших полушарий > гиппокамп > гипоталамус > мозжечок. Нарушению проведения нервного импульса в холинэргических синапсах, развивающееся при отравлении, сопутствует существенное истощение запасов ацетилхолина в ЦНС (в норме: 10 - 30 нМ/г ткани; скорость оборота: 2 - 20 нМ/г мин). Поскольку в ЦНС существует тесное функционально-морфологическое взаимодействие нейронов, передающих нервный импульс с помощью различных нейромедиаторов, по-мимо нарушений холинэргических механизмов мозга при отравлении ВЗ, как и другими холинолитиками, отмечаются нарушения в системе норадренергической, дофаминергической, серотонинергической медиации. Специфическими противоядиями при отравлении холинолитиками вообще и ВЗ в частности являются обратимые ингибиторы холинэстеразы, способные проникать через гематоэнцефалический барьер, такие как галантамин (0,5% - 2 мл), физостигмин (0,05% - 2 мл), аминостигмин и др. Возможно назначение симптоматических средств (бензодиазепины). Назначение нейролептиков, особенно фенотиазинового ряда, противопоказано.

Фенциклидин

Это вещество, один из аналогов катамин, впервые синтезировано в 50-е годы, как средство для наркоза. В процессе испытаний была выявлена его высокая психодислептическая активность. При приеме вещества в количестве 5 мг развивается состояние, напоминающее опьянение, появляются галлюцинации, нарушается чувство времени. Проявления интоксикации фенциклидином представлены на таблице 21.

Таблица 21. Проявления интоксикации фенциклидином

5 - 10 мг - атаксия, нистагм, деперсонализация, нарушение чувства времени, ухудшение настроения, галлюцинации, парестезии, тошнота, рвота. Начало: 1 - 2 часа; продолжительность: 4 - 8 часов
10 - 20 мг - ступор, гиперрефлексия, гипертензия, стереотипии, нистагм, миоз. Начало: 0,5 - 1 час; продолжительность: 8 - 24 часа
более 50 мг - нистагм, гипотензия, брадикардия, затруднение дыхания, судорожные приступы, кома. Продолжительность: до 4 суток
более 100 мг - гипертермический криз, угнетение дыхания, смерть в течение 3 - 10 суток от остановки дыхания

В основе токсического действия фенциклидина лежит способность блокировать проведение нервных импульсов в глутаматергических синапсах центральной нервной системы. Однако при действии больших доз токсиканта отмечаются нарушения со стороны и других нейромедиаторных систем.

С целью оказания помощи при интоксикации средней степени тяжести рекомендуют назначение диазепам. При тяжелых интоксикациях - симптоматическая терапия.

4.1.4. Нарушение нервной регуляции периферических органов и систем

Важнейшим проявлением действия нейротоксикантов является нарушение механизмов нервной регуляции жизненно важных органов и систем: сердечно-сосудистой, дыхательной, двигательной и др. Эти нарушения прослеживаются при формировании любого острого нейротоксического процесса. Интоксикация конвульсантами, наркотиками, психодислептиками и др. как правило, сопровождается изменением частоты и глубины дыхания, нарушениями сердечного ритма и артериального давления, многочисленными вегетативными реакциями и т.д. Именно эти эффекты и становятся причиной гибели пострадавших при тяжелых отравлениях рассмотренными выше токсикантами (остановка дыхания, сердечной деятельности).

Существуют вещества, в основе действия которых на организм лежит способность "избирательно" нарушать периферические механизмы нервной регуляции органов и систем. К числу таковых относятся токсиканты, не проникающие (или плохо проникающие) через гематоэнцефалический барьер, но влияющие на передачу импульсов с нервной клетки на иннервируемый орган и повреждающие проведение сигнала по возбудимым мембранам нервных волокон, мышечной и железистой ткани.

4.1.4.1. Нарушение механизмов синаптической передачи

Все вещества, нарушающие передачу нервных импульсов в холинергических и катехоламинергических синапсах периферического отдела нервной системы, вызывают рассматриваемые эффекты. Свойства большинства этих веществ хорошо известны из курса фармакологии. К числу наиболее токсичных из известных токсикантов относятся некоторые карбаматы (см. выше), нейротоксины, выделенные из яда змей, и ботулотоксин.

Яды змей

Яды змей, относящихся к семейству Elapidae (тигровая змея, тайпан, морские змеи), содержат нейротоксины, избирательно действующие на механизмы передачи нервного импульса в холинергических нервно-мышечных синапсах (таблица 22).

Таблица 22. Свойства основных нейротоксинов ядов змей

Токсин	Молекулярная масса	Масса субъединиц	ЛД ₅₀ для мышей (мкг/г)
β-бунгаротоксин	20500	13500+7000	0,025
Кротоксин	22000	14000+8000	0,05
Нотексин	13600	13600	0,025
Тайпоксин	46000	18000+14000+13000	0,002

(По Howard B.D., 1982)

Все перечисленные в таблице токсины проявляют активность фосфолипаз A₂, причем каталитический центр энзимов является функционально значимым для реализации их токсического действия. Интересно отметить, что большинство известных фосфолипаз A₂, выделяемых из других источников (поджелудочной железы млекопитающих, пчелиного яда и т.д.), не смотря на высокую специфическую энзиматическую активность, не обладают нейротоксичностью.

Нейротоксические фосфолипазы змеиных ядов угнетают спонтанное и вызванное возбуждением высвобождение ацетилхолина нервными окончаниями мотонейронов, а также некоторыми холинергическими нейронами вегетативной нервной системы. Токсины не проникают через гематоэнцефалический барьер и потому их эффект реализуется лишь на периферии, главным образом в нервно-мышечных синапсах.

Основные клинические признаки отравлений, обусловленные действием нейротоксинов при укусах змей, включают: миалгию при движении, птоз, паралич языкоглоточного нерва, парез конечностей, нарушение сердечной деятельности, гиперкалиемию, паралич дыхательной мускулатуры.

Блок проведения нервного импульса в нервно-мышечных синапсах развивается в три стадии. В течение первых 5 - 10 минут после воздействия отмечается уменьшение количества ацетилхолина, высвобождаемого при возбуждении нервного волокна. В последующие 30 - 60 минут, при активации нейрона, регистрируется повышенный выброс нейромедиатора. Затем, в течение 60 - 120 минут отмечается постепенное снижение высвобождения ацетилхолина до полного прекращения. В тех случаях, когда в эксперименте используют токсины, фосфолипазная активность которых угнетена химическими модификаторами, удается воспроизвести только первую стадию токсического действия ядов.

Клинически продолжительность латентного периода от момента введения токсина до развития эффекта составляет, как правило, не менее 60 минут. Увеличение дозы вводимого вещества не приводит к уменьшению этого времени. В латентном периоде токсины необратимо связываются с нервными терминалиями. Попытка в условиях эксперимента отмыть токсин от нервных окончаний биопрепарата не приводит к восстановлению способности проводить нервный импульс.

В паралитической стадии интоксикации с помощью электронно-микроскопических исследований удается выявить существенные нарушения структуры пресинаптических отделов холинергических синапсов. Отмечается набухание митохондрий и их разрушение, значительное уменьшение числа синаптических везикул, уплотнение аксоплазмы.

Механизм действия токсинов до конца не выяснен. Полагают, что нейротоксические фосфолипазы специфически связываются с определенными сайтами пресинаптической мембраны, а затем вызывают неспецифическое разрушение фосфолипидов мембраны вокруг сайта, инактивируя тем самым важные в функциональном плане структуры синапса. Опыты, выполненные на изолированных синаптических узлах, указывают, что одной из таких структур может являться система эффлюкса Ca²⁺ в клетку и клеточные органеллы или каналы для других ионов, в частности K⁺. Полагают также, что для реализации токсического действия токсины должны попасть внутрь нервных терминалий с помощью механизма специфического эндоцитоза, где и вызывают повреждение синапсом и митохондрией, нормальная функциональная активность которых необходима для экзоцитоза ацетилхолина. Поскольку нетоксичные фосфолипазы A₂ неспецифически связываются с фосфолипидами любых, в том числе и несинаптических, биологических мембран, они не обладают свойствами нейротоксикантов.

Различные токсины, вероятно, связываются с различными сайтами пресинаптических структур. Так, одновременная инкубация биопрепарата с двумя нейротоксическими фосфолипазами A₂ вызывает блок проведения импульса со значительно большей скоростью, чем с двойной дозой каждого из нейротоксинов в отдельности.

За исключением β-бунгаротоксина рассматриваемые нейротоксины обладают также миотоксическим действием на скелетную мускулатуру млекопитающих. Внутримышечное введение веществ сопровождается острой некротической миопатией в области инъекции.

В настоящее время бунгаротоксин, кротоксин, тайпоксин широко используются в практике лабораторных исследований физиологии и биохимии синапсов.

Ботулотоксин

Ботулотоксин - белок, продуцируемый микроорганизмами *Clostridium botulinum*. Эти бактерии развиваются в белковой среде (в анаэробных условиях) и порой являются причиной массовых пищевых

отравлений, при использовании испорченных консервов, копченостей, грибов и т.д. (ботулизм). Ботулотоксин - табельное отравляющее вещество армии США.

В настоящее время известно более 8 серологических типов токсина: А, В, С, D, Е, F и т.д., близких по структуре и токсической активности. Ботулотоксин представляет собой протеины с молекулярной массой 150000, состоящие из двух субъединиц (МВ 100000 и 50000), не обладающие протеолитической, фосфолипазной или иной ферментативной активностью. Токсины выделены в кристаллической форме. В водных растворах частично гидролизуются, но токсичность раствора при этом не теряется. Вещество устойчиво к кипячению в течение часа.

Смертельная доза токсина для человека составляет около 5 нг/кг массы.

Вещество проникает в организм через желудочно-кишечный тракт с зараженной водой и пищей, а при применении его в виде аэрозоля и через органы дыхания.

При исследовании судьбы токсиканта в организме установлено, что он избирательно захватывается нервными терминалиями холинэргических волокон; часть введенного токсина путем ретроградного аксонального тока транспортируется в тела нервных клеток. Об этом свидетельствует, в частности, высокое содержание J^{125} в ипсилатеральных (но не контралатеральных) полусегментах спинного мозга экспериментальных животных после введения им яда, меченого изотопом.

Клиника ботулизма развивается спустя несколько часов после действия яда (до 36). Первые симптомы интоксикации, это сочетание вегетативных реакций (тошнота, рвота, слюнотечение) и признаков общего недомогания (головная боль, головокружение, боли в конечностях). Позже нарушается функция слюнных и потовых желез, аккомодация органа зрения, расширяются зрачки. Основным проявлением интоксикации является постепенно развивающийся паралич поперечно-полосатой мускулатуры. Процесс начинается с глазодвигательной группы мышц. Ранним признаком отравления является диплопия. Позже присоединяется паралич мышц глотки, пищевода (нарушение глотания) и других мышечных групп. Токсический процесс постепенно нарастает. Иногда лишь на 10 сутки и в более поздние сроки может наступить смерть от паралича дыхательной мускулатуры и асфиксии. Летальность при отравлении ботулотоксином составляет от 15 до 30%, а при несвоевременном оказании помощи (введение антиботулинической сыворотки, перевод пострадавшего на искусственную вентиляцию легких и т.д.) может достигать 90%.

Ботулотоксин избирательно блокирует высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах. В опытах *in vitro* установлено, что действие ботулотоксина приводит к угнетению как спонтанного, так и вызванного выброса нейромедиатора. Чувствительность постсинаптического рецептора к ацетилхолину не изменяется. Блокада передачи сигнала не сопровождается вмешательством токсиканта в процессы синтеза и хранения ацетилхолина. При исследованиях *in vitro* спонтанная и индуцируемая активностью концевой пластинки нейрона снижается на 90% в течение 60 - 90 минут, после добавления в инкубационную среду токсина в концентрации 10^{-8} М. По расчетам, для блокады синапса достаточно 10 молекул токсина. Чем выше нервная активность, тем быстрее происходит развитие интоксикации. Морфологические изменения в пораженных синапсах не выявляются методами световой и электронной микроскопии.

Действие вещества продолжительно, до нескольких недель, и потому характер взаимодействия токсина с пресинаптическими структурами-мишенями можно рассматривать как необратимое. Полагают, что восстановление нормальной иннервации мышц происходит в результате формирования новых синаптических контактов.

Периоду клинических проявлений предшествует скрытый период, во время которого и происходит связывание токсиканта с нервными окончаниями. Выделяют четыре периода действия токсина на синапс:

- связывание с плазматической мембраной холинэргических нервных окончаний;
- интернализации токсина путем эндоцитоза;
- проникновение в цитозоль синапса при участии рН-зависимой транслоказы;
- внутриклеточное расщепление токсина под влиянием метал-зависимых эндопротеаз с высвобождением действующей части белковой молекулы. Для некоторых серотипов токсина эти молекулы идентифицированы и обозначены как: SNAP-25 (серотип А), синаптобrevин (серотип В), синтаксин (серотип С).

Молекулярный механизм действия токсина до настоящего времени не выяснен. Вероятно, в основе эффекта лежит нарушение токсином механизма взаимодействия синаптических везикул, в которых депонирован ацетилхолин, с аксолемой, - необходимый этап процесса Ca^{2+} -зависимого экзоцитоза медиатора. Электрофизиологические исследования показывают, что в отличие от нормальной реакции нервно-мышечного синапса на повышение содержания кальция в инкубационной среде (дозо-зависимый выброс нейромедиатора), увеличение концентрации экстрацеллюлярного кальция с 2 до 16 мМ не приводит к усилению выброса ацетилхолина волокном, обработанным ботулотоксином. Совместное введение в инкубат Ca^{2+} (4 мМ и выше) и ионофора усиливает выброс ацетилхолина из нервных окончаний обработанных токсином.

Как *in vitro*, так и *in vivo* нервную передачу в синапсах временно нормализует 4-аминопиридин. При введении летальной дозы токсина экспериментальному животному, последующее назначение 4-аминопиридина отчасти восстанавливает двигательную активность животного на 1 - 2 часа. К сожалению, из-за высокой токсичности и кратковременности эффекта, 4-аминопиридин не может рассматриваться как эффективное противоядие.

4.1.4.2. Блокаторы ионных каналов

В строгом смысле слова вещества этой группы не относятся к "чистым" нейротоксикантам, поскольку, блокируя ионные каналы, действуют на возбудимые мембраны всех типов клеток организма: нервных, мышечных, железистых. Порой не возможно решить, поражение какой из структур является ведущим в патогенезе острой интоксикации. Тем не менее, внешние признаки тяжелого поражения очень напоминают действие кураре, традиционно относимого к группе нейротоксикантов. И хотя механизм действия веществ

совершенно иной, представляется целесообразным рассмотреть их свойства в данном разделе. Достаточно хорошо изученными представителями группы являются сакситоксин и тетродотоксин.

Сакситоксин

В 1957 году Schantz et al. удалось выделить и изучить свойства так называемого "паралитического яда моллюсков" - одного из наиболее токсичных веществ небелковой природы. По названию одного из моллюсков, употребляемых в пищу, из ткани которого токсикант также выделялся (*Saxidomus*), вещество получило название сакситоксин. Позже было установлено, что в организм моллюсков сакситоксин поступает с одноклеточными животными вида *Coryaulax catenella*, являющимися для них продуктом питания. Целый ряд моллюсков, съедобных в обычных условиях, в случае массового размножения этих простейших, в больших количествах накапливают в своих тканях токсин, который для них практически безвреден, становясь ядовитыми.

Сине-зелёные водоросли пресноводных водоемов также синтезируют сакситоксин. Имели место случаи отравления скота водой, зараженной этими водорослями.

Пути биосинтеза сакситоксина в организме одноклеточных не изучены. Установлено, что количество вырабатываемого вещества колеблется в очень широких пределах и зависит от географического региона, времени года и других условий.

Сакситоксин (МВ - 372) - аморфный, хорошо растворимый в воде, спирте, метаноле, ацетоне порошок. В 60х - 70х годах свойства сакситоксина активно изучались военным ведомством США. Химическое строение представлено на рисунке 18. Молекулы сакситоксина, выделенные из разных источников, не полностью идентичны.

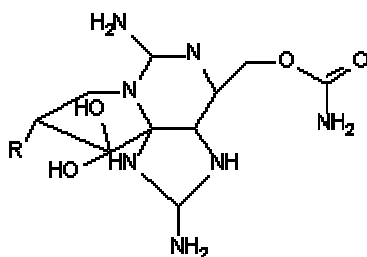


Рисунок 18. Структура молекулы сакситоксина

Смертельная доза сакситоксина для человека составляет по разным данным 0,004 - 0,01 мг/кг. Токсичность для мышей при внутрибрюшинном способе введения - около 9 мкг/кг (с регистрацией гибели в течение 30 минут). При назначении вещества через рот смертельная доза - 260 мкг/кг.

Вещество быстро абсорбируется в кишечнике и столь же быстро выводится из организма с мочой. Детально токсикокинетика токсиканта не изучена. Дискуссионным остается вопрос о способности вещества проникать через гематоэнцефалический барьер.

Выделяют три варианта течения отравления сакситоксином: гастро-энтеральный, аллергический, паралитический. Аллергическая (эритематозная) форма отравления появляется у отдельных лиц с повышенной чувствительностью к токсину. Типичной является паралитическая форма.

Обычно симптомы появляются в течение 30 минут после поступления вещества в организм. Первыми признаками поражения являются парестезии в области рта, губ, языка, десен, распространяющиеся на область шеи, конечности. Ощущение покалывания, жжения сменяются онемением. Позже присоединяется атаксия, возникает ощущение невесомости тела. При тяжелой интоксикации появляются признаки бульбарных нарушений: затруднение глотания, речи (иногда - афония), изменение ширины зрачка, временное нарушение зрения. Частыми проявлениями отравления являются: понос, рвота, тошнота, потливость, головная боль, слабость мускулатуры, тахикардия, чувство жажды, саливация, анурия, боли в животе. Паралич двигательной мускулатуры, начавшись в области конечностей, распространяется на другие группы мышц. Смерть наступает через 1 - 24 часа от паралича дыхательной мускулатуры и асфиксии.

Специфических средств терапии нет. Целесообразно перевести пострадавшего на искусственную вентиляцию легких. В случае сохранения жизни прогноз благоприятный: выздоровление бывает быстрым и полным.

Место токсического действия сакситоксина - возбудимые мембраны нервных клеток и миоцитов, причем до конца не определено, какие из структур являются более чувствительными. В опытах на анестезированных кошках показано, что при введении вещества в смертельной дозе, проведение нервных импульсов по диафрагмальному нерву регистрируются, когда электромиограмма диафрагмальной мышцы уже безмолвствует. Развивающееся снижение артериального давления связывают с блокадой проведения нервных импульсов по симпатическим нервным волокнам, параличом гладкомышечных клеток сосудистой стенки. Сердечная мышца вовлекается в процесс при введении токсиканта лабораторным животным в дозе 7 мкг/кг.

Токсический эффект на возбудимые мембраны сакситоксин оказывает только при экстрацеллюлярной аппликации. Установлено, что вещество образует обратимый комплекс с белками электровозбудимых натриевых каналов мембран, полностью блокируя при этом вход иона внутрь клетки. Тем самым подавляется генерация потенциала действия. Полагают, что взаимодействие осуществляется за счет группы гуанидина, содержащейся в структуре токсиканта.

Тетродотоксин

Тетродотоксин обнаружен в тканях целого ряда живых существ, среди которых рыбы (более 70 видов, в том числе семейства Tetrodontidae - четырехзубообразные), лягушки (3 вида), моллюски (1 вид). В Японии,

где представитель четырехзубообразных, рыба Фугу, является деликатесом, десятки людей ежегодно отравляются в результате неумелого приготовления блюда.

Вещество выделено в чистом виде, структура его изучена (рисунок 19). Это бесцветный порошок хорошо растворимый в воде. Раствор стабилен при комнатной температуре. Молекулярная масса - 319,3.

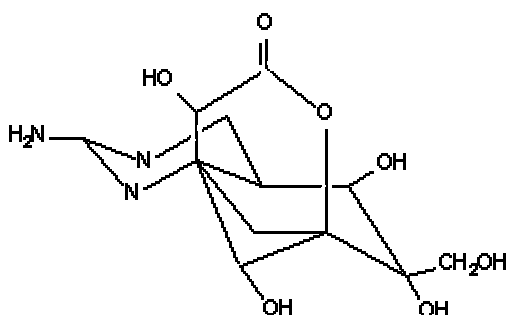


Рисунок 19. Структура молекулы тетродотоксина

Токсичность вещества для белых мышей при внутрибрюшинном способе введения около 10 мкг/кг массы. Доза в 5 мкг/кг (подкожно) вызывает у собак рвоту и нарушение дыхания, а дозы более 6 мкг/кг в течение час приводят к гибели в результате прекращения дыхания и асфиксии.

Независимо от способа поступления в организм симптомы отравления практически одинаковы. Спустя 10 - 45 минут появляется тошнота, рвота, боли в животе, понос, парестезии губ, языка, слизистой полости рта. Покалывание, ощущение жжения кожи конечностей - ранние признаки развивающегося паралича. Позже развивается бледность кожных покровов, беспокойство, общая слабость, онемение конечностей. Зрачок сначала сужен, затем расширяется; в тяжелых случаях взгляд фиксирован, зрачковый и корнеальный рефлексы отсутствуют, нарастают брадикардия и гипотензия, отмечаются гиперсаливация, профузная потливость, понижение температуры тела. Дыхание учащается, становится поверхностным, развивается цианоз губ и конечностей. Иногда на коже и слизистых образуются пузыри. Двигательные расстройства проявляются все отчетливее: появляются подергивания отдельных групп мышц, тремор, координация движений нарушается. Относительно рано в процесс вовлекаются мышцы гортани и глотки, развивается афония. Сознание, как правило, сохраняется весь период интоксикации. Постепенно развивающийся паралич охватывает все большие группы мышц. Смерть наступает от паралича дыхательной мускулатуры и асфиксии в течение 6 - 24 часов от начала интоксикации. Если больной выживает в течение последующих суток, наступает практически полная нормализация состояния, как правило, без отдаленных последствий. Специфических противоядий нет. Рекомендуется перевод пострадавшего на искусственное дыхание.

Исчерпывающих данных о причинах развивающихся эффектов нет. Так, по мнению одних исследователей остановка дыхания является следствием действия токсина на нейроны дыхательного центра, другие полагают, что основным является нарушение проведения нервного импульса по дыхательным нервам или возбудимости дыхательных мышц. Вероятно, последнее представление справедливо, поскольку электровозбудимость диафрагмы блокируется меньшими дозами токсиканта, чем проведение нервного импульса по диафрагмальному нерву.

Показано, что гипотензивное действие тетродотоксина может быть обусловлено прогрессирующим параличом мышц кровеносных сосудов и нарушением распространения нервного импульса по вазомоторным нервам.

Многие явления (атаксия, головокружение, нарушение речи) могут быть связаны с действием вещества на нейроны ЦНС.

Тетродотоксин, как и сакситоксин, оказывает избирательное действие на возбудимые мембраны нервов и мышц. Вещество действует только с внешней стороны клетки, полностью блокируя проникновение ионов Na^+ внутрь клетки, что совершенно необходимо для формирования потенциала действия. Полагают, что одна молекула тетродотоксина полностью блокирует один ионный канал. Взаимодействие токсина с белками ионных каналов обратимо. Токсикант *in vitro* может быть удален с поверхности возбудимой мембраны простым отмыванием препарата.

4.2. Хронические нейротоксические процессы. Токсические нейропатии

Хронические процессы, развивающиеся со стороны нервной системы в результате острого, подострого или хронического воздействия токсикантов можно классифицировать в соответствии с повреждаемыми элементами нервной системы, характером повреждения нервных образований и механизмами, лежащими в основе патологии. Наиболее удобна морфологическая классификация (таблица 23).

Таблица 23. Характеристика хронических нейротоксических процессов

Тип	Поражаемая структура	Патологическая реакция	Признаки	Примеры
1.	Тела нервных клеток	Гибель нервных клеток (токсическая нейронопатия)	Быстрое начало, часто исключительно нарушение чувствительности	Метилртуть Адриамицин Талий Тетраэтил-свинец
2.	Миелиновая оболочка	Сегментарная демиелинизация (токсическая)	Быстрое начало, преимущественно моторные нарушения	Теллур Триэтил-олово Гексахлор-

		миелинопатия)		фенол
3.	Аксон	Аксональная дегенерация (дистальная аксонопатия)	Постепенное начало, моторно-сесорные нарушения, симптомы "носков и перчаток"	ТОКФ Акриламид Ароматические углеводороды

Частыми формами хронического процесса являются токсические нейропатии. Однако весьма ограниченное количество веществ избирательно действует на периферические отделы нервной системы. Большинство повреждает и структуры ЦНС, поэтому токсическим нейропатиям не редко сопутствуют признаки энцефалопатии.

В основе хронических процессов, как правило, лежат нарушения пластического обмена в нервной системе, сопровождающиеся её структурно-морфологическими изменениями. Механизмы действия токсикантов, благодаря которым они вызывают нарушение пластического обмена, многообразны и малоизучены. Многообразие механизмов отражается в особенностях течения заболеваний. Так, при хронической интоксикации свинцом, в клинике преобладают признаки моторных нарушений. Трихлорэтилен вызывает поражение тройничного и лицевого нервов, сочетающееся с церебральной патологией. Хроническое отравление мышьяком сопровождается полиневропатией с выраженным болевым синдромом. Фосфорорганические инсектициды могут вызвать отсроченную нейропатию (скрытый период: 1 - 3 недели и более).

Однако, не смотря на различия механизмов поражения, и целый ряд особенностей течения патологии, проявления токсического процесса как правило близки и в большей степени зависят не от механизма действия токсикантов, а от анатомического образования, на которое они подействовали. Очень часто процесс прогрессирует и после прекращения действия токсиканта.

Токсические нейропатии проявляются сегментарной демиелинизацией (токсической миелинопатией) и аксональной дегенерацией (токсической дистальной аксонопатией) (таблицы 23).

Основные признаки этих форм патологии представлены на таблице 24.

Таблица 24. Признаки периферических нейропатий

Сегментарная демиелинизация	Аксональная дегенерация
- деструкция миелиновой оболочки; - вторичное поражение нервного волокна; - снижение скорости проведения нервного импульса; - возможна относительно быстрая полная регенерация	- дистальная дегенерация аксона; - вторичная дегенерация миелиновой оболочки; - на ранних стадиях скорость проведения нервного импульса в пределах нормы, но снижена амплитуда потенциала действия; - денервация мышечных групп; - восстановление медленное и неполное

Очень многие токсиканты вызывают смешанную форму хронического нейротоксического процесса.

4.2.1. Токсическая сегментарная миелинопатия

Миелинообразующие клетки весьма уязвимы для действия токсикантов, поскольку обладают большой площадью поверхности и объёмом цитоплазмы, в котором необходимо поддерживать определённый уровень обменных процессов.

Ключевыми характеристиками сегментарной миелинопатии являются: преимущественное поражение отростков миелинообразующих клеток и малая чувствительность к действию токсикантов перикариона клеток Шванна; более существенное повреждение нервных волокон с большим диаметром и большими промежутками между перехватами Ранвье; более раннее повреждение дистальных отделов нервных стволов; хорошая способность к регенерации повреждений и относительно быстрая ремиелинизация волокон, проходящая даже в период продолжающейся аппликации токсиканта при его хроническом воздействии.

При интоксикациях некоторыми веществами (ацетилэтил-тетраметил-тетралин - АЭТТ, триэтилово, изониазид и др.) нарушения отмечаются не только в периферических нервных стволах, но и в ЦНС.

4.2.2. Токсическая дистальная аксонопатия

Дистальная аксонопатия - наиболее частая форма поражения периферического отдела нервной системы токсикантами. До настоящего времени этот вид патологии и в эксперименте и в клинических условиях изучен недостаточно глубоко.

Перечень некоторых веществ, способных вызывать токсические аксонопатии у человека представлены на таблице 25.

Таблица 25. Вещества, вызывающие токсические аксонопатии у человека

Лекарства	Пестициды	Производственные токсиканты
амитриптилин амфетамин дапсон дифенилгидантрон дисульфирам винбластин винкристин изониазид нитрофурантрон	ДДТ диэльдрил динитрофенол монобромметан петахлорфенол полисульфид бария ФОИ (карбафос, дихлофос, лептофос и др.)	акриламид бензол гексан гидразин дихлорбензол метилбромид метилбутилкетон мышьяк галогенированные бифенилы

пенициллин хлорамфеникол хлорохин цисплатин		свинец сероуглерод таллий ТОКФ тетрахлорэтан трихлорэтилен четырёххлористый углерод этиленоксид

В большинстве случаев проявления отравлений мало специфичны и характеризуются знаками симметричной сенсомоторной полинейропатии. При электронной микроскопии пораженных нервов выявляется скопление нейрофиламентов в областях локализации перехватов Ранвье.

Патологические изменения первоначально формируются в виде мультифокальных поражений дистальных отделов длинных миелинизированных аксонов большого диаметра (мотонейроны). Особенно уязвимы волокна сидалищного нерва и в частности проводники, иннервирующие икроножные мышцы. Поскольку первоначально в процесс вовлекаются лишь дистальные отделы нервных волокон, пострадавший в течение некоторого времени может полностью сохранять работоспособность. Дегенеративные изменения аксона постепенно распространяются проксимально в сторону тела нервной клетки. Нарастает слабость соответствующих групп мышц. Так как мотонейроны поражаются диффузно, и в структуре нервного ствола сохраняется большое число интактных волокон, не смотря на выраженную клинику интоксикации, скорость проведения импульса по нерву изменяется мало. Аксональные нейропатии, как правило, сопровождаются вторичной демиелинизацией нервных стволов.

Нарушение чувствительности также отмечается первоначально в дистальных отделах конечностей. Это проявляется потерей чувствительности в области кистей и стоп (симптом "носков и перчаток"). Постепенно в процесс могут вовлекаться и нейроны чувствительных ганглиев задних корешков спинного мозга.

Поражения вегетативных волокон встречаются крайне редко.

Последовательность событий, развивающихся при формировании токсических нейропатий, достаточно типична. Характерны: периодически возникающее чувство онемения конечностей; повышение болевой чувствительности кожных покровов дистальных отделов конечностей; болезненность по ходу нервов верхних и нижних конечностей; парестезии; слабость мышечных групп, развивающаяся от периферии к центру, преимущественно разгибателей; атаксия; атрофия мышц конечностей.

Регенерация аксона (в отличие от ремиелинизации) проходит медленно со скоростью около 1 мм в сутки. В этой связи процесс восстановления затягивается на месяцы, и даже годы.

Многие токсиканты повреждают не только периферические, но и центральные нервные проводники. В ЦНС также страдают структуры, образованные длинными аксонами большого диаметра: кортикоспинальный, спиноцеребеллярный тракты. Проводящие пути, образуемые короткими отростками малого диаметра (оптический нерв), вовлекаются в патологический процесс в последнюю очередь, и, как правило, лишь при хронических интоксикациях. Нарушения в ЦНС и ПНС могут формироваться практически одновременно, при этом центральные эффекты часто маскируются более выраженными периферическими эффектами. Однако после восстановления функций периферических нервных стволов могут выявляться признаки поражения ЦНС: спастичность, атаксия, атрофия оптического нерва, нарушение умственных способностей.

Интимные механизмы действия большинства токсикантов не известны. Отмечается, что вещества, способные вызывать аксональную дегенерацию, угнетают активность таких ферментов, как нейрэстераза (см. ниже), а также глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа, необходимых для обеспечения энергетических и пластических процессов в нервной клетке.

Три-О-крезилфосфат (ТОКФ)

Классическим представителем веществ, вызывающих дистальную аксонопатию является три-О-крезилфосфат (рисунок 20). Это маслянистая жидкость, хорошо растворяющаяся в липидах и органических растворителях. Вещество широко используется в качестве термостабильной добавки к машинным маслам и пластификатора при производстве пластмасс. ТОКФ относится к группе ФОС, но антихолинэстеразным действием не обладает.

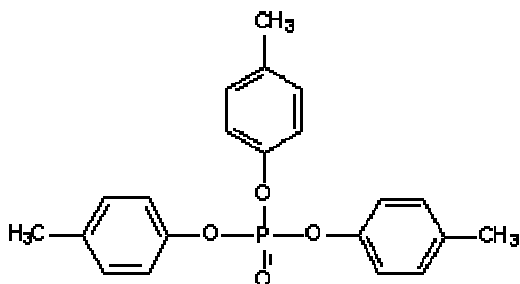


Рисунок 20. Структура молекулы три-О-крезилфосфата

Отчетливая картина интоксикации развивается при приеме внутрь около 120 мг ТОКФ (т.е. 2 мг/ кг массы). Анализ показывает, патология различной степени тяжести может развиваться и от значительно меньших доз вещества (более 0,5 мг). В 1940 году 89 солдат Шведской армии получили отравление ТОКФ, в результате использования в пищу масла, загрязненного токсикантом. Клиника отравления у всех пострадавших была сходной. Спустя 1 - 12 часов развились признаки гастроэнтерита, характеризующиеся рвотой (90%), болями в области живота, поносом. Явления продолжались в течение 24 - 36 часов. Затем,

после латентного периода продолжавшегося 13 - 27 суток появились парестезии, а потом и вялые парезы дистальных групп мышц нижних конечностей (сначала разгибателей). Позже присоединились явления слабости мышц верхних конечностей (46%), бедер (41%), области таза (43%). Нарушение сухожильных рефлексов отмечалось у всех пострадавших (коленный рефлекс, ахиллов рефлекс). Чувствительные и черепно-мозговые нервы в патологический процесс вовлечены не были. У 26% пострадавших отмечено нарушение вегетативных функций: парез мочевого пузыря, импотенция. Проявления интоксикации достигли максимума к 3 - 4 неделе заболевания. Затем наступила ремиссия, однако через три месяца от начала интоксикации появились признаки нарушения ЦНС: спастичность и атаксия. У 52 пораженных полного восстановления функций не произошло.

В эксперименте установлено, что в основе патологического процесса лежат выраженные морфологические нарушения отдельных нервных волокон. Они характеризуются появлением участков дегенерации по ходу аксонов. Демиелинизация волокон не отмечается. При электронной микроскопии пораженных участков нервного волокна выявляется дезинтеграция нейрофиламентов, скопление мембранных и гранулярных патологических включений. Отмечаются морфологические нарушения в синапсах передних рогов спинного мозга, характеризующиеся набуханием и разрывами везикулярных мембран. Полагают, что повреждение внутриклеточных мембран нейронов обусловлено взаимодействием ТОКФ с мембран-связанной нейрэстеразой, участвующей в их образовании. Необходимым условием развития нейропатии является существенное (около 80%), необратимое ингибирование энзима.

4.2.3. Перикариальная токсическая нейропатия

Количество токсикантов, вызывающих повреждение перикариона нервных клеток, относительно невелико. К их числу относятся: метилртуть, ртуть, адриамицин, талидомид, алюминий, винкристин, сероуглерод, трихлорэтилен, тетраэтилсвинец (ТЭС) и др. Периферические нейропатии, вызываемые этими веществами, как правило, сопровождаются признаками поражения мозга, а для некоторых токсикантов именно центральное действие является основным (ТЭС).

Метилртуть

Благодаря высокой растворимости в липидах, метилртуть легко проникает через гистогематические барьеры и клеточные мембраны. Связь ртути с метильными радикалами достаточно прочна и поэтому значительная часть вещества выводится из организма в неизменённом виде. Поскольку выделение с мочой затруднено, а выводящееся с желчью вещество подвергается частичной реабсорбции в кишечнике, период его полувыведения продолжителен и у человека может достигать 200 суток.

Первые упоминания о массовых отравлениях метилртутью относятся к 1914 году, когда препарат стали использовать в качестве фунгицида для обработки семенного зерна. Источником метилртути в окружающей среде может стать биотрансформация неорганических соединений ртути биотой. Так, трагедия Минамата была связана с загрязнением неорганической ртутью прибрежных морских вод Японского моря. В результате биопревращений её планктоном образовывалась метилртуть, накопившаяся затем в большом количестве в тканях промысловых рыб. Использование зараженной рыбы в пищу привело к массовому отравлению людей.

Однако самой масштабной была трагедия в Иране, где население использовало в пищу продукты, приготовленные из зерна, обработанного фунгицидом. Число жертв исчислялось тысячами.

Метилртуть вызывает очаговую дегенерацию нейронов гранулярного слоя мозжечка и коры головного мозга, особенно зрительных областей. Первичные сенсорные нейроны также вовлекаются в патологический процесс.

Патология нервной системы, вызываемая метилртутью, изучена в опытах на экспериментальных животных. Установлено, что введение вещества крысам в дозе 7,5 мг/ кг в течение 8 дней приводит к поражению тел нейронов дорзальных ганглиев. При микроскопии уже на вторые сутки выявляется дегрануляция шероховатого эндоплазматического ретикулума в периферических отделах цитоплазмы пораженных нейронов. С увеличением дозы усиливается выявляемость изменений. К 8 суткам появляются отчетливые признаки дегенерации нейронов. Определяется фрагментоз нервных волокон на всём их протяжении. Поражаются волокна, формирующие как нервные стволы, так и проводящие пути спинного мозга. Причем деструктивные процессы захватывают как задние, так и передние отделы. Выявляемые признаки аксональной дегенерации, в настоящее время, рассматриваются как вторичные проявления нейропатии. Поражение крупных ганглионарных клеток метилртутью объясняют быстрым накоплением вещества именно в этих нервных структурах, вследствие высокой проницаемости гематоневрального барьера в ганглиях задних корешков спинного мозга.

В опытах на кроликах (7,5 мг/ кг в течение 4 дней), помимо указанных, удаётся выявить изменения со стороны и других структур ЦНС. Так, определяются структурные изменения звёздчатых и корзинчатых клеток молекулярного слоя коры мозжечка, нейронов 2,3,4 слоев теменной и затылочной областей коры головного мозга. Морфологическим субстратом повреждения нервных клеток является дегрануляция и разрушение шероховатого эндоплазматического ретикулума. Характерная особенность нервных клеток ЦНС, чувствительных к метилртути - малые размеры, большой объём ядра клетки. Будучи цитоплазматическим ядом, вещество в большей степени поражает клетки с тонким слоем цитоплазмы

В ходе биохимических исследований удалось показать, что метилртуть - рибосомальный яд. Под влиянием токсиканта нарушается включение меченых аминокислот в структуру синтезируемых нервными клетками белков. Вещество характеризуется высоким сродством к SH-группам. Из 120 рибосомальных сульфидрильных групп примерно половина имеет функциональное значение для реализации процесса белкового синтеза. Находясь в активном состоянии, эти группы наиболее активно вступают во взаимодействие с токсикантом.

Тетраэтилсвинец

Тетраэтилсвинец (ТЭС) - $Pb(C_2H_5)_4$ - маслянистая летучая жидкость, практически не растворимая в воде, но хорошо растворяющаяся в жирах и органических растворителях. ТЭС используют, как

антидетонатор, добавляемый в составе этиловой жидкости к некоторым сортам бензина. Вещество может проникать в организм ингаляционно и через неповрежденную кожу, а также с продовольствием, контаминированным токсикантом. В течение 3 - 4 суток ТЭС в неизменном виде обнаруживается в крови и тканях. В результате метаболизма в печени и других тканях ТЭС превращается в триэтилсвинец, с образованием которого и связывают развитие патологии. Триэтилсвинец длительно (до 20 суток) циркулирует в крови, постепенно накапливаясь в печени и ЦНС. Наибольшее количество вещества депонируется в таламусе, гипоталамусе, стриатуме, фронтальных отделах коры больших полушарий мозга - структурах, плотно иннервируемых дофаминергическими нервными окончаниями. В дальнейшем вещество разрушается до неорганического свинца, который частично откладывается в тканях, а частично выводится с мочой и калом.

Контакт ТЭС с кровяными тканями, как правило, проходит незамеченным, поскольку вещество не обладает раздражающим или прижигающим действием. Проявления поражения развивается после скрытого периода, который продолжается от нескольких часов до 10 суток. Наиболее ранними признаками поражения являются гипотония, гипотермия, брадикардия, повышенная потливость, саливация, головокружение - проявления повреждений высших центров регуляции вегетативного отдела нервной системы. Постепенно состояние ухудшается, появляются иллюзии (извращение вкуса), галлюцинации - зрительные, слуховые, тактильные (ощущение инородного тела во рту), депрессия, тревожный сон с кошмарными сновидениями. При тяжелых интоксикациях отмечается: расстройства речи, шаткая походка, нистагм, гиперрефлексия, птоз, дрожание век, языка, пальцев рук, парез лицевого нерва, нарушение интеллекта, резкое психомоторное возбуждение, бред. На высоте интоксикации возможна смерть от остановки сердечной деятельности. В благоприятных случаях выздоровление наступает через 2 - 3 месяца, но редко бывает полным. Как правило, явления энцефалопатии отмечаются в течение длительного времени.

Механизм токсического действия ТЭС до конца не выяснен. Полагают, что в основе токсического процесса лежит нарушение пластического обмена в клетках мозга, обусловленное ковалентным связыванием свинца с биомолекулами, в состав которых входят амино-, карбокси-, имидазол-, фосфатные и SH-группы. Результатом такого взаимодействия является денатурация молекул, нарушение их свойств и функций. Свинец конкурирует с двухвалентными металлами, такими как Ca^{2+} и Zn^{2+} . В итоге угнетается активность большого количества энзимов (аденилатциклазы, Na-K-АТФазы), нарушается синтез белка в клетках, повреждаются процессы, проходящие в митохондриях (угнетение окисления жирных кислот, декарбоксилирования пировиноградной кислоты, снижаются запасы макроэргов) и т.д. Существенно страдает обмен дофамина в ЦНС: увеличивается потребление тирозина, усиливается выброс дофамина, нарушается обратный захват нейромедиатора. Это указывает на серьезное повреждение дофаминергических медиаторных структур мозга. При тяжелых интоксикациях происходит гибель нервных клеток, что лежит в основе органического синдрома поражения мозга.

Алюминий

Алюминий чрезвычайно широко распространённый элемент. Контакт с ним человека неизбежен. Вместе с тем случаи острой или хронической интоксикации веществом неизвестны. Это связано с неспособностью алюминия проникать через барьеры, образованные кожей, эпителием желудочно-кишечного тракта и легкими.

Однако в особых условиях возможна интоксикация алюминием. Так, в литературе описан случай энцефалопатии, сопровождавшийся повышением содержания алюминия в ткани головного мозга у больного, длительно находившегося на гемодиализе. Для контроля уровня фосфатов в плазме крови использовали алюминий-содержащий гель.

Увеличение содержания алюминия в ткани мозга обнаружено у лиц с болезнью Альцгеймера. Необходимы дальнейшие наблюдения и исследования установления роли алюминия в патологии мозга.

Алюминий вызывает специфические изменения нейрофибрил нейронов. Впервые эффект был установлен при интрацеребральном введении кролику антигена, связанного с адъювантом, содержащим фосфат алюминия. При поражениях изменённые нейроны обнаруживаются практически во всех структурах мозга. При электронной микроскопии в поврежденных нервных клетках регистрируются участки локального просветления цитоплазмы, представляющие собой конгломерат нейрофиламентов. В эксперименте изменения нейронов удаётся воспроизвести и при подкожном введении животному больших доз солей алюминия.

Таллий

Основные источники загрязнения окружающей среды таллием - цементные заводы, теплоэлектростанции (ТЭС), работающие на угле, плавильные комбинаты, по выпуску меди, цинка, кадмия и свинца. Вода может быть заражена таллием близ металлургических производств. В атмосфере таллий может присутствовать в форме металла, а также оксида и сульфата. Основное производство, использующее таллий - выпуск полупроводников и электрических переключательных устройств.

В 1920 г. в Германии соли таллия начали применять в качестве пестицидов. Действующий агент содержал 2% сульфата таллия. Стойкость вещества в окружающей среде и кумуляция в организме млекопитающих сделали его идеальным родентицидом. Именно в качестве пестицида таллий стал причиной отравления человека. В 1965 году использование таллия в качестве пестицида в США было запрещено, однако в других странах мира он продолжает использоваться с этой целью. Таллий также применяют для изготовления оптических линз, красителей, пигментов, фейерверка. Таллий стал важнейшим веществом в производстве сверхпроводников.

В развитых странах основные области потребления таллия - это производство электроники, фотоэлектрических элементов, ламп, сцинтилляционных счетчиков, полупроводников. Вещество также используют, как катализатор в химическом синтезе, в производстве сверхпроводников, искусственных ювелирных изделий.

Новая волна широкого использования таллия в качестве сверхпроводника и катализатора, заставляет внимательно изучать токсичность вещества.

Основной причиной легких отравлений таллием является ингаляция воздуха, содержащего таллий или потребление фруктов, обработанных этим веществом. Поскольку металл обладает выраженными кумулятивными свойствами и абсорбируется через кожу (также как и ЖКТ), необходимо учитывать свойства этого вещества, как потенциального экотоксиканта.

Острые тяжелые отравления таллием, как правило, являются следствием случайного или преднамеренного приема солей металла *per os*. На производстве возможны также ингаляционные воздействия и действие при попадании на кожу. Всасывание вещества осуществляется быстро (в течение 1 часа) и практически полностью (в опытах на грызунах - до 100%). Соединения таллия в руках неопытного и не проинструктированного человека представляют большую опасность.

После проникновения в кровь таллий распространяется по организму, проникая внутрь клеток. Наибольшее количество металла скапливается в почках (в медулярном слое). Высокое содержание металла определяется в сердечной мышце, печени и волосах. Концентрация таллия в жировой ткани и мозге низкая. В крови металл равномерно распределяется между плазмой, лимфоцитами и эритроцитами. Таллий проникает через плаценту, однако содержание его в тканях плода - незначительно.

Основные пути выделения таллия - через почки и ЖКТ. Период полувыведения из организма человека составляет около 30 суток.

Таллий - сильный нейротоксикант. Как правило, клинические проявления острой интоксикации нарастают медленно в течение нескольких недель и характеризуются развитием острых и подострых эффектов (таблица 26).

Таблица 26. Основные проявления интоксикации таллием

1. Острые эффекты:

- Тошнота
- Рвота
- Боли в животе
- Тремор
- Мышечная атрофия
- Параличи
- Атаксия
- Психоз
- Судороги
- Кома

2. Подострые эффекты:

- Запоры
- Желудочно-кишечные кровотечения
- Дерматит (эритема, изменение ногтей, шелушение кожи, линии Мии)
- Парестезия
- Восходящая нейропатия
- Полиневрит
- Мышечная слабость
- Нейропатия черепно-мозговых нервов (птоз, офтальмоплегия, ретробульбарный неврит, неврит лицевого нерва)
- Атаксия
- Утомляемость
- Эмоциональные нарушения
- Психозы

При пероральном отравлении первые симптомы - тошнота и рвота. Затем, в течение последующих 7-14 дней развиваются боли в животе, запоры, ощущение тяжести в желудке, кровотечение.

Неврологические симптомы, как правило, появляются через неделю и характеризуются невритами, преимущественно нижних конечностей. Через 1-3 недели после воздействия болезненность по ходу нервов усиливается, развивается атаксия, тремор. Мышечные рефлексы сохраняются обычно достаточно долго. В процесс вовлекаются краниальные нервы.

Поражение блуждающего нерва сопровождается тахикардией, умеренной гипертензией, парезом кишечника. Нарушения, выявляемые при электрокардиографии, напоминают состояние гипокалиемии.

Психические расстройства проявляются депрессией и психозом.

При тяжелых интоксикациях довольно быстро развиваются галлюцинации, делирий, судороги, кома. Смерть развивается в результате нарушений сердечной деятельности и функций почек.

Выздоровление происходит медленно и растягивается на месяцы.

При хроническом воздействии, как правило, развивается стойкая нейропатия, сопровождающаяся слабостью мышц нижних конечностей, болезненностью по ходу нервов, нарушениями интеллекта, потерей волос. Аллопеция может развиваться спустя месяцы после воздействия таллием. Восстановление растягивается на многие месяцы.

Механизм действия вещества изучен недостаточно. Известно, что таллий и калий конкурируют за механизмы переноса ионов через биологические мембраны, опосредованные активностью Na-K-АТФазы. Таллий может замещать K^+ и выступать его конкурентом и в других жизненно-важных процессах.

В настоящее время отсутствуют эффективные лечение отравлений таллием. В опытах на животных известной активностью обладали диэтилдитиокарбамат (дитиокарб) и дифенилтиокарбазон (дитизон). Однако использование этих комплексонов у людей выявило их слабую эффективность.

Рекомендуют сочетанное применение хлористого калия с активированным углем. Калий вытесняет Тl из связи с внутриклеточными рецепторами. Рекомендуют дополнять терапию назначением прусского голубого (ферроцианоферрат калия). Препарат назначают per os в дозе 250 мг/кг в сутки в 50 мл 15% маннитола в два приема (применяли до 10 грамм два раза в день). Прусский голубой не всасывается в ЖКТ. Калий, вытесняет Тl, а последний связывается с ферроцианоферратом и выводится из организма.

Адриамицин

Адриамицин - используется в клинической практике как цитостатик. Вещество известно, как нейротоксикант, селективно повреждающий нейроны ганглиев дорзальных корешков спинного мозга и симпатические нейроны. Вещество связывается с ДНК нейронов, нарушает синтез РНК. Опыты с введением меченого ³H-лейцина экспериментальным животным показывают существенное замедление процесса его ассимиляции нервными клетками, что указывает на нарушение процессов синтеза белка.

Нейротоксический эффект получен только в эксперименте при одномоментном введении большой дозы препарата. При интоксикации выявляются дегенеративные изменения периферических нервов, дорзальных корешков и дорзальных колонн спинного мозга. При микроскопии определяются деструктивные изменения в телах нейронов, состоящие в смещении ядра клетки, увеличении числа цитоплазматических нейрофиламентов, образовании мембрансвязанных полостей.

Избирательное повреждение нервных клеток симпатических ганглиев дорзальных корешков спинного мозга связано с высокой сосудистой проницаемостью этих регионов нервной системы. Гематоэнцефалический барьер не проницаем для этого вещества.

Винкристин

Винкристин - цитотоксический агент, используемый для лечения лейкемии и других неопластических процессов. Вскоре после введения препарата в клиническую практику была обнаружена его способность вызывать нейропатию. В эксперименте на лабораторных животных эффект воспроизводится при внутрицеребральном введении вещества. При микроскопическом исследовании в поврежденных нейронах обнаруживаются скопления нейрофиламентов диаметром 9 - 10 нм. Цитотоксическое действие винкристина связывают с его способностью повреждать микротрубочки, формирующиеся в клетке в метафазе митоза. Вещество присоединяется к мономерам, из которых формируются микротрубочки, препятствуя процессу их полимеризации. В нервных клетках, как полагают, также происходит нарушение образования микротрубочек, имеющих важное значение для обеспечения аксонального тока пластических элементов цитоплазмы нейронов.

Однако не исключено, что механизм нейротоксического действия винкристина может быть и иным.

5. Оценка нейротоксичности в эксперименте

Современная нейробиология располагает огромным арсеналом прецизионных методов, позволяющих всесторонне оценить функциональное состояние нервной системы человека и экспериментальных животных. Многие из этих методов требуют высокой квалификации специалистов, дорогостоящего оборудования и применяются лишь в специальных токсикологических исследованиях. Однако, оценка нейротоксичности ксенобиотика может быть осуществлена и в ходе достаточно простых поведенческих, биохимических, электрофизиологических, патологоанатомических исследований.

Поведенческие исследования предполагают наблюдение за животными, подвергающимися острому, подострому, хроническому действию веществ, с целью выявления признаков нарушения вегетативных функций, рефлекторной деятельности, двигательной активности, координации движения, мышечного тонуса, стереотипий, возбуждения или угнетения ЦНС и т.д.

Если такие признаки выявляются и есть необходимость определить эффективные дозы, в которых вещество вызывает те или иные эффекты, и дать их детальную характеристику, возможно проведение специальных исследований, направленных на оценку условно-рефлекторной деятельности, этологических показателей и т.д. **Электрофизиологические исследования** позволяют уточнить механизмы нейротоксического действия исследуемого ксенобиотика.

Возможность химических веществ вызывать отсроченные нейропатии желательнее оценивать в опытах на курах, у которых этот эффект достаточно легко выявляется, в отличие от обычных лабораторных животных (грызуны).

Биохимические исследования используют, прежде всего, при оценке токсичности новых инсектицидов из группы антихолинэстеразных веществ (ФОС и карбаматы). Активность холинэстеразы может определяться в цельной крови, плазме крови, эритроцитах и головном мозге экспериментальных животных.

Ингибиторная активность соединений в отношении так называемой нейрэстеразы может быть использована для оценки их способности вызывать отсроченные нейропатии.

К помощи **морфологических** (макроскопических и микроскопических) методов исследования структур головного мозга и ЦНС прибегают в случае необходимости дать детальную характеристику процессов, развивающихся при действии оцениваемого токсиканта.

6. Диагностическая стратегия в нейротоксикологии

Диагностика выраженных нейротоксических эффектов не вызывает затруднений, поскольку формирующиеся при этом клинические синдромы достаточно хорошо изучены. Сложной задачей является выявление патологии у лиц со скудной клиникой поражения, отсутствием очевидных свидетельств контакта с нейротоксикантом. Тем не менее именно такие ситуации встречаются наиболее часто. В этих случаях возникает вопрос, являются ли выявляемые нарушения следствием химических воздействий или представляют собой идиопатические заболевания нервной системы. Диагностическая стратегия в подобных

ситуациях включает сбор анамнеза, детальное обследование пострадавшего врачом-специалистом и выявление клинических синдромов, проведение специальных диагностических тестов.

6.1. Сбор анамнестических данных

Ключом к выявлению нейротоксических эффектов является правильный сбор анамнеза. Это связано с тем, что симптоматика при токсических нейропатиях как правило мало чем отличается от идиопатических заболеваний нервной системы. Сбор анамнеза должен быть направлен на установления возможных контактов пострадавшего с опасными веществами в быту и на производстве. Опрос не должен быть излишне подробным. Следует останавливаться на наиболее информативных моментах. Примерный перечень задаваемых вопросов представлен в таблице 27.

Таблица 27. Перечень вопросов, рассматриваемых при сборе данных профессионального анамнеза

1. Где работает пациент и как давно?
2. Какой вид продукции выпускается?
3. Каков характер деятельности пациента на производстве?
4. С какими токсикантами непосредственно контактирует пациент?
5. Каково агрегатное состояние этих токсикантов?
6. Были ли случаи воздействия высоких доз токсикантов?
7. Используются ли на рабочем месте индивидуальные средства защиты; какие?
8. Имеются ли на рабочем месте специальные устройства кондиционирования среды (вытяжные шкафы, вентиляция, дренажные устройства)?
9. Отмечается ли связь между ухудшением самочувствия и работой?
10. Были ли симптомы патологии до поступления на работу?
11. Появляются ли признаки заболевания в процессе работы, после работы, в выходные дни?
12. Наблюдаются ли аналогичные нарушения здоровья у коллег?

В тех случаях, когда сбор анамнеза не позволяет прийти к определенному заключению, оправдано посещение врачом рабочего места пациента.

Если не удаётся выявить действующий агент на производстве, необходимо ознакомиться с бытовыми условиями, привычками, хобби пациента, так как и здесь может быть обнаружен потенциальный нейротоксикант. В окружающей среде можно найти самые разнообразные химические соединения, однако, их концентрация, как правило, совершенно недостаточна для инициации патологических процессов. Иногда регистрируются случаи массового заболевания людей в регионах, где имели место техногенные аварии на промышленных объектах с выбросом в окружающую среду больших количеств высокотоксичных веществ. Идентификация таких случаев не представляет большой трудности для экспертов.

6.2. Исследование специалистами

Симптомы интоксикации, по сути, идентичны проявлениям идиопатических форм патологии нервной системы. Обменные, инфекционные и другие факторы, вызывают патологические состояния, в основе которых, также как при действии химических веществ, лежит гибель нейронов или их дисфункция, аксональная дегенерация, диффузная демиелинизация и т.д.

Более того, один и тот же токсикант, как указывалось, может вызвать различные формы поражения нервной системы, и вместе с тем разные токсиканты могут провоцировать близкую симптоматику. Исследование специалиста, в этой связи, должно быть максимально тщательным и направлено на выявление всех характерных черт течения конкретного заболевания. Некоторые симптомокомплексы патогномоничны для токсических поражений. Так, дистальная аксонопатия, сочетающаяся с гастроэнтеритом и выпадением волос - частый признак отравления мышьяком и таллием; тремор конечностей в сочетании с опсоклонусом - как правило, признак начального периода интоксикации хлордеконом.

6.3. Функциональные исследования

Изучение нервной проводимости и электромиографические исследования хотя и не являются специфичным для выявления токсических нейропатий, тем не менее дают важную количественную характеристику патологического процесса, позволяющую контролировать его динамику, а также дифференцировать аксональную дегенерацию от сегментарной демиелинизации. Поскольку при аксональной дегенерации гибнет лишь часть нервных волокон, образующих нерв и при этом проведение импульса по пораженному нерву полностью не прерывается, не смотря на отчетливые клинические признаки патологии, скорость проведения возбуждения не изменяется, но при этом уменьшается амплитуда регистрируемого сигнала. При сегментарной демиелинизации на начальных этапах проводимость по пораженным волокнам не прерывается, но существенно снижается скорость распространения сигнала.

Электромиографические исследования позволяют оценить выраженность денервации мышечных волокон, развивающейся вследствие гибели нервных волокон, иннервирующих мышцу.

Методами оценки степени тяжести токсических энцефалопатий являются электроэнцефалография (ЭЭГ) и психофизиологические исследования. При исследовании нейропсихологического статуса обычно оценивают уровень интеллекта, речевые способности, внимание, познавательную способность личности, память, координированность движений и т.д. Описан синдром хронической интоксикации органическими растворителями. Он включает: головные боли, частую смену настроения, спутанность сознания, повышенную утомляемость, ухудшение памяти, частое депрессивное состояние, парестезии по ходу периферических нервов. Однако в целом, и эти виды исследования не являются специфичными в диагностике нейротоксических эффектов.

ГЛАВА 7.6. ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ

Гепатотоксичность - это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем, вызывать структурно-функциональные нарушения печени.

Известен широкий круг веществ, обладающих гепатотоксичностью. К их числу относятся природные соединения, продуцируемые растениями, грибами, микроорганизмами, минералы, продукты химической и фармацевтической промышленности, отходы этих видов производственной деятельности (таблица 1). Однако, из числа представленных, лишь некоторые, к неблагоприятному действию которых порог чувствительности печени существенно ниже, чем других органов и систем, условно могут быть названы **гепатотоксикантами**.

Таблица 1. Вещества, обладающие гепатотоксичностью

1. Производственные токсиканты
 - Алифатические углеводороды: гептан;
 - Алкоголи: аниловый спирт, этиловый спирт, этиленхлоргидрин, гептиловый спирт, этиленгликоль и его производные;
 - Эфиры и эпоксисоединения: диоксан, эпихлоргидрин, этиленоксид, тиоловый эфир;
 - Ацетаты: метил-ацетат, этил-ацетат, пропил-ацетат, изопропил-ацетат, бутил-ацетат, амил-ацетат, этилсалицилат;
 - Алифатические галогенированные углеводороды: четырёххлористый углерод, хлороформ, дибромхлорпропан, дихлорэтан, дибромэтан, этилендибромид, этилендихлорид, метилбромид, метилхлорид, пропиленхлорид, тетрачлорэтан, тетрачлорэтилен, трихлорэтан, винилхлорид;
 - Карбоновые кислоты и их ангидриды: фталиевый ангидрид;
 - Алифатические амины: этаноламин, этилендиамин;
 - Цианиды и нитрилы: ацетонитрил, акрилонитрил;
 - Ароматические углеводороды: бензол, дифенил, нафтаден, стирол, толуол, ксилол;
 - Фенол и его производные: фенол, крезол;
 - Ароматические галогенированные углеводороды: бензилхлорид, хлорированные дифенилы, хлорированный бензол, хлорированные нафталины, полихлорированные бифенилы, полибромированные бифенилы;
 - Ароматические амины: 2-ацетаминифлюоран, 3,3-дихлорбензидин, 4-диметиламиноазобензол, 4,4-метиленис(2-хлоранилин);
 - Нитросоединения: динитробензол, динитротолуол, динитрофенол, нитробензол, нитропарафины, нитрофенол, пикриновая кислота, нитрометан, тринитротолуол, 2-нитропропан;
 - Другие нитросоединения: диметилнитрозамин, диметилформамид, этилндиамин, гидразин и его производные, пиридин, диметилацетамид;
 - Различные органические соединения: β -пропиолактон, сероуглерод, диметилсульфат, меркаптаны, тетраметилтиурам дисульфид;
 - Галогены: бром;
 - Металлы: мышьяк, бериллий, висмут, бор, кадмий, хром, медь, германий, железо, никель, фосфин, фосфор, пирогаллол, селен, таллий, олово;
 - Пестициды: дипиридилы (паракват, дикват), ДДТ.
2. Природные соединения:
 - Растительного происхождения: альбитоцин, циказин, иктерогенин, сафрол, танниновая кислота;
 - Микотоксины: афлатоксины, охратоксины, рубратоксины, стеригматоцистины, аманитин, фаллоидин и др.;
 - Бактериальные токсины: экзотоксины группы клостридиум, гемолитического стрептококка, этионины.
3. Медикаментозные средства:
 - Антибиотики: хлорамфеникол, рифампицин, тетрациклин, нитрофураны, сульфониламидные препараты и др.;
 - Фунгициды: гризеофульвин, амфотерицин, 5-флюороцитозин и др.;
 - Протозооциды: зметин, метронидазол и др.;
 - Противотуберкулёзные средства: циклосерин, изониазид, рифампицин, р-аминосаллициловая кислота;
 - Противовирусные средства: циторабин, видарабин;
 - Эндокринные препараты: антитиреоидные средства, стероидные препараты;
 - Анестетики: галотан, метоксифлюран, эфиры, хлороформ, циклопропан;
 - Психотропные препараты: фенотиазины, тиоксантены, бутирофеноны, бензодиазепины, ингибиторы МАО, трициклические антидепрессанты;
 - Антikonвульсанты: фенитоин, фенобарбитал, метадон;
 - Анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства: ацетаминофен, салицилаты, индометацин, фенилбутазон, ибупрофен, фенилбутазон;
 - Сердечно-сосудистые средства: антикоагулянты, хинидин, прокаинамид, веропамил, нифедипин, метилдофа, каптоприл, диуретики, ангиангинальные средства и др.;
 - Противоопухолевые препараты.
 - Разные: колхицин, аллопуринол, циметидин, дисульфидрам, витамин А, БАЛ, пеницилламин и др.

Высокая чувствительность печени к химическим соединениям определяется несколькими обстоятельствами. Во-первых, вещества, проникающие в организм через желудочно-кишечный тракт, прежде всего, поступают именно в печень; таким образом, это первый орган, стоящий на пути ксенобиотика, резорбировавшегося во внутренние среды организма. Во-вторых, печень - основной орган, ответственный за метаболизм чужеродных веществ. Поскольку это нередко сопряжено с образованием высоко реакционно-способных промежуточных продуктов и инициацией свободно-радикальных процессов (см. разделы

"Метаболизм ксенобиотиков", "Механизм цитотоксического действия"), в ходе метаболизма весьма вероятно повреждение органа.

В настоящее время благодаря проведению гигиенических мероприятий и существенному оздоровлению условий труда на производствах, случаи острых токсических поражений печени редки. Однако не редкость случаи подострого и хронического гепатотоксического действия. Изменения со стороны органа, у лиц, подвергшихся воздействию токсиканта, могут быть трудно диагностируемы. Рутинные методы исследования порой оказываются недостаточно чувствительными, чтобы выявить неблагоприятный эффект от длительного приёма лекарственного средства или действия производственного токсиканта. В таких случаях патологию можно выявить только с помощью специальных методов диагностики. Вот почему нередко гепатотоксическое действие может развиваться постепенно в течение нескольких месяцев, и даже лет, при этом оставаясь нераспознанным.

1. Анатомо-физиологические особенности печени

Благодаря строению и функциям, печень чрезвычайно чувствительна к действию токсикантов.

Функциональной единицей печени является ацинус. Область вокруг портальной триады (печеночная артерия, воротная вена, желчный ход) называется перипортальной зоной (1 зона). Области, окружающие терминальную (центральную) вену, обозначаются как центрлобулярная или периферическая зона (111 зона). Между 1 и 111 зонами располагается промежуточная (11) зона. Такое зонное описание ацинуса базируется на микрофизиологических особенностях органа.

1 зона - основная функциональная область печени. В крови, притекающей к данному отделу ацинуса, наивысшая концентрация кислорода, питательных веществ, гормонов и ксенобиотиков, метаболизируемых печенью. Здесь определяется высокая напряжённость процессов синтеза белка и гликогена. В клетках 1 зоны содержится наибольшее количество митохондрий, а следовательно и энзимов цикла Кребса. Центрлобулярная (111) зона характеризуется низкой активностью белок- и гликогенсинтезирующих процессов. Однако в гепатоцитах этой зоны наивысшее в организме содержание ферментов, метаболизирующих ксенобиотики. В высокой концентрации в гепатоцитах 111 зоны определяются такие энзиматические ассоциации, как НАДФН-цитохромредуктазный комплекс. Упомянутые ферменты и ферментные комплексы локализуются на мембранах гладкого эндоплазматического ретикулума печеночных клеток. Индукторы метаболизма ксенобиотиков одновременно увеличивают массу гладкого эндоплазматического ретикулума и гепатоцитов 111 зоны. В клетках этого отдела печени, в основном, синтезируются жиры и депонируется гликоген.

Метаболизм ксенобиотиков в гепатоцитах рассмотрен ранее (см. выше).

2. Патологические состояния, формирующиеся при действии гепатотоксикантов

Патологические состояния печени химической этиологии можно отнести к одному из двух классов: цитотоксические и холестатические. Независимо от действующего фактора формируется ограниченное количество патологических реакций, среди которых важнейшие: стеатоз, некроз, холестаз, фиброз (цирроз), канцерогенез. Цитотоксические повреждения печени проявляются некрозом, стеатозом, канцерогенезом. Холестатические - нарушением секреции желчи, развитием желтухи. Как правило, токсические гепатопатии носят смешанный характер.

2.1. Стеатоз

Стеатоз, или жировое перерождение печени, - это состояние, характеризующееся избыточным накоплением жира в гепатоцитах. Одновременно отмечается снижение содержания в плазме крови липидов и липопротеидов. Стеатоз часто является самым ранним проявлением токсического повреждения органа. Механизм инициации стеатоза при интоксикациях различными гепатотоксикантами различен. Накопление жира может быть следствием либо нарушения процессов катаболизма липидов, либо избыточного поступления свободных жирных кислот в печень, либо повреждения механизмов выделения триглицеридов в плазму крови. Триглицериды секретируются в кровь в связанной с белками форме - липопротеинов (липопротеины низкой плотности - ЛНП). Можно выделить несколько основных механизмов повреждающего действия токсикантов на обмен липидов в гепатоцитах:

- нарушение синтеза белка в клетках печени;
- нарушение процессов конъюгации триглицеридов с белками и образования липопротеинов (ЛНП);
- повреждение механизмов транспорта липопротеинов через клеточные мембраны;
- угнетение синтеза фосфолипидов;
- нарушение процессов β -окисления жирных кислот в митохондриях;
- нарушение процессов биоэнергетики в клетках, необходимых для осуществления синтеза белка и фосфолипидов.

Нередко в основе действия токсикантов на процесс лежит несколько механизмов. Значение факта накопления жира в гепатоцитах для развития последующей патологии печени пока не ясно.

2.2 Некроз

Некроз - это дегенеративный процесс, приводящий к клеточной гибели. Некротические изменения, развивающиеся под действием токсикантов, могут затрагивать лишь отдельные участки печени (фокальный некроз) либо всю массу органа (тотальный некроз). Гибель клеток сопровождается повреждением плазматических мембран; ей предшествует ряд морфологических изменений гепатоцитов: отек цитоплазмы, дилатация цитоплазматического ретикулума, набухание митохондрий с разрывом крист, деградация полисом, разрушение органелл и ядра клетки, стеатоз.

Биохимические изменения, предшествующие гибели клетки включают: инициацию свободно-радикальных процессов, связывание токсикантов или их метаболитов с белками, нуклеиновыми кислотами и ненасыщенными жирными кислотами мембран клеток, нарушение пластических и биоэнергетических процессов, резкое повышение содержания в клетке свободного кальция.

Полагают, что фатальным, необратимым этапом развития гепатоцеллюлярного некроза является нарушение гомеостаза внутриклеточного Ca^{+2} . Повышение концентрации кальция в цитоплазме клетки

вторично приводит к повреждению клеточных мембран и органел (митохондрий, эндоплазматического ретикулума, лизосом), денатурации структурных протеинов, инаktivации энзимов. Интимный механизм, приводящий к нарушению клеточного метаболизма Ca^{+2} до конца неясен (см. раздел "Механизмы цитотоксичности").

Гибель клеток может являться следствием реализации регулируемых биологических механизмов (контролируемая клеточная смерть - апоптоз) - физиологического "противовеса" процессу непрерывного клеточного деления. Хотя апоптоз - нормальный процесс, он может быть существенно усилен при действии ряда экзогенных факторов, таких как, оксидативный стресс, аноксия, ионизирующее излучение, токсиканты.

Имеются морфологические критерии (световая и электронная микроскопия), позволяющие отличить некроз от апоптоза. Однако в действии токсикантов, как правило, практически не возможно четко определить какой из процессов, некроз или активированный апоптоз лежит в основе гибели клетки. По большей части, при интоксикациях, прослеживаются признаки обоих процессов.

Угнетение апоптоза может приводить к накоплению в органе постоянно размножающихся клеток. Например, клональная экспансия малигнизировавшихся клеток и последующий рост опухоли, могут быть следствием угнетения апоптоза.

Наиболее изученными токсикантами, вызывающими стеатоз и некроз гепатоцитов, являются четыреххлористый углерод, хлороформ, бромбензол, фосфор, афлатоксины, диметилнитрозамин, пуромидин, алкалоиды пирролизидинового ряда, бериллий.

2.3. Холестаз

Холестаз проявляется нарушением процесса желчевыведения, усилением проницаемости стенки желчевыводящих каналов, дисфункцией микроворсинок эпителия желчных ходов, обеспечивающих ток желчи. Воспаление или закупорка желчных ходов также приводят к задержке желчи в печени, что в свою очередь сопровождается развитием желтухи.

Среди веществ, вызывающих холестаз - известные лекарственные препараты: тиоридазин, амитриптилин, диазепам, эстрадиол, сульфаниламиды, а также промышленные токсиканты: 4,4-диаминодифенилметан, анилин и др.

2.4. Фиброз (цирроз)

Фиброз - конечный результат хронически протекающих патологических процессов, развивающихся в печени при воздействии токсикантов. В поврежденном органе появляются коллагеновые тяжи, разрушающие нормальную структуру органа, нарушающие внутрипеченочный кровоток, желчеотделение. Клинически это проявляется синдромом портальной гипертензии. Механизм явления не ясен. Наиболее часто цирроз развивается при алкоголизме и хронической интоксикации галогенированными углеводородами (CCl_4 , трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан и др.).

2.5. Канцерогенез

Канцерогенез наблюдается при действии целого ряда природных и промышленных токсикантов. Для большинства веществ механизм канцерогенного действия не установлен (см. раздел "Химический канцерогенез"). Многие гепатотоксиканты выступают в роли инициаторов опухолевого роста, вызывая структурные повреждения молекул ДНК. Перечень гепатоканцерогенов представлен в таблице 2.

Таблица 2. Гепатоканцерогены

А. Гепатоканцерогены человека

доказано	предполагаемые
Винилхлорид Диоксид тория Мышьяк	Альдрин Четыреххлористый углерод Хлороформ ДДТ Дизельдрин Гептахлор Полигалогенированные бифенилы Трихлорэтилен

Б. Гепатоканцерогены животных

ВЕЩЕСТВО	ВИД ЖИВОТНОГО
1. Азокрасители и их предшественники: -аминоазобензол -4-диметиламиноазобензол -о-аминоазотолуол	крысы, мыши
2. 2-ацетаминифлюорен	крысы, мыши, хомяки, кролики, собаки, кошки
3. Нитроароматические соединения: -ароматические гидраксиламины -4-нитрохинолон-1-оксид	крысы
4. Нитрозамины	крысы
5. Диалкил- и арилалкилгидразины	крысы
6. Этилкарбаматы	мыши
7. Тиосоединения: -тиомочевина -тиоацетамид	грызуны
8. Алкилгалогены: -четырёххлористый углерод -хлороформ	мыши, крысы, хомяки

-иодоформ -бензилхлорид	
9. Ароматические соединения: -1,1,1-трихлор-2,2-бис (p-хлорфенил)этан -1,1-дихлор-2,2-бис (p-хлорфенил)этан	мыши
10. Токсины: -афлатоксины -сафрол	крысы

3. Морфологические формы токсического повреждения печени

Основные формы токсического повреждения печени представлены в таблице 3. Повреждения могут быть острыми и хроническими. Как указывалось ранее, они проявляются цитотоксическим и холестатическим эффектами. Цитотоксические повреждения, как правило, манифестируются стеатозом и некрозом печеночных клеток. Холестатические повреждения сопровождаются гепатоканаликулярной или каналикулярной желтухой. Хронические формы поражения печени проявляются хроническим активным гепатитом, стеатозом, фосфолипидозом, циррозом, вено-акклюзионным состоянием, неоплазмой.

Таблица 3. Морфологические типы заболеваний печени, вызываемых химическими веществами

ТИП	ПРИМЕР
Фокальный некроз	ацетаминофен, четыреххлористый углерод
Неспецифический гепатит	аспирин, оксацилин
Повреждения, подобные вирусному гепатиту	изониозид, метилдофа
Хронический активный гепатит	метилдофа, пропилтиоурацил, сульфониламиды, папверин, клометацин
Холестаз: -гепатоканаликулярный -каналикулярный	эритромицин, органические соединения мышьяка, этанол эстрогены, анаболические гормоны
Жировое перерождение	этанол, кортикостероиды, четыреххлористый углерод, тетрациклин
Сосудистые повреждения: -тромбоз печеночных вен -нецирротическая портальная гипертензия	контрацептивные средства, принимаемые per os винилхлорид
Цирроз	этанол, метатрексат
Новообразования: -аденома -фокальная нодулярная гиперплазия -карцинома -ангиосаркома	контрацептивные средства, андрогены контрацептивные средства контрацептивные средства, винилхлорид, анаболические стероиды винилхлорид, мышьяк, сульфат меди

4. Краткая характеристика гепатотоксикантов

Zimmerman в 1978 г предложил относить вещества, вызывающие поражение печени к одной из двух групп: (1) облигатные гепатотоксиканты и (2) повреждающие орган лишь у чувствительных индивидов (идиосинкратические).

Облигатные гепатотоксиканты вызывают дозо-зависимый эффект, как правило, воспроизводимый в опытах на экспериментальных животных. Идиосинкратические гепатопатии развиваются у лиц с особой чувствительностью к определенным веществам. Этот вид патологии не воспроизводится в эксперименте и не носит дозо-зависимый характер.

В основе прямого цитотоксического действия веществ обеих групп на печень лежат следующие механизмы:

- повреждение механизмов транспорта веществ через мембраны гепатоцитов и клеточных органелл;
- повреждение механизмов биоэнергетики в клетках печени;
- дизагрегация рибосом и эндоплазматического ретикулума;
- нарушение нуклеинового обмена в ядрах клеток;
- блок или задержка выделения из гепатоцитов естественных метаболитов.

Механизмы опосредованного действия токсикантов на печень чрезвычайно редки. В качестве примера можно привести эффекты некоторых металлов, которые первоначально повреждают почки, что приводит к накоплению в крови таких веществ как мочевины, аммиак и т.д. Эти вещества, действуя на печень, вызывают её повреждение.

Наименее изученным механизмом гепатотоксичности является стимуляция аутоиммунных процессов, развивающихся вследствие взаимодействия токсиканта с нативными макромолекулами клеток печени (главным образом белками). Одним из примеров подобного механизма считают повреждение печени этанолом при хроническом алкоголизме.

4.1. Облигатные гепатотоксиканты

Повреждение печени может быть следствием действия на орган токсикантов или продуктов их метаболизма.

Некоторые токсиканты в процессе метаболизма иницируют в гепатоцитах генерацию свободных радикалов, активных форм кислорода. Эти продукты вызывают перекисное окисление липидов, физико-химическую деструкцию белков, нуклеиновых кислот, нарушают внутриклеточный гомеостаз кальция. В итоге - функциональные нарушения, проявляющиеся стеатозом, некроз клеток печени. К числу веществ, реализующих таким образом токсическое действие, относятся, в частности, четырёххлористый углерод, другие галогенированные углеводороды, паракват.

В условиях эксперимента показано, что сероуглерод вызывает жировое перерождение гепатоцитов, кровоизлияния в ткань органа у лабораторных животных. Отмечается также увеличение печени, угнетение активности энзимов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков. Наиболее изученными гепатотоксикантами на сегодняшний день являются четырёххлористый углерод и хлороформ. Следствием поражения этими веществами являются стеатоз и некроз клеток печени 111 зоны ацинуса (центрлобулярный некроз). Аналогичным действием на орган обладают некоторые другие хлорированные углеводороды: трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан и др. При изучении биоптатов печени отравленных выявляются эозинофильная инфильтрация перипортальных отделов печени, холестаз. При электронной микроскопии пораженных гепатоцитов выявляются пролиферация пероксисом, гладкого эндоплазматического ретикулума. При повторных воздействиях указанных веществ в высоких дозах возможно развитие цирроза. Контакт с малыми количествами токсикантов не вызывает повреждений печени.

Большинство гепатотоксикантов вызывают повреждение печени путём прямого взаимодействия со структурами клеток. В основе действия лежит образование химических связей между токсикантом или продуктами его метаболизма с макромолекулами, сопровождающееся нарушением их физиологических свойств. Характер образующихся связей может быть различным. Такие вещества, как ацетаминофен, бромбензол и др., образуют ковалентные связи с субстратом, фаллоидин, аманитин связываются нековалентно. Повреждение печени, вызываемое этими веществами, проявляется цитотоксическим (стеатоз, некроз) и холестатическим (желтуха) эффектами.

Этанол можно рассматривать как прямой гепатотоксикант. Хроническая интоксикация спиртом сопровождается жировым перерождением печени, нарушением метаболических процессов в органе. Вещество может вызвать и некроз гепатоцитов либо благодаря действию образующегося в ходе его метаболизма ацетальдегида, либо - энергетическому дефициту вследствие резкого усиления потребления клетками печени кислорода. Этанол, являясь индуктором микросомальных ферментов, при длительном приёме потенцирует гепатотоксическое действие токсикантов, подвергающихся в печени биоактивации, усиливая процесс их метаболизма, например, хлорированных углеводородов, ацетаминофена и др.

Холестатические гепатотоксиканты, повреждая желчные ходы, избирательно нарушая механизмы экскреции желчи, угнетают захват гепатоцитами из плазмы крови веществ, подлежащих выведению.

4,4-диаминодифенилметан (отвердитель пластмасс), случайно попав в муку, стал причиной, в своё время, в Англии целой эпидемии холестатических желтух. Аналогичные поражения отмечались в Испании. Они были вызваны анилином, контаминировавшим рапсовое масло. Поражение желчных ходов вызывает паракват. В эксперименте на лабораторных животных показана способность некоторых микотоксинов, например спиродекмина, вызывать повреждение желчных ходов. Чувствительность к этим веществам у различных людей варьирует в широких пределах, однако эффект носит дозо-зависимый характер.

Механизм действия холестатиков практически неизвестен.

4.2. Идиосинкратические гепатотоксиканты

У небольшой части людей вещества, не проявляющие свойства гепатотоксикантов в эксперименте, тем не менее вызывают поражения печени. В основе явления лежат генетически детерминированные особенности метаболизма ксенобиотиков и иные причины повышенной чувствительности организма к веществу, например, аллергизация.

Аллергические гепатопатии развиваются спустя несколько (1 - 5) недель после воздействия и при повторном контакте с веществом. Как правило, им сопутствуют другие признаки аллергического процесса, как функциональные (лихорадка, сыпь, эозинофилия), так и морфологические (воспалительный эозинофильный инфильтрат в печени). Диагностическим признаком аллергической гепатопатии является развитие процесса в ответ на введение минимальных доз вещества или его метаболитов. Если процесс не развивается, делают вывод, что в основе идиосинкразии лежит абберация метаболических превращений ксенобиотика. Так, показано, что в основе гиперчувствительности отдельных лиц к фенитоину лежит дефект ферментативной системы, превращающей его активный метаболит (ареноксид) в неактивную дигидродиольную форму. Изменённый метаболизм ксенобиотика может приводить к образованию промежуточных продуктов, обладающих прямой гепатотоксичностью либо свойствами гаптена (вторичная аллергизация).

Необходимо отметить, что далеко не всегда, аллергическая гепатопатия развивается на фоне отчетливых системных проявлений. Так, системные реакции не характерны для поражения такими веществами, как аминазин, эритромицин, галотан, изониазид, вальпроевая кислота. И напротив, далеко не всякая системная гиперергическая реакция сопровождается поражением печени (пенициллин, прокаинамид).

Идиосинкратические поражения печени могут встречаться у лиц, работающих на химических и фармацевтических производствах.

5. Условия воздействия гепатотоксикантов.

Вещества, обладающие свойствами гепатотоксикантов, могут действовать на человека, как в быту, так и в производственных условиях. В быту наиболее частыми причинами интоксикации являются средства бытовой химии (хлорированные углеводороды, соли меди, желтый фосфор), растительные яды

(микотоксины), обычные лекарственные средства, передозировка которых, либо повышенная чувствительность, могут привести к поражению органа (ацетаминофен, салицилаты и т.д.). Отравление ядовитыми грибами всё ещё частая причина острых токсических поражений печени. Афлатоксины, заражая пищевые продукты, могут вызывать как острые гепатопатии, так и провоцировать развитие неоплазмы. Особенно высокой гепатотоксичностью обладают яды, содержащиеся в бледной поганке (аманитин и фаллоидин). Пищевое отравление этим грибом, как правило, заканчивается летальным исходом вследствие острой печеночной недостаточности. Среди алкалоидов, содержащихся в пищевых продуктах, наибольшей гепатотоксичностью обладают вещества из группы пирролизидина.

Целый ряд широко используемых инсектицидов из группы хлорированных ароматических углеводородов в высоких дозах вызывают поражение печени. Патология может развиваться вследствие приёма пищи контаминированной инсектицидами, случайной или преднамеренной бытовой интоксикации. Описаны случаи поражения печени ДДТ (пострадавший принял 6г вещества), паракватом (принято около 20г вещества). Интоксикации закончились летальным исходом. На вскрытии выявлены центрлобулярный некроз печени, деструкция внутрипеченочных желчных ходов, холестаз. Некоторые вещества упомянутой группы (ДДТ) после воздействия длительно сохраняются в организме, вызывая вялотекущую патологию.

Наиболее частыми причинами острых гепатопатий в производственных условиях являются интоксикации дисульфидом углерода (CS_2), хлороформом, трихлорэтаном, дихлорэтаном, толуолом, другими органическими растворителями. В целом следует отметить, что благодаря деятельности контролирующих служб, количество острых производственных гепатопатий неуклонно уменьшается.

В ходе обследования типографских рабочих, имевших длительный контакт с толуолом, у большой группы лиц выявлена патология печени, проявлявшаяся явлениями умеренного стеатоза и повышением активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в плазме крови. Длительное действие смесей растворителей может стать причиной поражения печени в производственных условиях. У обследованных рабочих, контактирующих с красителями, лаками и другими изделиями, в состав которых входят органические растворители (смесь ароматических и алифатических углеводородов - уайт спирт, ксилол, петролейный эфир, толуол, метилэтилкетон), выявлялось умеренное повышение активности АЛТ и АСТ в плазме крови. При выборочной биопсии обнаружены явления умеренного стеатоза, очаги некротических изменений, расширение портальных ходов, фиброз.

6. Факторы, влияющие на гепатотоксичность

Различные факторы влияют на гепатотоксичность, главным образом, модифицируя способность печени метаболизировать ксенобиотики. Результат этой модификации определяется двумя обстоятельствами. Во-первых, образуются ли в ходе биопревращения ксенобиотика токсичные продукты. Во-вторых, усиливает или угнетает рассматриваемый фактор интенсивность метаболизма. В частности индукторы микросомальных ферментов, активируя цитохром-Р450-зависимые оксидазы (и другие оксидазы смешанной функции), могут способствовать усиленному образованию токсичных продуктов биоактивации гепатотоксичных ксенобиотиков. Наиболее известный индуктор, среди постоянно используемых человеком, - этанол. Такими же свойствами обладают производственные и экотоксиканты: 1,1,1-трихлорэтан, синтетические стероиды, полигалогенированные ароматические углеводороды (включая ДДТ), полигалогенированные бифенилы, ТХДД, алдрин, гексахлорбензол, линдан, хлордан и т.д.

Хронический приём алкоголя повышает токсичность четырёххлористого углерода, трихлорэтилена, метилхлорида, винилхлорида, ксилола, стирола, сероуглерода, магния, ртути, ряда других веществ как у человека, так и у экспериментальных животных. Однако одновременное назначение этанола в высоких дозах и трихлорэтилена или метилхлорида сопровождается снижением их токсичности. Это обусловлено тем, что ферментные системы, метаболизируя метанол, выключаются из процесса биотрансформации токсикантов, в ходе которой происходит образование их токсичных метаболитов. Одновременное назначение этанола с ксилолом, стиролом, толуолом повышает содержание последних в крови. Некоторые вещества, аналогично дисульфидраму, угнетают скорость метаболизма этанола (ингибиторы альдегиддегидрогеназы). В результате в организме накапливается ацетальдегид, вызывающий сильную головную боль, тахикардию, покраснение кожных покровов, иногда коллапс. Алкогольдегидрогеназа угнетается амидами жирных кислот, дитиокарбаматами, карбаматами, цианамидом, нитрогликолями, оксимами, сероуглеродом, диметилформамидом. Технические жидкости вмешиваются в метаболизм, существенно изменяя токсикокинетические и токсикодинамические характеристики друг друга (см. раздел "Коергизм"). Поскольку результаты взаимодействия в значительной мере определяются условиями (соотношением доз, временным фактором), последствия интоксикации смесями веществ в каждом конкретном случае будут различными.

Наряду с химическими, гепатотоксичность модифицируется и другими факторами. К числу таких относятся:

1. Состояние питания: кальций, медь, железо, цинк, магний, - необходимы для реализации функций ОСФ. Их дефицит существенно подавляет активность микросомальных ферментов. Аналогичным образом действует дефицит витаминов (аскорбиновой кислоты, токоферола, витаминов комплекса В), голодание. Диета с низким содержанием белка повышает токсичность многих ксенобиотиков.
2. Возраст: в тканях новорожденных метаболизм ксенобиотиков проходит с меньшей интенсивностью, чем в тканях взрослых. Повышение токсичности многих веществ в пожилом возрасте не связано с интенсивностью метаболизма. Решающую роль здесь играют такие явления, как снижение скорости кровотока, нарушение механизмов экскреции ксенобиотиков и т.д.
3. Генетические факторы: ОСФ и другие ферменты, участвующие в метаболизме чужеродных веществ существуют в нескольких изоформах, их соотношение детерминировано генетически. Отсюда значительные различия в чувствительности индивидов к ксенобиотикам (см. выше).
4. Физическая активность, различные привычки (курение) оказывают влияние на активность ОСФ.

5. Биологический вид: закономерности, выявленные на одном виде экспериментальных животных, далеко не всегда справедливы для человека.

7. Краткая токсикологическая характеристика отдельных гепатотоксикантов

7.1. Токсины бледной поганки

Представители группы *Amanita phalloides* (бледная поганка) являются причиной более 50% случаев отравления грибами. 95% отравлений заканчивается летальным исходом. Более 40 лет назад Wielands, а позже Faulstich (1978) установили структуру токсинов, ответственных за развитие тяжелого поражения. Ими оказались, по крайней мере, семь гептапептидов (фаллотоксины) и восемь циклических октапептидов (аматоксины) (рисунк 1). Последние относятся к числу наиболее токсичных из известных природных ядов.

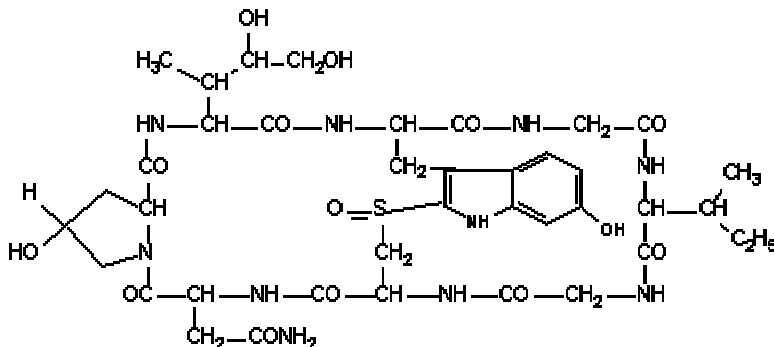


Рисунок 1. Строение α -аманитина

Аматоксины являются ингибиторами ядерной РНК-полимеразы В. Угнетая активность фермента, токсины нарушают синтез белка в клетках на этапе транскрипции. Это в свою очередь становится причиной многочисленных биохимических нарушений в пораженных клетках (см. выше), прекращения процесса клеточного деления и некроза клеток. Особенно страдают активно делящиеся клетки, подвергающиеся массивному воздействию токсинов. К числу таких, прежде всего, относятся клетки эпителия желудочно-кишечного тракта, печени и в меньшей степени почек. Развивающиеся при интоксикации патологические изменения включают некроз слизистой кишечника, центрлобулярный некроз печени по типу "острой желтой атрофии", некроз эпителия проксимальных отделов канальцев почек. Признаки отравления, как правило, развиваются спустя 6 - 24 часа после потребления грибов. В скрытом периоде происходит проникновение токсина в клетки, взаимодействие его с ферментом и блок синтеза информационной РНК.

Первыми симптомами являются тошнота, рвота и профузный холеро-подобный понос, продолжающийся до суток. Если врач обеспечивает поддержание водно-электролитного баланса (введение до 9 литров жидкости в сутки) возможно временное улучшение состояния. Затем появляется желтуха, признаки острой печеночной (а иногда и почечной) недостаточности, развивается кома и смерть на 4 - 7 суток. В случае несмертельных поражений выздоровление растягивается на три и более недели. Лечение пострадавших симптоматическое. В последнее время показано позитивное влияние на течение интоксикации α -липоевой кислоты (тиоктановая кислота).

7.2. Дихлорэтан

Дихлорэтан (хлористый этилен, $\text{ClCH}_2\text{-CH}_2\text{Cl}$) применяется в качестве растворителя лаков, красок и т.д. Это бесцветная, практически не растворяющаяся в воде, достаточно летучая жидкость (температура кипения $83,7^\circ$) со своеобразным запахом. Пары дихлорэтана (ДХЭ) примерно в 3,5 раза тяжелее воздуха.

Отравление может наступить при поступлении ДХЭ через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и кожные покровы. Картина тяжелой интоксикации развивается при приеме per os 20 мл и более вещества, либо при 30-минутной ингаляции паров дихлорэтана в концентрации 200 г/м^3 . Предельно допустимое содержание ДХЭ в воздухе - $1 \cdot 10^{-2} \text{ г/м}^3$.

Попав во внутренние среды организма, ДХЭ достаточно быстро исчезает из крови, накапливаясь в печени и тканях, богатых липидами. Однако вещество здесь не депонируется и в течение нескольких дней полностью исчезает из организма. В печени, почках, легких и некоторых других органах дихлорэтан подвергается метаболическим превращениям при участии, в основном, цитохром-Р-450-зависимых оксидаз, и глутатион-S-трансфераз. Промежуточные продукты метаболизма вещества обладают высокой реакционной способностью. С их действием на молекулы-мишени и активацией свободно-радикальных процессов связывают механизм действия ДХЭ на паренхиматозные органы (см. выше). Основными конечными метаболитами токсиканта являются тиодиксусная кислота, тионилдиксусная кислота, соединение хлоруксусной кислоты с цистеином.

Продолжительность скрытого периода при ингаляционных поражениях составляет 1 - 12 часов. При приеме вещества внутрь отравление развивается бурно. Быстро появляются боли в животе и неукротимая рвота с примесью крови, признаки наркотического (неэлектrolитного) действия вещества (вплоть до комы).

Через 2 - 3 дня появляются симптомы, указывающие на повреждение печени и почек: желтуха, в крови повышенное содержание билирубина, увеличение активности аминотрансфераз, в моче - белок, эритроциты, цилиндры.

При исследовании в пораженных гепатоцитах отмечается повреждение клеточных органелл: шероховатого эндоплазматического ретикулума (нарушение синтеза белка), гладкого эндоплазматического ретикулума (нарушение детоксицирующей функции печени), митохондрий (нарушение клеточного дыхания), лизосом (активация процессов аутолиза).

Специфических противоядий ДХЭ нет. Помимо общетерапевтических мероприятий, применяемых при острых интоксикациях вообще, и токсических гепатопатиях в частности, рекомендуют использовать

антиоксиданты (ретирилпальмитат - 400000ЕД ежедневно в течение 4 суток; левамизол - 10 - 50 мг/кг; токоферол) и вещества, связывающие промежуточные продукты метаболизма ДХЭ (унитиол - 5 мл 5% раствора 2 - 4 раза в сутки, внутримышечно; ацетилцистеин - 5% раствор, до 400 мл в сутки).

8. Изучение гепатотоксичности ксенобиотиков

Гепатотоксичность вещества устанавливается в ходе классических острых, подострых и хронических токсикологических экспериментов. Применяемые при этом тесты ни чем не отличаются от таковых, используемых при диагностике заболеваний печени у человека, но должны учитывать особенности токсического действия изучаемого соединения.

При этом необходимо иметь в виду, что патогенез острого и хронического поражений печени одним и тем же токсикантом может быть различным. Поэтому выбор тестов не должен осуществляться исходя исключительно из представлений о механизме острого токсического действия ксенобиотика.

Совершенствование методов выявления гепатотоксичности также осуществляется в эксперименте. Наиболее часто, в качестве модельного вещества, для определения пригодности нового теста, используют винилхлорид. Это вещество, имея пологую кривую гепатотоксичности, действуя в минимальных дозах вызывает изолированное поражение печени.

8.1. Определение активности энзимов в плазме крови.

Повышение активности в плазме крови таких энзимов, как аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), трансферазы гамма-глутаминовой кислоты (ТГГК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) свидетельствует о нарушении целостности гепатоцитов и является надежным индикатором острых поражений печени. Активность АЛТ и АСТ в большей степени отражают состояние проницаемости мембран гепатоцитов, чем функциональное состояние органа. Повышение уровня энзимов в крови, как правило, свидетельствует о некрозе печеночной ткани. Кроме того, уровень активности этих ферментов определяется целым рядом дополнительных условий, в частности, характером питания, наличием инфекционного процесса. Активность обоих ферментов может повышаться при патологии сердца, мышечной ткани, лёгких. Более надежным свидетелем печеночной патологии является изменение отношения АЛТ/АСТ. Увеличение коэффициента выше 1,6 обнаруживается, в частности при центрлобулярном жировом перерождении печени, наблюдаемом при интоксикациях многими веществами (толуолом, дихлорэтаном, алкоголем и т.д.)

ТГГК - специфичный для печени энзим и чувствительный индикатор её состояния. Повышение активности ТГГК также отмечается при отравлении самыми разными токсикантами. Однако на практике выявляется высокий процент ложноположительных реакций.

Уровень ЛДГ, хотя и отражает состояние печени, однако не является специфическим признаком её поражения, так как подъём активности отмечается при заболеваниях сердца, мышц, лёгких и др.

При подострых и хронических интоксикациях активность энзимов может повышаться лишь транзиторно. Кроме того, постепенно развивающееся уменьшение объёма печеночной паренхимы может не сопровождаться изменением активности ферментов. Так, в терминальном периоде заболевания печени массовая гибель гепатоцитов, сопровождающаяся ухудшением состояния экспериментального животного, может протекать на фоне снижения активности энзимов в плазме крови. Указанные обстоятельства заставляют с осторожностью относиться к трактовке получаемых результатов.

К числу наиболее распространённых тестов, позволяющих выявить холестатическое действие веществ, можно отнести определение активности щелочной фосфатазы и билирубина в плазме крови (прямого и непрямого). Однако оба теста не являются специфичными индикаторами токсического поражения органа. Так, активность щелочной фосфатазы повышается и при патологии костной системы. Повышение билирубина чаще сопутствует острому инфекционному поражению печени. Специфичным индикатором повреждения желчных путей является активность 5-нуклеотидазы. Однако и этот тест не специфичен для химической патологии.

8.2. Функциональные пробы

8.2.1. Оценка метаболической активности печени

Надежными являются методы прямого измерения активности энзимов, принимающих участие в метаболизме ксенобиотиков, в гомогенате органа лабораторных животных, в различные сроки после введения исследуемого вещества.

С помощью неинвазивных методов исследования информация о состоянии метаболической активности печени может быть получена при постановке клиаренс-тестов. Эти тесты позволяют выявить острые и подострые поражения печени. Оценке подлежит клиаренс индоцианин-зелёного, антипирин, кофеина, фенацетина, ионных красителей, желчных пигментов. В случае поражения винилхлоридом определение клиаренса индоцианин-зелёного и желчных кислот позволяют выявить дисфункцию печени на самых ранних стадиях процесса. В эксперименте показана дозовая зависимость между количеством введённого винилхлорида и понижением скорости выведения из организма индоцианин-зелёного. Весьма полезным для установления прогноза исхода интоксикации в терминальной стадии печеночной недостаточности является аминопириновый дыхательный тест. При участии оксидаз смешанной функции (ОСФ) аминопирин деалкилируется, а затем отщепившийся радикал подвергается окислению. Вводя в организм животного меченый по углероду аминопирин, а затем, измеряя в течение 2 часов количество $^{14}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе, можно в динамике, повторно количественно оценивать состояние метаболизирующей функции печени.

Возможны и другие методы оценки состояния метаболизирующих свойств печени. Например, с этой целью определяют скорость элиминации эндогенных веществ, таких как d-галактоза, 6-гидроксикортизол.

Определение уровня желчных кислот в плазме крови не требует при оценке экскреторных функций введения экзогенных веществ. Результат измерения конъюгатов холевой кислоты и холиглицина может рассматриваться как индикатор экскреторной функции печени. Чувствительность метода близка методу определения активности трансаминазы гамма-глутаминовой кислоты (ТГГК).

Содержание конъюгатов холевой кислоты и активность щелочной фосфатазы являются наиболее специфичными тестами функционального состояния печени. Они хорошо коррелируют с другими показателями состояния органа. Так, уровень желчных кислот в плазме крови чувствительно реагирует на поражения печени, вызванные спиртами, винилхлоридом.

При хроническом воздействии токсикантов, хроническая патология печени нередко сопровождается разрастанием соединительной ткани (фиброз). По этой причине уровень билирубина и желчных кислот достаточно хорошо отражает глубину субхронических и хронических поражений печени, в то время как активность энзимов в плазме - острых поражений.

8.2.2. Оценка синтетической активности печени

В печени осуществляется синтез многих, циркулирующих в крови веществ. Их содержание является косвенным показателем синтетической активности органа. Наиболее часто определяют альбумины, протромбин, холестерол, транспортные белковые молекулы, например, трансферин. Следует отметить, что печень имеет огромный резерв синтетических функций и вследствие этого лишь при очень существенном дефиците массы паренхимы органа следует ожидать изменение показателей.

8.3. Структурные исследования

Функциональные исследования высоко специфичны, но, как правило, мало чувствительны при выявлении патологии печени на ранних стадиях её развития. Методы изучения морфологии органа лишены этих недостатков. Однако следует учитывать, что результаты морфологических исследований также не всегда легко интерпретировать, поскольку в органе, в ответ на действие различных этиологических факторов, развивается относительно небольшое количество типичных патологических изменений.

9. Принципы выявления токсических гепатопатий у человека

Установление факта острого повреждения печени ксенобиотиком, как правило, не является сложной задачей. Выявление скрытых форм патологии печени, связанных с подострым и хроническим действием гепатотоксикантов порой оказывается чрезвычайно сложным.

С помощью используемых проб порой бывает сложно отличить поражения печени с асимптоматическим течением от нормы. В целом ряде случаев, выявляемые минимальные отклонения, являются следствием некогда случившегося поражения, нарушений в диете, приёма алкоголя и т.д.

9.1. Острые гепатопатии химической этиологии.

При остром поражении некоторыми хорошо известными гепатотоксикантами (четырёххлористый углерод, жёлтый фосфор, токсины бледной поганки, ацетаминофен) отчетливо прослеживаются три периода течения интоксикации: острых гастро-интестинальных и неврологических проявлений; мнимого благополучия; выраженного поражения печени, часто сопровождающегося поражением почек. Однако в большинстве случаев чётко очерченные стадии в течении процесса не выявляются.

Основой диагностики гепатопатий химической этиологии является тщательно собранный анамнез. В ходе беседы уясняются особенности профессиональной деятельности обследуемого, какими лекарственными средствами он пользуется, с какими химическими веществами контактирует в быту, не злоупотребляет ли алкоголем. Следует выяснить, не было ли ранее заболеваний печени, не страдает ли больной или его родственники аллергиями, нет ли гиперчувствительности к каким либо факторам окружающей среды. При решении экспертных вопросов следует иметь в виду, что чаще причинами поражения печени являются факторы нехимической природы (вирусной, бактериальной, грибковой, рикетсиозной, паразитарной), а также заболевания желчных путей, новообразования и др. В этой связи сбор анамнеза и выявление химического фактора, как причины патологии, требует особого внимания, поскольку профиль выявляемых биохимических изменений, как правило, отражает лишь картину морфологических процессов, проходящих в органе. Гепатоцеллюлярные нарушения, сопровождающиеся некрозом ткани, напоминают вирусный гепатит, как в клиническом, так и лабораторно-диагностическом отношении. Этот тип поражения органа проявляется недомоганием, тошнотой, рвотой, желтухой. Биохимическими методами выявляются повышение активности в плазме крови аминотрансфераз (АСТ, АЛТ), понижение в крови уровня плазменных факторов свертывания крови. Важными диагностическими тестами являются определение содержания билирубина в плазме крови и протромбинового времени.

Диффузная паренхиматозная дегенерация органа с минимальным некрозом гепатоцитов, наблюдаемая, например, при интоксикации саллицилатами, сопровождается синдромом, напоминающим безжелтушные формы гепатита.

Холестатические поражения печени клинически манифестируются желтухой, кожным зудом. В крови определяется умеренное повышение активности аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, холестерина. Гепатоканаликулярная и каналикулярная формы холестатической желтухи различаются морфологией патологического процесса и биохимическими проявлениями. При гепатоканаликулярной форме (вызывается, например, аминазином) уровень щелочной фосфатазы в плазме крови может повышаться более чем в три раза, существенно увеличивается содержание холестерина в крови. Каналикулярная желтуха не сопровождается выраженными изменениями биохимических показателей крови.

Лихорадка, сыпь, эозинофилия обычно ассоциируются с поражениями печени, развивающимися вследствие гиперчувствительности к токсиканту (идиосинкразия). Типичная реакция гиперчувствительности к ксенобиотикам (фенитоин, сульфониламиды, аминоксаллициловая кислота и т.д.) сопровождается проявлениями, напоминающими сывороточную болезнь: лихорадкой, сыпью, лимфаденопатией, лимфоцитозом с появлением в крови "атипичных" форм лимфоцитов.

9.2. Подострые и хронические токсические гепатопатии

Выявление нарушений функций печени, развивающихся вследствие длительного действия токсикантов, особенно в начальном периоде развития патологического процесса, является сложной задачей. Особенно трудно выявлять, индуцированные токсикантами новообразования печени. Эти задачи могут быть успешно решены лишь в специализированных учреждениях с использованием современных методов диагностики.

9.3. Выявление гепатотоксичности в популяции лиц, контактирующих с опасными химическими агентами.

Программы, предназначенные для обеспечения контроля лиц, контактирующих с гепатотоксикантами, как и все скрининговые программы, должны строиться в соответствии с определёнными принципами. Обследования следует проводить выборочно, причем под особым контролем должны находиться лица, относящиеся к группе риска. Применяемые методы обследования должны быть надежными, информативными и обеспечивать выявление повреждений органа до его отчётливой манифестации. Риск для здоровья обследуемого и стоимость метода по его оценке должны быть соизмеримыми. Важнейшим элементом программы является перманентность наблюдения. Основная цель обследования - идентификация латентных форм патологии органа и предотвращение необратимого его поражения.

Однако, как уже указывалось, попытка применения существующих методов исследования состояния печени для массового обследования людей сталкивается с серьёзными трудностями. Так, в отдельных исследованиях показано, что у 30% рабочих химических предприятий при отсутствии симптомов заболевания печени при обследовании с помощью биохимических методов выявляются отклонения от нормы. В этой связи, некоторые специалисты не склонны рассматривать отклонения как достоверные, если получаемые значения менее чем в два раза отличаются от среднестатистических. Подчас такой подход приводит к игнорированию начальных форм поражения. Другие причины диагностических ошибок - использование недостаточно специфичных, дающих большой процент ложноположительных ответов, либо малочувствительных тестов, не выявляющих патологию. Вместе с тем, значение плановых массовых обследований на производствах из года в год растёт. Увеличивается и цена допущенной ошибки. Не выявление патологии там, где она есть, означает продолжение воздействия токсиканта, а стало быть, потенциальную инвалидизацию сначала наиболее чувствительных, а затем и других лиц, контактирующих с профессионально вредным фактором. Напротив, гипердиагностика может стать поводом для проведения необоснованных, бесполезных, дорогостоящих мероприятий по санации производства, отстранения от работы здоровых лиц, назначения сложных, а иногда и небезопасных методов углублённого обследования.

Мировая практика формулирует ряд требований к проведению рассматриваемых мероприятий, позволяющих снизить вероятность ошибок:

1. Перед проведением анализа необходимо по возможности строго очертить понятие нормы для обследуемой популяции. Размер обследуемой группы должен быть не менее 150 - 200 человек.
2. Для оценки состояния органа необходимо использовать одновременно несколько тестов. Значимыми следует считать показатели, отклоняющиеся от нормы более чем в 2 раза.
3. Исследование следует начинать с проведения высокоспецифичных проб. Вслед за высокоспецифичными, необходимо провести высокочувствительные анализы, с тем чтобы выделить истинные позитивные результаты. Бессистемное применение батареи тестов существенно различающихся по чувствительности и специфичности увеличивает вероятность ложно-позитивных результатов.
4. С целью дальнейшей минимизации ложно-позитивных результатов, в выделившейся группе возможно провести дополнительные исследования.

Так, рекомендуется начинать исследование с определения активности щелочной фосфатазы и содержания желчных кислот в плазме крови. У лиц, с отклонениями от нормы по этим показателям, целесообразно оценить активность ТГГК и величину клиаренса индоцианинового зелёного. Позитивные результаты на обоих этапах работы являются поводом для углублённого обследования лиц специалистами, с использованием, в случае необходимости, методов изучения биоптатов. Примерный план проведения обследования представлен в таблице 4.

Таблица 4. Примерный план проведения обследования лиц, контактирующих с потенциальными гепатотоксикантами.

А. Первичное обследование

Цель: Выявить состояния, увеличивающие риск производственных поражений органа

1. Получение информации о перенесённых ранее заболеваниях печени. Отношение к приёму алкоголя.
2. Сбор профессионального анамнеза. Оценка возможных предшествующих воздействий гепатотоксикантов на производстве и в быту.
3. Обследование с целью выявления манифестных форм хронической патологии печени.
4. Анализ мочи на содержание уробилиногена и желчных пигментов.
5. Определение активности АСТ и ТГГК в плазме крови.
6. Определение активности щелочной фосфатазы и содержания билирубина в плазме крови.
7. Углублённое обследование лиц, с выявленными отклонениями от нормы.

Б. Периодические обследования

Цели: Выявить повреждения печени, связанные с действием токсикантов

1. Сбор анамнеза
2. Определение активности щелочной фосфатазы и содержания желчных кислот в плазме крови
3. Определение активности ТГГК в плазме крови; оценка клиаренса индоцианинового зелёного
4. Отстранение от работы, связанной с воздействием потенциальных токсикантов, лиц, с выявленными отклонениями исследованных показателей от нормы
5. Углублённое обследование лиц, отстраненных от работы
10. Заключение

Поражение печени по-прежнему одно из наиболее частых последствий перенесённых острых, подострых и хронических интоксикаций. Высокая чувствительность органа к токсикантам обусловлена его анатомо-физиологическими особенностями. Печень - основной орган, где происходит метаболизм чужеродных соединений. Результат метаболизма - образование веществ, легко выделяющихся из организма. Однако в ходе биопревращений часто образуются реактивные промежуточные продукты, которые и повреждают ткань печени.

В зависимости от строения токсиканта, дозы, кратности введения, длительности воздействия формы поражения различны. Действуя в высокой дозе, ксенобиотик может вызвать острое цитотоксическое поражение печени. Интермитирующее, подострое, хроническое действие токсиканта сопровождается формированием вяло текущего процесса, приводящего нередко к фиброзу, рубцовым изменениям в органе, новообразованиям.

Выявление острых форм гепатотоксического действия возможно с помощью широко используемых методов исследования. В большинстве случаев они оказываются достаточно информативными. Важная задача, стоящая перед токсикологией - разработка чувствительных, специфичных тестов, позволяющих выявлять начальные и вяло текущие, не манифестирующиеся формы токсических гепатопатий. Только широкое внедрение в практику таких методов и их корректное использование может обеспечить профилактику заболеваний, обусловленную профессиональным контактом с токсикантами.

ГЛАВА 7.7. НЕФРОТОКСИЧНОСТЬ

Нефротоксичность - это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем вызывать структурно-функциональные нарушения почек. Нефротоксичность может проявляться, как вследствие прямого взаимодействия химических веществ (или их метаболитов) с паренхимой почек, так и опосредованного действия, главным образом через изменения гемодинамики, кислотно-основного равновесия внутренней среды, массивное образование в организме продуктов токсического разрушения клеточных элементов, подлежащих выведению через почки (гемолиз, рабдомиолиз).

В строгом смысле **нефротоксикантами** могут быть названы лишь те, непосредственно действующие на почки вещества, к которым порог чувствительности органа существенно ниже, чем у других органов и систем. Однако на практике часто нефротоксикантами называют любое вещество, обладающее нефротоксичностью.

В таблице 1 представлен перечень токсикантов с относительно высокой прямой нефротоксической активностью. Перечень известных веществ, оказывающих опосредованное токсическое действие на почки значительно шире и включает более 300 наименований.

Таблица 1. Вещества, вызывающие острые и хронические формы повреждения почек

Металлы	Технические жидкости	Разные
Мышьяк	Четыреххлористый углерод	
Висмут	Дихлорэтан	Паракват
Кадмий	Трихлорэтилен	Микотоксины (в том числе токсины бледной поганки)
Медь	Хлороформ	Силикон
Золото	Толуол	Кантаридин
Свинец	Стирол	Рицин
Литий	Метанол	Пенициллин
Ртуть	Этиленгликоль	Производные ацетилсалициловой кислоты
Платина	Дизтиленгликоль	Цефалоридин
Серебро	Эпихлоргидрин	Пуромицин
Талий	Эфиры этиленгликоля	Аминонуклеозид
Хром	Гексахлор-1,3-бутадиен	
	Дихлорацетилен	
	Сероуглерод	
	Диоксан	

Вследствие лекарственной терапии, случайных или преднамеренных интоксикаций, работы или проживания в условиях зараженной среды значительная часть населения постоянно подвергается воздействию потенциальных нефротоксикантов. Количественно определить вклад каждой из указанных причин в общее число регистрируемых хронических и острых нефропатий в настоящее время не представляется возможным.

По некоторым данным в мире более 10 миллионов человек имеют постоянный контакт с веществами, обладающими выраженной нефротоксичностью. Частота регистрируемых случаев острой почечной недостаточности около 2 на 1000. По мнению некоторых исследователей примерно 20% - следствие химических воздействий, главным образом, лекарственных средств. Лекарства являются и основной, среди прочих химических факторов, причиной хронических нефропатий. По некоторым данным только злоупотребление ненаркотическими анальгетиками лежит в основе трети случаев хронической почечной недостаточности. При этом следует отметить, что в половине выявляемых случаев заболеваний органа, причины патологии остаются не выясненными. Не исключено, что патология почек возникает вследствие хронических воздействий экополлютантов, производственных вредностей (тяжелых металлов, органических растворителей и др.) значительно чаще, чем принято считать. Отдельные наблюдения подтверждают это предположение. Так, среди лиц, постоянно подвергающихся воздействию тяжелых металлов (свинца, кадмия) частота смертей от почечной недостаточности достоверно выше среднестатистической.

1. Анатомио-физиологические особенности органа

Почки чрезвычайно сложный орган, как в плане морфологии, так и физиологии, основные функции которого - экскреция продуктов метаболизма из организма (см. раздел "Выделение ксенобиотиков из организма (экскреция)"), регуляция водного и электролитного баланса. Среди других функций: синтез ферментов метаболизма витамина D, ренина, принимающего участие в образовании ангиотензина, альдостерона, синтез некоторых простогландинов и т.д.

Парный орган, весящий всего около 300 граммов (менее 1% от массы тела человека), получает около 25% минутного объема сердечного выброса крови. Кровь доставляется к нефронам - функционально-морфологическим единицам почек (около 10^6 нефронов на почку). Каждый нефрон состоит из сосудистой части - приносящей артериолы, капиллярного клубочка, выносящей артериолы; боуеновой капсулы, окружающей сосудистый клубочек, в которую осуществляется фильтрация первичной мочи; системы извитых и прямых канальцев (U-образная структура прямого отрезка почечного канальца называется петлей Генле), связывающих боуенову капсулу с соединительной и собирательной трубкой, по которым моча выделяется из органа.

Капиллярный клубочек, окруженный капсулой Боумена, это сложно организованный молекулярный фильтр, задерживающий вещества с молекулярной массой более 40000 дальтон (большинство белков крови), но проницаемый для большинства ксенобиотиков и продуктов метаболизма эндогенных веществ ("шлаки"). Примерно 20% объема плазмы крови, протекающей через почки, переходит (отфильтровывается) из капилляров в капсулу клубочка (180 литров в сутки). Из образующегося фильтрата, в канальцах, обратно

резорбируется в кровь большая часть воды, хлорид натрия, другие соли. Благодаря происходящим процессам, выделяющиеся с мочой токсиканты значительно концентрируются в определённых отделах нефрона (главным образом проксимальных отделах почечных канальцев) и интерстициальной ткани почек.

В области сосудистого полюса почечного клубочка в месте впадения в него приносящей артериолы располагается околоклубочковый (юктагломерулярный) комплекс. Он формируется из собственно юктагломерулярных эпителиоидных клеток, образующих манжету вокруг приносящей артериолы, специализированных клеток "плотного пятна" дистального отдела почечного канальца (залегают в области его анатомического контакта с полюсом клубочка) и мезангиальных клеток, заполняющих пространство между капиллярами. Функцией комплекса является контроль артериального давления и водно-солевого обмена в организме, путем регуляции секреции ренина (регуляция АД) и скорости кровотока по приносящей почечной артериоле (регуляция объема поступающей крови в почку). Показано участие комплекса в патогенезе токсических поражений почек (см. ниже).

Поскольку основные транспортные и концентрационные процессы происходят в проксимальном отделе канальцев, именно этот отдел нефрона наиболее часто повреждается токсикантами. Кроме того, процессы, проходящие в проксимальных отделах почечных канальцев (реабсорбция воды, секреторные процессы), чрезвычайно энергоёмки, что делает их весьма чувствительными к ишемии.

В петле Генле осуществляется дальнейшая концентрация мочи благодаря механизму контротока. Некоторые вещества, например анальгетики, мочевина, не реабсорбируются в проксимальных канальцах, но интенсивно концентрируются в петле Генле. Наивысшая концентрация таких веществ отмечается в мозговом слое почек.

Далее концентрация мочи, вследствие реабсорбции воды и солей, происходит в дистальном отделе канальцев и собирательной трубке. Этот процесс находится под контролем антидиуретического гормона. В этом же отделе нефрона, благодаря секреции из крови избытка либо водородных, либо амонийных ионов, формируется pH мочи.

Еще одной важной функцией почек, сказывающейся на нефротоксичности ряда веществ, является их способность метаболизировать ксенобиотики. Хотя интенсивность метаболизма значительно ниже, чем в печени, здесь определяются те же ферментативные системы, и напряженность биотрансформации достаточно высока. Уровень активности цитохром-Р450-зависимых оксидаз наивысший в прямом отрезке (*pars recta*) проксимального отдела почечных канальцев, области особенно чувствительной к токсикантам. Хотя многие ксенобиотики одновременно метаболизируют с образованием активных радикалов и в печени и в почках, повреждение органа, по всей видимости, обусловлено действием той части общего количества вещества, которая метаболизирует именно в почках.

Близость метаболических процессов, протекающих в печени и почках, обуславливает практически одинаковую чувствительность этих органов ко многим ксенобиотикам (хлорированные углеводороды, токсины бледной поганки, паракват и др.). Преимущественное поражение того или иного органа при интоксикации во многом обусловлено тем, каким путем вещество поступило в организм (ингаляционно, парентерально, через желудочно-кишечный тракт), то есть, какой из органов окажется первым на пути распределяющегося с током крови соединения. Например, при ингаляционном поражении четыреххлористым углеродом в большей степени страдают почки, при приеме вещества *per os* - печень.

Таким образом, высокая чувствительность почек к действию токсикантов определяется:

- высокой интенсивностью почечного кровотока и чувствительностью органа к гипоксии;
- способностью концентрировать ксенобиотики в процессе образования мочи;
- обратной резорбцией части экскретируемых ксенобиотиков в клетки эпителия почечных канальцев;
- биотрансформацией ксенобиотиков, сопровождающейся в ряде случаев образованием высокотоксичных промежуточных продуктов.

2. Характеристика нефротоксического действия

2.1. Механизмы действия

Механизмы нефротоксичности имеют биохимическую, иммунологическую и гемодинамическую природу. Поражение органа многими токсикантами носит смешанный характер.

По мнению некоторых авторов (Наумова В.И., Папаян А.В., 1991) причины острой почечной недостаточности могут быть отнесены к одной из следующих групп:

- преренальные;
- ренальные;
- постренальные.

К числу преренальных причин относятся патологические состояния, приводящие к нарушению гемодинамики, сопровождающейся снижением гемоперфузии почек (гиповолемия, шок и т.д.).

Ренальные причины патологии обусловлены повреждением ткани почек.

Постренальные причины связаны с закупоркой дистальных канальцев нефрона и/или собирательных трубок патологическим секретом либо агрегатами токсических веществ и их метаболитов.

2.1.1. Биохимические механизмы

Механизмы нефротоксического действия ксенобиотиков многообразны и вместе с тем развиваются по достаточно общему сценарию. Прошедший через фильтрационный барьер в клубочках токсикант концентрируется (примерно в 100 раз) внутри канальцев в силу реабсорбции большей части воды, содержащейся в первичной моче (см раздел "Экскреция"). Под влиянием складывающегося при этом градиента концентрации или в силу процессов активной реабсорбции, ксенобиотик поступает в клетки канальцевого эпителия и там накапливается. Нефротоксическое действие развивается при достижении критической концентрации токсиканта в клетках.

В зависимости от физико-химических свойств веществ, происходит их взаимодействие с молекулами-рецепторами (мембранные структуры, ферменты, структурные протеины, нуклеиновые кислоты), входящими в структуру одного из клеточных компартментов: лизосом (аминогликозиды и др.), цитоплазмы (тяжелые

металлы - кадмий), рибосом, гладкого эндоплазматического ретикулума и т.д., что и инициирует развитие токсического процесса.

Для многих органических соединений, этапу их нефротоксического действия предшествует этап их биоактивации проходящий при участии энзиматических, метаболизирующих систем. В механизме нефротоксического действия многих ксенобиотиков (цефалоридин, пуромицин, аминонуклеозид, паракват, четырёххлористый углерод) важную роль играет их способность инициировать процесс образования в клетках свободных радикалов.

2.1.2. Иммунологические механизмы

Нефротоксические процессы иммунного типа, как правило, являются следствием двух основных процессов: (1) отложение в гломерулярных структурах почек комплекса антиген-антитело; (2) образование комплексов антигенов *in situ*, при взаимодействии почечных белков с токсикантом, с последующей атакой на них антител циркулирующих в крови. Поскольку антитела и иммунные комплексы - высокомолекулярные образования, они, как правило, не выявляются за пределами гломерулярного аппарата. В этой связи иммунные механизмы могут приводить к формированию гломерулонефрита (например, мембранозный гломерулонефрит индуцированный солями золота, ртути, d-пенициламином) или острого интерстициального нефрита (производные пенициллина), но не поражения эпителия почечных канальцев.

Точный механизм, с помощью которого токсикант инициирует реакцию гипериммунной реакции, приводящей к поражению почек в большинстве случаев неизвестен. Иногда ксенобиотики проявляют свойства гаптенов (метициллин), формируя некий собственный антиген, либо способствуют выходу в кровь в норме скрытых антигенов. В некоторых случаях гипериммунная реакция может быть следствием поликлональной активации иммунокомпетентных клеток, как это имеет место при нефропатиях, вызываемых золотом, ртутью, пенициламином.

Повреждение почечной ткани происходит путём реализации определённой цепи событий, характерной для развития аллергических или аутоиммунных процессов (см. раздел "Иммунотоксичность").

2.1.3. Гемодинамические механизмы

Нарушения гемодинамики являются частой причиной развития токсических нефропатий.

При остром поражении токсикантом почечных канальцев функции органа могут нарушаться вследствие закупорки просвета канальцев продуктами распада клеток эпителия, ретроградного тока гломерулярного фильтрата, повышения давления в капсуле Боумена, а вследствие этого и крови в капиллярной сети почечного клубочка. Повышение давления крови в почечных клубочках активирует юстагломерулярный аппарат почек, вызывая гиперсекрецию ренина. Местный эффект системы ренин-ангиотензин детерминирует артериолярный предгломерулярный спазм, который влечет за собой, с одной стороны, прекращение (или резкое ослабление) поступления крови в клубочек, приостановку гломерулярной фильтрации, а с другой - ишемизацию почечных канальцев и их вторичный некроз. Повреждение ткани усугубляется выходом в сосудистое русло таких биологически активных веществ как тромбосаны, эндотелин.

В тех случаях, когда объём гломерулярной фильтрации снижается более чем на 70%, эволюция процесса в сторону почечной недостаточности становится необратимой, вероятно вследствие того, что первично неповрежденные нефроны прогрессивно вовлекаются в патологический процесс.

2.2. Проявления токсического действия

Основными проявлениями поражения почек токсикантами являются:

- появление крови в моче (гематурия) вследствие повреждения стенки капилляров клубочков;
 - появление белка в моче более 0,5 г в суточной пробе (протеинурия). Протеинурия может быть гломерулярного происхождения, при этом в моче обнаруживаются преимущественно высокомолекулярные белки (более 40000), и канальцевого - в моче обнаруживаются преимущественно низкомолекулярные белки (менее 40000). Гломерулярная протеинурия указывает на разрушение клубочкового барьера кровь-моча; канальцевая - на повреждение проксимальных отделов почечных канальцев;
 - уменьшение количества отделяемой мочи - менее 600 мл в сутки (олигурия);
 - повышение в плазме крови содержания азотсодержащих низкомолекулярных веществ, таких как мочевины, креатинин, β_2 -микроглобулины и т.д. (азотемия);
 - общий отёк, что в отсутствие сердечной недостаточности или цирроза печени указывает на резкое снижение содержания белка в крови (гипоальбуминемия);
 - гипертензия, развивающаяся вследствие гломерулосклероза.
- Эти проявления комбинируются в определенные синдромы. Основными синдромами, развивающимися в результате острых или хронических интоксикаций являются:
- острая почечная недостаточность, характеризующаяся острым угнетением функций почек с азотемией и, часто, олигурией;
 - хроническая почечная недостаточность - перманентное нарушение функций почек с азотемией, ацидозом, анемией, гипертензией и рядом других нарушений;
 - тубулоинтерстициальный нефрит (острый или хронический) с различными признаками канальцевых дисфункций (протеинурия канальцевого типа, ацидоз мочи, потеря солей, снижение удельного веса мочи и т.д.);
 - нефротический синдром, характеризующийся тяжелой протеинурией (более 3,5 г белка в суточной моче), гипопротеинемией, отёками, гиперлипидемией, гиперлипидурией. Нефротический синдром может быть следствием гломерулонефритов различных типов;
 - быстро прогрессирующий гломерулонефрит, проявляющийся гематурией и олигурией, приводящий к почечной недостаточности в течение нескольких недель.

Вещества, вызывающие формирование отдельных видов нефропатии представлены в таблице 2.

Таблица 2. Отравления, сопровождающиеся токсической нефропатией

Варианты токсической нефропатии	Токсиканты
ОСТРАЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ: 1. Преренальные причины 2. Постренальные причины 3. Ренальные причины А. Острый тубулярный некроз Б. Острый интерстициальный нефрит	- антигипертензивные препараты, мочегонные, слабительные, эрготамин - бутадиион, фторхинолоны, бромкриптин и т.д. - аманитин, фаллоидин; тяжелые металлы (ртуть, хром, мышьяк); галогенированные углеводороды; гликоли (этиленгликоль); гемолитики (стибин, арсин и т.д.); антибиотики (цефалоспорины, аминогликозиды и т.д.); противоопухолевые средства (цисплатин и т.д.). - аллопуринол, цефалоспорины, индометацин, рифампицин и т.д.
ХРОНИЧЕСКАЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ: А. Интерстициальный нефрит; гломерулосклероз Б. Нефротический синдром	- металлы (кадмий, свинец, бериллий, литий); циклоспорин - металлы (ртуть, золото); каптоприл, героин, D-пеницилламин

3. Краткая характеристика отдельных нефротоксикантов

Нефротоксиканты чрезвычайно широко используются в быту и на производстве. Так, органические растворители являются компонентами многочисленных лаков, красок, клеев, чистящих средств, пестицидов и т.д. Широкое применение в повседневной деятельности находят тяжёлые металлы и их соединения. Пути поступления веществ в организм также различны: ингаляционный, чрезкожный, алиментарный. В условиях производства наиболее частыми являются ингаляционные интоксикации. Растворители нередко действуют и через кожу. Для остальной части населения наиболее характерным путём поступления нефротоксикантов в организм является алиментарный, с заражённым продовольствием, напитками.

3.1. Металлы

Многие тяжелые металлы являются выраженными нефротоксикантами, поражение которыми даже в малых дозах приводит к появлению глюкозурии, аминоацидурии, полиурии. При тяжелых отравлениях металлами формируются некротические изменения в почках, развиваются анурия, протеинурия, возможен смертельный исход. В эксперименте, при введении в организм животных малых доз металлов, не вызывающих клинику поражения, их высокая концентрация определяется в лизосомах почечных клеток. Это связывание металлов лизосомами может быть следствием лизосомального эндоцитоза метал-протеидных комплексов, аутофагии поврежденных металлами органелл (например, митохондрий), связывания металлов липопротеидами мембран лизосом. При введении высоких доз токсикантов металлы определяются и в других органеллах клеток.

3.1.1. Свинец

В недалёком прошлом свинец являлся частой причиной острых и хронических нефропатий. В литературе описаны многочисленные случаи некроза канальцевого эпителия вследствие случайного или преднамеренного приёма больших доз солей свинца. Случаи хронической почечной недостаточности регистрировались у лиц, принимавших алкоголь, хранившийся в сосудах, содержавших свинец, у рабочих, постоянно контактирующих со свинец-содержащими веществами, у взрослых, в детстве перенесших острую интоксикацию свинцовыми красителями и т.д. В настоящее время случаи поражения свинцом регистрируются значительно реже.

Хроническая свинцовая нефропатия проявляется прогрессирующим тубулоинтерстициальным нефритом, который характеризуется отсутствием протеинурии и альбуминурии на начальном этапе формирования патологии и обнаруживающим себя при исследовании скорости клубочковой фильтрации. Накопление свинца в ткани почек, особенно в клетках эпителия проксимального отдела канальцев, сопровождается на ранних стадиях заболевания повреждением митохондрий клеток и нарушением абсорбционных функций клеток. Позже в ядрах этих клеток появляются включения, образованные комплексами свинца с кислыми протеинами. Эти внутриядерные тельца, как правило, исчезают по мере прогрессирования патологии. Патологии почек при свинцовой интоксикации часто сопутствуют гипохромная анемия, гипертензия, нейропатия.

С помощью хелатирующих агентов (ЭДТА или димеркаптосукцината) удаётся мобилизовать кумулируемый в тканях свинец и ускорить тем самым его выведение из организма. Содержание свинца в моче пациента более 800 мкг в суточной пробе после внутривенного введения ЭДТА в дозе 0,5 грамм указывает на высокое содержание металла в тканях организма.

3.1.2. Кадмий

Хроническая интоксикация кадмием нередко сопровождается развитием прогрессирующего тубулоинтерстициального нефрита.

Поражения людей, как правило, является следствием потребления загрязнённой пищи или, в производственных условиях, ингаляции пыли, содержащей кадмий. Эпидемиологические исследования среди лиц, профессионально контактирующих с кадмием, позволили выявить высокую частоту почечной патологии. Описаны случаи хронической интоксикации людей, проживающих в регионах с высоким содержанием элемента в воде и почве. Так, в Японии, среди женщин, употребляющих в пищу рис,

произрастающий на почвах с высоким содержанием кадмия, отмечается заболевание (Итаи-итаи), которое проявляется анемией, разрушением костной ткани, нарушением функций почек (поражение эпителия проксимальных канальцев). Заболевание начинается с выделения с мочой специфических низкомолекулярных белков, таких как β_2 -микроглобулины или ретинол-связывающий протеин, а также кадмия, главным образом, в виде комплекса с белком металлотионеином. Связывание кадмия металлотионеином по-видимому позволяет защитить некоторые органы от поражения. В тоже время именно в форме такого комплекса вещество захватывается почками и депонируется в органе (период полувыведения кадмия из организма человека составляет 10 - 20 лет).

У лиц с начальными формами поражения почек концентрация кадмия в моче обычно составляет более 10 мкг на 1 г выделяющегося с мочой креатинина.

При острых интоксикациях кадмием достаточно эффективным средством выведения вещества из организма является ЭДТА-Са,Na. При хронической интоксикации мобилизовать элемент с помощью имеющихся в распоряжении врача комплексообразователей пока не удаётся.

Механизм токсического действия металла окончательно не установлен. По-видимому, он заключается во взаимодействии металла с карбокси-, amino-, SH-группами белковых молекул, нарушении функций структурных белков и энзимов. Показано также, что, Cd во многом следует метаболическим путям Zn^{+2} и Ca^{+2} . Например, захватывается клетками с помощью механизмов, предназначенных для захвата Zn. Полагают, что на молекулярном уровне механизм токсического действия Cd также может быть обусловлен его способностью замещать Zn и другие двухвалентные ионы в биологических системах. Дефицит цинка модифицирует характер распределения Cd и существенно потенцирует его токсичность.

3.1.3. Ртуть

Острая интоксикация некоторыми неорганическими и органическими соединениями ртути сопровождается развитием некроза эпителия проксимального отдела почечных канальцев и почечной недостаточности. Хорошо известно, что приём ртутных мочегонных в малых дозах сопровождается связыванием Hg^{2+} с ферментами клеточных мембран, содержащими сульфгидрильные группы в молекуле и участвующими в реабсорбции натрия, угнетая их активность. Введение препаратов в неоправданно высоких дозах может привести к острому гломерулонефриту с характерной протеинурией и нефротическим синдромом.

Действуя в умеренных дозах, пары и соли ртути могут вызвать различные субклинические формы нарушения функций почек, сопровождающиеся протеинурией, экскрецией с мочой некоторых низкомолекулярных энзимов. У лиц с тяжёлой профессиональной интоксикацией ртутью, как правило, регистрируется хронический гломерулонефрит.

Содержание в моче ртути более 50 мкг на 1 г креатинина, как правило, свидетельствует о поражении почек.

Для ускорения выведения вещества из организма используют различные хелатирующие агенты. Наиболее часто применяют димеркапрол, Д-пеницилламин, димеркаптосукцинат.

3.1.4. Мышьяк

Некроз канальцевого эпителия почек - частое осложнение острого отравления соединениями трехвалентного и пятивалентного мышьяка. Для ускорения выведения мышьяка из организма с успехом применяют хелатирующие агенты из группы дитиолов (2,3-димеркаптопропанол, унитиол и т.д.).

Отравления арсеном (AsH_3) приводит к вторичному поражению почек гемоглобином, выделяющимся в плазму крови, вследствие массивного гемолиза. Острая почечная недостаточность, развивающаяся при этом, является основной причиной гибели отравленных. Применение комплексообразователей при интоксикации этим веществом нецелесообразно.

3.2. Технические жидкости

Целый ряд технических жидкостей, и среди них прежде всего органические растворители, широко используемые в быту и на производстве, являются потенциальными нефротоксикантами. В зависимости от дозы вещества развиваются легкие, сопровождающиеся умеренной протеинурией, средней степени тяжести и тяжелые, протекающие в форме острого канальцевого некроза формы поражения почек.

Нередко поражение почек развиваются у токсикоманов, ингалирующих, с целью получения удовольствия, клеи, красители, содержащие в качестве растворителя толуол. Формирующийся в данном случае симптомокомплекс напоминает синдром Фанкони (глюкозурия, протеинурия, ацидоз и т.д.).

Субхронические и хронические интоксикации углеводородами (бензины) могут стать причиной гломерулонефритов с характерным синдромом Goodpasture (быстро прогрессирующий гломерулонефрит, сопровождающийся периодическими лёгочными кровотечениями и наличием в крови антител к гломерулярной мембране).

В зависимости от типа растворителя в патологический процесс помимо почек часто вовлекаются и другие органы, главным образом печень, кровь, нервная система.

3.2.1. Этиленгликоль

Этиленгликоль - двухатомный спирт (CH_2OH-CH_2OH) - входит в состав различных рецептур антифризов и тормозных жидкостей. Отравления веществом возможны только при приеме его внутрь (в качестве суррогата алкоголя) и приводит к острому поражению почек. Абсолютно смертельная доза для человека - 90 - 100 мл.

Вещество быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте. Наибольшее количество накапливается в печени и почках, где ксенобиотик подвергается биологическому окислению с образованием гликолатов, глиоксалатов, оксалатов, которые, в основном, и инициируют развитие токсического процесса. Период полужизни вещества составляет около 3 часов. В течение 6 часов после приема 100 мл спирта в организме образуется около 70 мл токсических веществ. Сам этиленгликоль и продукты его метаболизма выделяются из организма медленно и определяются в крови около суток.

Действуя целой молекулой этиленгликоль проявляет свойства типичного неэлектролита, оказывая седативно-гипнотическое действие (см. "Нейротоксичность"). Образующиеся в процессе метаболизма альдегиды и органические кислоты (в частности щавелевая кислота) вызывают метаболический ацидоз (в тяжелых случаях - pH крови менее 6,9), угнетение тканевого дыхания, образование в тканях кристаллов нерастворимого в воде оксалата кальция и гипокальциемию. Эти явления лежат в основе поражения внутренних органов особенно чувствительных к изменению свойств внутренней среды и дефициту энергии - ЦНС и почек.

Признаки поражения почек, как правило, развиваются на 2 - 3 сутки интоксикации (вслед за периодом мозговых явлений). В крайне тяжелых случаях отмечается олигурия; в моче определяются эритроциты, белок, кристаллы щавелевокислого кальция. На 8 - 14 сутки при явлениях уремии пострадавшие могут погибнуть. У погибших при вскрытии отмечаются значительные изменения в почках: дегенерация эпителия извитых канальцев, мелкие кровоизлияния в паренхиму органа. В почечной ткани при микроскопии видны кристаллы оксалатов, механически травмирующие орган.

Комплексная терапия отравления среди прочих мероприятий предусматривает раннее введение пострадавшим этилового спирта из расчета до 1г/кг (через рот или внутривенно) с последующим повторным введением вещества в течение 3 - 4 суток. Этим обеспечивается конкурентное угнетение процесса биотрансформации этиленгликоля. В эксперименте, с целью лечения поражения, испытан ингибитор алкогольдегидрогеназы 4-метилпиразол.

4. Оценка нефротоксичности ксенобиотиков

Нефротоксичность веществ оценивается в ходе острых подострых, хронических токсикологических экспериментов. Желательно опыты выполнять на нескольких видах лабораторных животных. В ходе исследования, для оценки функционального состояния почек, используют методы, широко применяемые и в клинической практике.

В ходе скрининга ксенобиотиков с успехом используют такие тесты, как определение плотности мочи, содержание в ней сахара, крови (с помощью индикаторных бумажек) и т.д.

Важно иметь в виду, что ни один из этих тестов не позволяет однозначно судить о развивающейся почечной патологии. В ряде случаев, выявленные нарушения просто отражают физиологические реакции органа на иные неблагоприятные воздействия.

К числу наиболее простых и часто выполняемых исследований, позволяющих более определенно судить о механизме повреждения, относится креатининовый тест. При снижении скорости гломерулярной фильтрации уровень креатинина в плазме крови возрастает. При интерпретации теста необходимо учитывать нелинейный характер зависимости "содержание креатинина - недостаточность фильтрации". Так, проба становится отчетливо положительной при снижении скорости фильтрации более чем на 30 - 50%.

Более чувствительными являются методы определения величины клиренса креатинина, инулина, меченых изотопами ксенобиотиков. Однако эти тесты сложны и не могут быть использованы для проведения рутинных исследований. Более того, на ранних стадиях патологии, когда компенсаторные процессы обеспечивают функционирование органа (повреждено до 50% паренхимы почек), показатели клиренса веществ оказываются просто не информативными.

Появление белка в моче - часто наиболее чувствительный признак токсического повреждения почек. С учетом сказанного ранее, рекомендуют определять в моче содержание двух видов протеинов, высокомолекулярного (например, альбумина), для распознавания гломерулярной патологии, и низкомолекулярного (например, β_2 -микроглобулина, ретинол-связывающего белка), для выявления повреждений проксимальных канальцев.

Изучение соотношения содержания в моче низко- и высокомолекулярных белков позволяет выявить способность токсикантов преимущественно вызывать нефропатии канальцевого или гломерулярного типов.

Появление в моче почечных энзимов свидетельствует о повреждении паренхимы органа. Одним из рекомендуемых тестов на нефротоксичность является определение лизосомальной β -N-ацетилглюкозаминидазы. Активность энзима в почечной ткани высока, он стабилен в моче, имеет высокую молекулярную массу, что исключает возможность его экстраренального происхождения. Указанные обстоятельства обеспечивают надежность теста.

Токсическое повреждение почечной ткани сопровождается появлением в моче её структурных компонентов, обладающих антигенными свойствами. Разработаны методики иммунного определения карбоангидразы, аланинаминопептидазы и т.д. Появление почечных антигенов в моче, как правило, свидетельствует об остром процессе в почках.

5. Выявление токсических поражений почек у человека

Диагностика острых токсических нефропатий основывается на клинических и лабораторных данных.

В ходе плановых обследований лиц, контактирующих с потенциальными нефротоксикантами, для целей диагностики рекомендуют использовать относительно простые исследования, позволяющие выявить протеинурию, энзимию, экскрецию почечных антигенов.

У отравленного необходимо: изучить химический состав мочи; провести её микроскопию; оценить скорость гломерулярной фильтрации по показателям концентрации креатинина, мочевины в крови, клиренса креатинина, инулина, меченых изотопами соединений; определить состояние канальцевых функций (концентрационную способность, протон-выделительную способность, клиренс фосфатов и т.д.). В особо сложных случаях показано радиографическое и радиоизотопное исследование почек, микроскопическое, электронно-микроскопическое, иммунофлуоресцентное изучение биоптатов почек.

В настоящее время, в силу распространённости элементарных гигиенических мероприятий, защищающих человека от массивных воздействий токсикантов, значительно чаще приходится сталкиваться с субклиническими формами почечной патологии химической этиологии, проявляющимися легкой протеинурией, энзимиурей и т.д. Эти почечные эффекты, свидетельствующие о недостаточности мероприятий по профилактике поражения нефротоксикантами на производстве, в ряде случаев

отражающие начальные явления прогрессирующей патологии, возможно выявить лишь с помощью технически сложных приёмов и дорогостоящего прецизионного оборудования.

Большое значение в диагностике токсических нефропатий имеет опрос обследуемого. В ходе опроса необходимо выяснить мог ли или имел ли обследуемый контакт с токсикантами, какими, когда и как долго. При этом следует учитывать, что интоксикация может быть следствием приёма нефротоксических лекарств (антибиотики, анальгетики), потребления заражённой воды и пищи, воздействия токсикантов в быту и на производстве (растворители, металлы), токсикоманий и т.д. Необходимо помнить, что поражение почек может возникнуть при действии токсикантов в очень малых дозах у лиц с различного вида патологией или контактирующих с другими токсическими веществами (например, острая почечная недостаточность может развиться под влиянием очень малых доз четырёххлористого углерода у лиц, принимающих барбитураты - явление синергизма).

Диагноз токсических нефропатий может быть поставлен на основе исследований, позволяющих выявить специфические признаки интоксикации. Так, хроническое отравление свинцом сопровождается нарушением синтеза гемоглобина; сопутствующие нефропатии нарушения со стороны печени и ЦНС - признак ингаляционного поражения галогенированными углеводородами; характерные признаки поражения нервной системы могут позволить выявить отравление ртутью.

Диагностика токсических нефропатий значительно облегчается, если в биоматериале (моче, крови, промывных водах, биоптатах и т.д.) удаётся определить повышенное содержание токсиканта. В зависимости от токсикокинетических свойств вещества время, в течение которого токсикант или его метаболиты определяются в организме, варьирует в очень широких пределах от нескольких часов (сероуглерод) до недель и даже лет (тяжёлые металлы: свинец, кадмий).

РАЗДЕЛ 8. ЭКОТОКСИКОЛОГИЯ

8.1. ОСНОВЫ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ

Развитие промышленности неразрывно связано с расширением круга используемых химических веществ. Увеличение объемов применяемых пестицидов, удобрений и других химикатов - характерная черта современного сельского хозяйства и лесоводства. В этом объективная причина неуклонного усиления химической опасности для окружающей среды, таящейся в самой природе человеческой деятельности.

Еще несколько десятков лет назад химические отходы производства просто сбрасывали в окружающую среду, а пестициды и удобрения практически бесконтрольно, исходя из утилитарных соображений, распыляли над огромными территориями. При этом, полагали, что газообразные вещества должны быстро рассеиваться в атмосфере, жидкости частично растворяться в воде и уноситься из мест выброса. И хотя твердые продукты в значительной степени накапливались в регионах, потенциальная опасность промышленных выбросов рассматривалась как низкая. Использование же пестицидов и удобрений давало экономический эффект, во много раз превосходящий ущерб, наносимый токсикантами природе.

Однако уже в 1962 году появляется книга Рашель Карсон *Умолчаливая весна*, в которой автор описывает случаи массовой гибели птиц и рыб от бесконтрольного использования пестицидов. Карсон сделала вывод, что выявляемые эффекты поллютантов на дикую природу предвещают надвигающуюся беду и для человека. Эта книга привлекла всеобщее внимание. Появились общества защиты окружающей среды, правительственные законодательные акты, регламентирующие выбросы ксенобиотиков. С этой книги, по сути, началось развитие новой ветви науки - экотоксикологии.

В самостоятельную науку экотоксикологию (ecotoxicology) выделил Рене Траут, который впервые, в 1969 году, связал воедино два совершенно разных предмета: экологию (по Кребсу - науку о взаимоотношениях, которые определяют распространение и обитание живых существ) и токсикологию. На самом деле, эта область знаний включает в себя, помимо указанных, элементы и других естественных наук, таких как химия, биохимия, физиология, популяционная генетика и др.

По мере развития, само понятие Уэкотоксикология претерпело определенную эволюцию. В 1978 году Батлер рассматривал экотоксикологию как науку, изучающую токсические эффекты химических агентов на живые организмы, особенно на уровне популяций и сообществ, в пределах определенных экосистем. Левин и др. в 1989 г. определили ее как науку, прогнозирующую влияние химических веществ на экосистемы. В 1994 году В. и Т. Форбсы дали следующее определение экотоксикологии: Область знаний, которая суммирует экологические и токсикологические эффекты химических поллютантов на популяции, сообщества и экосистемы, прослеживая судьбу (транспорт, трансформацию и удаление) таких поллютантов в окружающей среде.

Таким образом, экотоксикология, по мнению авторов, изучает развитие неблагоприятных эффектов, проявляющихся при действии загрязнителей на самые разнообразные виды живых организмов (от микроорганизмов, до человека), как правило, на уровне популяций или экосистемы в целом, а также судьбу химического вещества в системе биогеоценоза.

Позже в рамках экотоксикологии стали выделять, в качестве самостоятельного направления, один из её разделов, получивший название Утоксикология окружающей среды (environmental toxicology).

Сформировалась тенденция использовать термин Уэкотоксикология только для обозначения суммы знаний, касающихся эффектов химикатов на экосистемы, исключая человека. Так, по Уолкеру и др. (1996) экотоксикология - учение о вредных эффектах химикатов на экосистемы. Устраняя из круга рассматриваемых экотоксикологией объектов человека, это определение детерминирует различие между экотоксикологией и токсикологией окружающей среды, определяет предмет изучения последней. Термин Утоксикология окружающей среды предлагается использовать только для исследований прямого действия Узагрязнителей окружающей среды на человека.

В процессе изучения эффектов химических веществ, присутствующих в окружающей среде, на человека и человеческие сообщества, токсикология окружающей среды оперирует уже устоявшимися категориями и понятиями классической токсикологии и применяет, как правило, ее традиционную экспериментальную, клиническую, эпидемиологическую методологию. Объектом исследований при этом являются механизмы, динамика развития, проявления неблагоприятных эффектов действия токсикантов и продуктов их превращения в окружающей среде на человека.

Разделяя в целом такой подход, и положительно оценивая его практическую значимость, следует однако заметить, что методологические различия между экотоксикологией и токсикологией окружающей среды полностью стираются, когда перед исследователем ставятся задачи оценить опосредованное действия загрязнителей на человеческие популяции (например, обусловленное токсической модификацией биоты), или, напротив, выяснить механизмы действия химикатов, находящихся в среде, на представителей того или иного отдельного вида живых существ. В этой связи, с теоретических позиций, Утоксикология окружающей среды, как наука, является лишь частной проблемой Уэкотоксикологии, при этом методология, понятийный аппарат и структура наук - едины.

Содержанием дисциплины Уэкотоксикология является учение об экотоксичности, а основными рассматриваемыми вопросами: характеристика ксенобиотического профиля среды обитания, проблемы экотоксикокинетики, экотоксикодинамики, экотоксикометрии.

1. Ксенобиотический профиль среды

С позиций токсиколога абиотические и биотические элементы того, что мы называем окружающей средой - все это сложные, порой особым образом организованные агломераты, смеси бесчисленного количества молекул.

Для экотоксикологии интерес представляют лишь молекулы, обладающие **биодоступностью**, т.е. способные взаимодействовать немеханическим путем с живыми организмами. Как правило, это соединения, находящиеся в газообразном или жидком состоянии, в форме водных растворов,

адсорбированные на частицах почвы и различных поверхностях, твердые вещества, но в виде мелко дисперсной пыли (размер частиц менее 50 мкм), наконец вещества, поступающие в организм с пищей.

Часть биодоступных соединений утилизируется организмами, участвуя в процессах их пластического и энергетического обмена с окружающей средой, т.е. выступают в качестве **ресурсов среды обитания**. Другие же, поступая в организм животных и растений, не используются как источники энергии или Упластический материалФ, но, действуя в достаточных дозах и концентрациях, способны существенно модифицировать течение нормальных физиологических процессов. Такие соединения называются **чужеродными или ксенобиотиками** (чуждые жизни).

Совокупность чужеродных веществ, содержащихся в окружающей среде (воде, почве, воздухе и живых организмах) в форме (агрегатном состоянии), позволяющей им вступать в химические и физико-химические взаимодействия с биологическими объектами экосистемы составляют ксенобиотический профиль биогеоценоза. Ксенобиотический профиль следует рассматривать как один из важнейших факторов внешней среды (наряду с температурой, освещенностью, влажностью, трофическими условиями и т.д.), который может быть описан качественными и количественными характеристиками.

Важным элементом ксенобиотического профиля являются чужеродные вещества, содержащиеся в органах и тканях живых существ, поскольку все они рано или поздно потребляются другими организмами (т.е. обладают биодоступностью). Напротив, химические вещества, фиксированные в твердых, не диспергируемых в воздухе и нерастворимых в воде объектах (скальные породы, твердые промышленные изделия, стекло, пластмасса и др.), не обладают биодоступностью. Их можно рассматривать как источники формирования ксенобиотического профиля.

Ксенобиотические профили среды, сформировавшиеся в ходе эволюционных процессов, миллионы лет протекавших на планете, можно назвать **естественными ксенобиотическими профилями**. Они различны в разных регионах Земли. Биоценозы, существующие в этих регионах (биотопах), в той или иной степени адаптированы к соответствующим естественным ксенобиотическим профилям.

Различные природные коллизии, а в последние годы и хозяйственная деятельность человека, порой существенным образом изменяют естественный ксенобиотический профиль многих регионов (особенно урбанизированных). **Химические вещества, накапливающиеся в среде в несвойственных ей количествах и являющиеся причиной изменения естественного ксенобиотического профиля, выступают в качестве экополлютантов** (загрязнителей). Изменение ксенобиотического профиля может явиться следствием избыточного накопления в среде одного или многих экополлютантов (таблица 1).

Таблица 1. Перечень основных экополлютантов

Загрязнители воздуха	Загрязнители воды и почвы
Газы: Оксиды серы Оксиды азота Оксиды углерода Озон Хлор Углевородороды Фреоны Пылевые частицы: Асбест Угольная пыль Кремний Металлы	Металлы (свинец, мышьяк, кадмий, ртуть) Пестициды хлорорганические (ДДТ, алдрин, диэлдрин, хлордан) Нитраты Фосфаты Нефть и нефтепродукты Органические растворители (толуол, бензол, тетрахлорэтилен) Низкомолекулярные галогенированные углеводороды (хлороформ, бромдихлорметан, бромформ, тетрахлорметан, дихлорэтан) Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) Полихлорированные бифенилы Диоксины Дибензофураны Кислоты

Далеко не всегда это приводит к пагубным последствиям для живой природы и населения. Лишь экополлютант, накопившийся в среде в количестве, достаточном для инициации токсического процесса в биоценозе (на любом уровне организации живой материи), может быть обозначен как **экоотоксикант**.

Одна из сложнейших практических задач экотоксикологии - определение количественных параметров, при которых экополлютант трансформируется в экоотоксикант. При её решении необходимо учитывать, что в реальных условиях на биоценоз действует весь ксенобиотический профиль среды, модифицируя при этом биологическую активность отдельного поллютанта. Поэтому в разных регионах (разные ксенобиотические профили, различные биоценозы) количественные параметры трансформации поллютанта в экоотоксикант строго говоря различны.

2. Экотоксикокинетика

Экотоксикокинетика - раздел экотоксикологии, рассматривающий судьбу ксенобиотиков (экополлютантов) в окружающей среде: источники их появления; распределение в абиотических и биотических элементах окружающей среды; превращение ксенобиотика в среде обитания; элиминацию из окружающей среды.

2.1. Формирование ксенобиотического профиля. Источники поступления поллютантов в среду

К числу природных источников биодоступных ксенобиотиков, по данным ВОЗ (1992), относятся: переносимые ветром частицы пыли, аэрозоль морской соли, вулканическая деятельность, лесные пожары, биогенные частицы, биогенные летучие вещества. Другим источником ксенобиотиков в среде, значение которого неуклонно возрастает, является деятельность человека

Важнейшим элементом экотоксикологической характеристики поллютантов является идентификация их источников. Решить эту задачу далеко не просто, т.к. порой вещество поступает в среду в ничтожных

количествах, иногда в виде примесей к вполне УбозобиднымФ субстанциям. Наконец возможно образование эполлутанта в окружающей среде в результате абиотических или биотических трансформаций других веществ.

2.2. Персистирование

Многочисленные абиотические (происходящие без участия живых организмов) и биотические (происходящие с участием живых организмов) процессы в окружающей среде, направлены на элиминацию (удаление) экотоллютантов. Многие ксенобиотики, попав в воздух, почву, воду приносят минимальный вред экосистемам, поскольку время их воздействия ничтожно мало. Вещества, оказывающиеся резистентными к процессам разрушения, и, вследствие этого, длительно персистирующие в окружающей среде, как правило, являются потенциально опасными экотоксикантами (таблица 2).

Таблица 2. Период полуразрушения некоторых ксенобиотиков в окружающей среде

Поллютант	Период полуразрушения	Среда
ДДТ	10 лет	почва
ТХДД	9 лет	почва
Атразин	25 месяцев	вода (pH 7,0)
Бензоперилен	14 месяцев	почва
Фенантрен	138 дней	почва
Карбофуран	45 дней	вода (pH 7,0)
Фосфорилтиохолины	21 день	почва (t +15°)
Иприт	7 дней	почва (t +15°)
Зарин	4 часа	почва (t +15°)

Постоянный выброс в окружающую среду персистирующих поллютантов приводит к их накоплению, превращению в экотоксиканты для наиболее уязвимого (чувствительного) звена биосистемы. После прекращения выброса персистирующего токсиканта он еще длительное время сохраняется в среде. Так, в воде озера Онтарио в 90-е годы определяли высокие концентрации пестицида мирекс, использование которого было прекращено еще в конце 70-х годов. В водоемах испытательного полигона ВВС США во Флориде, где в 1962 - 1964 годах был с исследовательскими целями распылен Оранжевый Агент, спустя 10 лет ил содержал 10 - 35 нг/кг ТХДД (при норме, по стандартам США - 0,1 пкг/кг, России - 10 пкг/кг).

К числу веществ, длительно персистирующих в окружающей среде, относятся тяжелые металлы (свинец, медь, цинк, никель, кадмий, кобальт, сурьма, ртуть, мышьяк, хром), полициклические полигалогенированные углеводороды (полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны, полихлорированные бифенилы и т.д.), некоторые хлорорганические пестициды (ДДТ, гексахлоран, алдрин, линдан и т.д.) и многие другие вещества.

2.3. Трансформация

Подлежащее большинство веществ подвергаются в окружающей среде различным превращениям. Характер и скорость этих превращений определяют их стойкость.

2.3.1. Абиотическая трансформация

На стойкость вещества в окружающей среде влияет большое количество процессов. Основными являются фотолиз (разрушение под влиянием света), гидролиз, окисление.

Фотолиз. Свет, особенно ультрафиолетовые лучи, способен разрушать химические связи и, тем самым, вызывать деградацию химических веществ. Фотолиз проходит главным образом в атмосфере и на поверхности почвы и воды. Скорость фотолиза зависит от интенсивности света и способности вещества его поглощать. Ненасыщенные ароматические соединения, например полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), наиболее чувствительны к фотолизу, т.к. активно поглощают энергию света. Свет ускоряет и другие процессы деградации веществ: гидролиз и окисление. В свою очередь наличие в средах фотооксидантов, таких как озон, окислы азота, формальдегид, акролеин, органические перекиси, существенно ускоряет процесс фотолиза других поллютантов (показано для ПАУ).

Гидролиз. Вода, особенно при нагревании, быстро разрушает многие вещества. Эфирные связи, например, в молекулах фосфорорганических соединений, высокочувствительны к действию воды, чем определяется умеренная стойкость этих соединений в окружающей среде. Скорость гидролиза сильно зависит от pH.

Процесс деградации инсектицида паратиона представлен на рисунке 1.

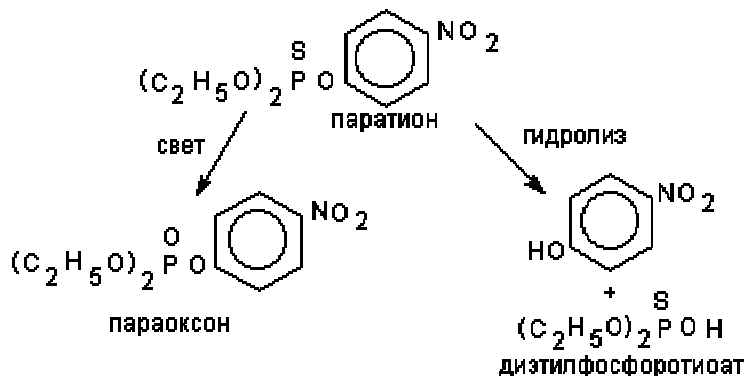


Рисунок 1. Абиотическое превращение паратиона в окружающей среде

В результате превращения химических веществ в окружающей среде образуются новые вещества. При этом их токсичность иногда может быть выше, чем у исходного агента. Так, на рисунке 1 показано, что в

результате фотоокисления паратиона в среде может образовываться параоксон. Токсичность последнего для млекопитающих в несколько десятков раз выше, чем у исходного вещества.

Фотохимические превращения в окружающей среде 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислоты, известного гербицида, может приводить к образованию опасного экололлютанта 2,3,7,8-тетрахлордибензо-р-диоксина (рисунок 2).

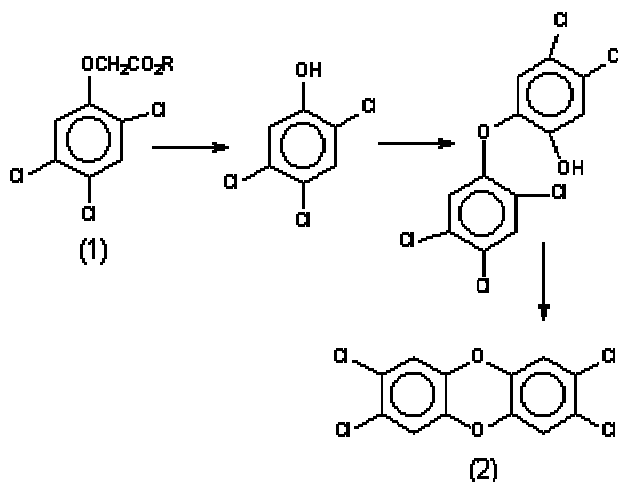


Рисунок 2. Схема фотолитического превращения феноксиуксусной кислоты (1) в ТХДД (2) в окружающей среде (По Akermark B., 1978)

Еще один хорошо известный пример: образование нитрозосоединений. Так, по данным ученых США, в почве, в кислой среде, легко вступают в соединение с нитритами целый ряд пестицидов. Среди них диалкилтиокарбаматы, тиокарбамоилдисульфиды, соли феноксиуксусной кислоты и др. Образующиеся нитрозосоединения, рассматриваются в настоящее время, как возможные канцерогены.

2.3.2. Биотическая трансформация

Абиотическое разрушение химических веществ обычно проходит с малой скоростью. Значительно быстрее деградируют ксенобиотики при участии биоты, особенно микроорганизмов (главным образом бактерий и грибов), которые используют их как питательные вещества. Процесс биотического разрушения идет при участии энзимов. В основе биопревращений веществ лежат процессы окисления, гидролиза, дегалогенирования, расщепления циклических структур молекулы, отщепление алкильных радикалов (деалкилирование) и т.д. Деградация соединения может завершаться его полным разрушением, т.е. минерализацией (образование воды, двуокиси углерода, других простых соединений). Однако возможно образование промежуточных продуктов биотрансформации веществ, обладающих порой более высокой токсичностью, чем исходный агент. Так, превращение неорганических соединений ртути фитопланктоном может приводить к образованию более токсичных ртутьорганических соединений, в частности, метилртути. Подобное явление имело место в Японии на берегах бухты Минамато в 50 - 60х годах. Поступавшая в воду залива ртуть со стоками фабрики по производству азотных соединений, трансформировалась биотой в метилртуть. Последняя концентрировалась в тканях морских организмов и рыбы, служившей пищей местного населения. В итоге у людей, потреблявших рыбу, развивалось заболевание, характеризовавшееся сложным неврологическим симптомокомплексом, у новорожденных детей отмечались пороки развития. Всего было зарегистрировано 292 случая болезни Минамато, 62 из них закончились гибелью людей.

2.4. Процессы элиминации, не связанные с разрушением

Некоторые процессы, происходящие в окружающей среде, способствуют элиминации ксенобиотиков из региона, изменяя их распределение в компонентах среды. Загрязнитель с высоким значением давления пара может легко **испаряться** из воды и почвы, а затем перемещаться в другие регионы с током воздуха. Это явление лежит в основе повсеместного распространения относительно летучих хлорорганических инсектицидов, таких как линдан и гексахлорбензол.

Перемещение ветром и атмосферными течениями частиц токсикантов или почвы, на которых адсорбированы вещества, также важный путь перераспределения поллютантов в окружающей среде. В этом плане характерен пример полициклических ароматических углеводородов (бензпирены, дибензпирены, бензантрацены, дибензантрацены и др.). Бензпирен и родственные ему соединения как естественного (главным образом вулканического), так и антропогенного происхождения (выброс металлургического, нефтеперерабатывающего производств, предприятий теплоэнергетики и т.д.) активно включаются в биосферный круговорот веществ, переходя из одной среды в другую. При этом, как правило, они связаны с твердыми частицами атмосферной пыли. Мелкодисперсная пыль (1-10 мкм) длительно сохраняется в воздухе, более крупные пылевые частицы достаточно быстро выседают на почву и в воду в месте образования. При извержении вулканов пепел содержит большое количество таких веществ. При этом, чем выше выброс, тем на большее расстояние рассеиваются поллютанты.

Сорбция веществ на взвешенных частицах в воде, с последующим осаждением приводит к их элиминации из толщи воды, но накоплению в донных отложениях. Осаждение резко снижает биодоступность загрязнителя.

Перераспределению водо-растворимых веществ способствуют дожди и движение грунтовых вод. Например, гербицид атразин, используемый для защиты широколиственных растений в сельском и парковом хозяйстве США, повсеместно присутствует там в поверхностных водах. По некоторым данным до

92% исследованных водоемов США содержат этот пестицид. Поскольку вещество достаточно стойкое и легко растворимо в воде оно мигрирует и в грунтовые воды и там накапливается.

2.5. Биоаккумуляция

Если загрязнитель окружающей среды не может попасть внутрь организма, он, как правило, не представляет для него существенной опасности. Однако, попав во внутренние среды, многие ксенобиотики способны накапливаться в тканях (см. раздел УТоксикокинетикаФ). Процесс, посредством которого организмы накапливают токсиканты, извлекая их из абиотической фазы (воды, почвы, воздуха) и из пищи (трофическая передача), называется биоаккумуляцией. Результатом биоаккумуляции являются пагубные последствия как для самого организма (достижение поражающей концентрации в критических тканях), так и для организмов, использующих данный биологический вид, в качестве пищи.

Водная среда обеспечивает наилучшие условия для биоаккумуляции соединений. Здесь обитают мириады водных организмов, фильтрующих и пропускающих через себя огромное количество воды, экстрагируя при этом токсиканты, способные к кумуляции. Гидробионты накапливают вещества в концентрациях, порой в тысячи раз больших, чем содержится в воде (таблица 3).

Таблица 3. Биоаккумуляция некоторых поллютантов в организме рыб

Вещество	Фактор биоаккумуляции*
ДДТ	127000
ТХДД	39000
эндрин	6800
пентахлорбензол	5000
лептофос	750
трихлорбензол	183

*Фактор биоаккумуляции - соотношение концентрации поллютанта в тканях рыб и в воде в состоянии равновесия (Le Blanc, 1995).

2.5.1. Факторы, влияющие на биоаккумуляцию

Склонность экотоксикантов к биоаккумуляции зависит от ряда факторов. Первый - персистирование ксенобиотика в среде. Степень накопления вещества в организме, в конечном счете, определяется его содержанием в среде. Вещества, быстро элиминирующиеся, в целом, плохо накапливаются в организме. Исключением являются условия, при которых поллютант постоянно привносится в окружающую среду (регионы близ производств и т.д.).

Так, синильная кислота, хотя и токсичное соединение, в силу высокой летучести не является, по мнению многих специалистов, потенциально опасным экотоксикантом. Правда, до настоящего времени не удалось полностью исключить, что некоторые виды заболеваний, нарушения беременности у женщин, проживающих близ золотодобывающих предприятий, где цианиды используются в огромных количествах, не связаны с хроническим действием вещества.

После поступления веществ в организм их судьба определяется токсикокинетическими процессами (см. соответствующий раздел). Наибольшей способностью к биоаккумуляции обладают жирорастворимые (липофильные) вещества, медленно метаболизирующие в организме. Жировая ткань, как правило, основное место длительного депонирования ксенобиотиков. Так, спустя много лет после воздействия, высокое содержание ТХДД обнаруживали в биоптатах жировой ткани и плазме крови ветеранов армии США, участников вьетнамской войны. Однако многие липофильные вещества склонны к сорбции на поверхностях различных частиц, осаждающихся из воды и воздуха, что снижает их биодоступность. Например, сорбция бензпирена гуминовыми кислотами снижает способность токсиканта к биоаккумуляции тканями рыб в три раза. Рыбы из водоемов с низким содержанием взвешенных частиц в воде аккумулируют большее количество ДДТ, чем рыбы из эвтрофических водоемов с высоким содержанием взвеси.

Вещества, метаболизирующие в организме, накапливаются в меньшем количестве, чем можно было бы ожидать, исходя из их физико-химических свойств (таблица 4). Межвидовые различия значений факторов биоаккумуляции ксенобиотиков во многом определяются видовыми особенностями их метаболизма.

Таблица 4. Реальные и расчетные значения фактора биоаккумуляции некоторых токсикантов в тканях рыб

Вещество	Интенсивность биотрансформации	Факторы биоаккумуляции	
		Расчетный	Реальный
хлордан	низкая	47900	38000
ПХБ	низкая	36300	42600
мирекс	низкая	21900	18200
пентахлофенол	высокая	4900	780
2,3-дибромпропилфосфат	высокая	4570	3

(Mackay D., 1982)

2.5.2. Значение биоаккумуляции

Биоаккумуляция может лежать в основе не только хронических, но и отсроченных острых токсических эффектов. Так, быстрая потеря жира, в котором накоплено большое количество вещества, приводит к выходу токсиканта в кровь. Мобилизация жировой ткани у животных нередко отмечается в период размножения. В экологически неблагополучных регионах это может сопровождаться массовой гибелью животных при достижении ими половой зрелости. Стойкие поллютанты могут также передаваться потомству, у птиц и рыб - с содержимым желточного мешка, у млекопитающих - с молоком кормящей матери. При этом возможно развитие эффектов у потомства, не проявляющихся у родителей.

2.6. Биоматрификация

Химические вещества могут перемещаться по пищевым цепям от организмов-жертв, к организмам-консументам. Для высоко липофильных веществ это перемещение может сопровождаться увеличением

концентрации токсиканта в тканях каждого последующего организма - звена пищевой цепи. Этот феномен называется **биомагнификацией**. Так, для уничтожения комаров на одном из калифорнийских озер применили ДДТ. После обработки содержание пестицида в воде составило 0,02 частей на миллион (ppm). Через некоторое время в планктоне ДДТ определялся в концентрации 10 ppm, в тканях планктоноядных рыб - 900 ppm, хищных рыб - 2700 ppm, птиц, питающихся рыбой - 21000 ppm. То есть содержание ДДТ в тканях птиц, не подвергшихся непосредственному воздействию пестицида, было в 1000000 раз выше, чем в воде и в 20 раз выше, чем в организме рыб - первом звене пищевой цепи.

В уже упоминавшейся ранее книге Рашель Карсон УМолчаливая веснаФ приводится такой пример. Для борьбы с переносчиком Уголландской болезниФ, поражающей вяза, вязовым заболонником *Scolytes multistriatus*, деревья обрабатывали ДДТ. Часть пестицида попадала в почву, где его поглощали дождевые черви и накапливали в тканях. У поедающих преимущественно дождевых червей перелетных дроздов развивалось отравление пестицидом. Часть из них погибала, у других нарушалась репродуктивная функция - они откладывали стерильные яйца. В результате, борьба с заболеванием деревьев привела к почти полному исчезновению перелетных дроздов в ряде регионов США.

3. Экотоксикодинамика

3.1. Общие понятия

Экотоксикодинамика - раздел экотоксикологии, рассматривающий конкретные механизмы развития и формы токсического процесса, вызванного действием экотоксикантов на биоценоз и/или отдельные виды, его составляющие.

Механизмы, посредством которых вещества могут вызывать неблагоприятные эффекты в биогеоценозах, многочисленны и, вероятно, в каждом конкретном случае, уникальны. Вместе с тем, они поддаются классификации. Так, можно выделить прямое, опосредованное и смешанное действие экотоксикантов.

Прямое действие - это непосредственное поражение организмов определенной популяции или нескольких популяций (биоценоза) экотоксикантом или совокупностью экотоксикантов данного ксенобиотического профиля среды. Примером веществ с подобным механизмом действия на человека является кадмий. Этот металл накапливается в организме даже при минимальном его содержании в среде и при достижении критической концентрации инициирует токсический процесс проявляющийся поражением дыхательной системы, почек, иммуносупрессией и канцерогенезом.

Опосредованное - это действие ксенобиотического профиля среды на биотические или абиотические элементы среды обитания популяции, в результате которого условия и ресурсы среды перестают быть оптимальными для её существования.

Многие токсиканты способны оказывать как прямое, так и опосредованное, т.е. **смешанное действие**. Примером веществ, обладающих смешанным механизмом экотоксического действия, являются в частности гербициды 2,4,5-Т и 2,4-Д, содержащие в качестве примеси небольшое количество 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-р-диоксин (ТХДД). Широкое использование этих веществ американской армией во Вьетнаме нанесло значительный ущерб растительному, животному миру страны и непосредственно здоровью людей.

3.2. Экотоксичность

Экотоксичность - это способность данного ксенобиотического профиля среды вызывать неблагоприятные эффекты в соответствующем биоценозе. В тех случаях, когда нарушение естественного ксенобиотического профиля связано с избыточным накоплением в среде лишь одного поллютанта, можно условно говорить об экотоксичности только этого вещества.

В соответствии с представлением об уровнях организации биологических систем в экологии принято выделять три раздела (Г.В. Стадницкий, А.И. Родионов, 1996):

- аутоэкологию - описание экологических эффектов на уровне организма;
- демэкологию - экологические эффекты на уровне популяции;
- синэкологию - эффекты на уровне биоценоза.

В этой связи и неблагоприятные экотоксические эффекты, целесообразно рассматривать:

- на уровне организма (аутоэкологические) - проявляются снижением резистентности к другим действующим факторам среды, понижением активности, заболеваниями, гибелью организма, канцерогенезом, нарушениями репродуктивных функций и т.д.

- на уровне популяции (демэкологические) - проявляются гибелью популяции, ростом заболеваемости, смертности, уменьшением рождаемости, увеличением числа врожденных дефектов развития, нарушением демографических характеристик (соотношение возрастов, полов и т.д.), изменением средней продолжительности жизни, культурной деградацией.

- на уровне биогеоценоза (синэкологические) - проявляются изменением популяционного спектра ценоза, вплоть до исчезновения отдельных видов и появления новых, не свойственных данному биоценозу, нарушением межвидовых взаимоотношений.

В случае оценки экотоксичности лишь одного вещества в отношении представителей только одного вида живых существ, в полной мере могут быть использованы качественные и количественные характеристики, принятые в классической токсикологии (величины острой, подострой, хронической токсичности, дозы и концентрации, вызывающие мутагенное, канцерогенное и иные виды эффектов и т.д.). Однако в более сложных системах, экотоксичность цифрами (количественно) не измеряется, она характеризуется целым рядом показателей качественно или полуколичественно, через понятия УопасностьФ или Уэкологический рискФ.

В зависимости от продолжительности действия экотоксикантов на экосистему можно говорить об острой и хронической экотоксичности.

3.2.1. Острая экотоксичность

Острое токсического действия веществ на биоценоз может явиться следствием аварий и катастроф, сопровождающихся выходом в окружающую среду большого количества относительно нестойкого токсиканта или неправильного использования химикатов.

Истории уже известны такие события. Так, в 1984 году в г. Бхопал (Индия) на заводе американской химической компании по производству пестицидов Юнион КарбайдФ произошла авария. В результате в атмосферу попало большое количество пульмонотропного вещества метилизоцианата. Будучи летучей жидкостью, вещество образовало нестойкий очаг заражения. Однако отравлению подверглись около 200 тыс. человек, из них 3 тысячи - погибли. Основная причина смерти - остро развившийся отек легких.

Другой известный случай острой токсикологической катастрофы имел место в Ираке. Правительством этого государства была закуплена большая партия зерна а качестве посевного материала. Посевное зерно с целью борьбы с вредителями подвергалось обработке фунгицидом метилртутью. Однако эта партия зерна случайно попала в продажу и была использована для выпечки хлеба. В результате этой экологической катастрофы отравление получили более 6,5 тыс. человек, из которых около 500 погибли.

В 2000 году в Румынии, на одном из предприятий по добыче драгоценных металлов, в результате аварии произошла утечка синильной кислоты и цианид-содержащих продуктов. Токсиканты в огромном количестве поступили в воды Дуная, отравив все живое на протяжении сотен километров вниз по течению реки.

Величайшим экологическим бедствием является использование высокотоксичных химических веществ с военными целями. В годы первой мировой войны воюющими странами было использовано на полях сражений около 120 тыс. тонн отравляющих веществ. В результате отравление получили более 1,3 млн. человек, что можно рассматривать, как одну из крупнейших в истории человечества экологических катастроф.

Острое экотоксическое действие не всегда приводит к гибели или острым заболеванием людей или представителей других биологических видов, подвергшихся воздействию. Так, среди ОВ, применявшихся в первую мировую войну, был и сернистый иприт. Это вещество, являясь канцерогеном, стало причиной поздней гибели пораженных от новообразований.

3.2.2. Хроническая экотоксичность

С хронической токсичностью веществ, как правило, ассоциируются сублетальные эффекты. Часто при этом подразумевают нарушение репродуктивных функций, иммунные сдвиги, эндокринную патологию, пороки развития, аллергизацию и т.д. Однако хроническое воздействие токсиканта может приводить и к смертельным исходам среди особей отдельных видов.

Проявления действия экотоксикантов на человека могут быть самыми разнообразными и при определенных уровнях интенсивности воздействия оказываются достаточно специфичными для действующего фактора. Это можно проследить на примере тяжелых металлов (таблица 5).

Таблица 5. Влияние тяжелых металлов питьевой воды и атмосферы окружающей среды на состояние здоровья (Колбасов С.Е. и соавторы, 1999)

Компоненты состава воды и воздуха	ПДК	Биологический эффект при избыточном поступлении в организм или превышении ПДК (Биомаркеры ранней хронической интоксикации)
Алюминий	0,5 мг/л	Нейротоксическое действие
Барий	0,1 мг/л	Воздействие на сердечно-сосудистую и кроветворную системы
Бериллий	0,001 мг/м ³	Бериллиоз, легочная и сердечная недостаточность, дерматит, конъюнктивит (Развитие в легких диссеминированного гранулематозного процесса с клиникой бронхита)
Бор	0,5 мг/л	Снижение репродуктивной функции у мужчин, нарушение овариально-менструального цикла (ОМЦ) у женщин, углеводного обмена, активности ферментов, раздражение желудочно-кишечного тракта
Железо	0,3 мг/л	Аллергические реакции, болезни крови
Кадмий	0,001 мг/л	Болезнь УИтай-итайФ, увеличение кардиоваскулярных заболеваний (КВЗ), почечной, онкологической заболеваемости (ОЗ), нарушение ОМЦ, течения беременности и родов, мертворождаемость, повреждение костной ткани, поражение дыхательных путей (Желтая кайма на деснах и вокруг шейки зуба)
Кобальт	0,1 мг/л 0,5 мг/м ³	Нарушение функционального состояния ЦНС и щитовидной железы (Хронический ринофаринголарингит с гипо- и аносмией)
Марганец	0,1 мг/л 0,3 мг/м ³	Анемия, нарушение функционального состояния ЦНС (Астенические расстройства: утомляемость, сонливость, снижение активности)
Медь	1,0 мг/л	Наличие врожденных заболеваний, изменение водно-солевого и белкового обменов, окислительно-восстановительных реакций крови, нарушение ОМЦ, течения родов и лактации, поражение печени и почек
Молибден	0,25 мг/л	Увеличение КВЗ, заболеваемости подагрой, эндемическим

		зобом, нарушение ОМЦ
Мышьяк	0,05 мг/л 0,05 мг/м ³	Арсеноз, нейротоксическое действие, поражение кожи, ОЗ (Трофические поражения кожи - пигментация, шелушение, гиперкератозы, выпадение волос)
Никель	0,1 мг/л 0,5 мг/м ³	Поражение сердца, печени, ОЗ, кератиты (Поражения верхних дыхательных путей - хронические субатрофические ринофарингиты, гипо- и аносмия; аллергодерматозы; серый налет по краю десен)
Ртуть	0,0005мг/л 0,01 мг/м ³	Нарушение функции почек, нервной системы, зрения, слуха, осязания, врожденные пороки развития (Веgetативно-сосудистая дистония, неврастения)
Свинец	0,03 мг/л 0,01 мг/м ³	Поражение почек, нервной системы, органов кроветворения, КВЗ, авитаминозы С и В (Снижение активности дегидратазы аминолевулиновой кислоты крови до 10 мкмоль/мин л; увеличение содержания в моче АЛК до 114 мкмоль/г и копропорфирина до 458 нмоль/г; изменение уровня андрогенов)
Селен		Ускорение кариеса зубов у детей, ОЗ
Стронций	7,0 мг/л	Стронциевый рахит
Таллий	0,01 мг/м ³	Поражение нервной системы, желудочно-кишечного тракта, печени, почек (Утомляемость, головные боли. плохой сон, боли в конечностях, диспептические расстройства)
Хром	0,5 мг/л 0,01 мг/м ³	Дерматиты, экземы (Ухромовые язвыФ), бронхиты, нарушения функций печени, почек (Раздражение верхних дыхательных путей. аллергические поражения кожи и органов дыхания)
Цинк	1,0 мг/л	Анемия, изменения функций ЦНС, поражение почек, увеличение частоты заболеваний печени и КВЗ

В большинстве случаев экотоксиколог сталкивается со случаями именно хронической экотоксичности. По сути, хроническое воздействие экополлютантов - основная проблема экологии.

3.2.3. Механизмы экотоксичности

В современной литературе приводятся многочисленные примеры механизмов действия химических веществ на живую природу, позволяющие оценить их сложность и неожиданность.

1. Прямое действие токсикантов, приводящее к массовой гибели представителей чувствительных видов. Применение эффективных пестицидов приводит к массовой гибели вредителей: насекомых (инсектициды) или сорняков (гербициды). На этом экотоксическом эффекте строится стратегия использования химикатов. Однако в ряде случаев отмечаются сопутствующие негативные явления. Так в Швеции, в 50-60 гг. для обработки семян зерновых культур широко использовали метилртутьдицианамид. Концентрация ртути в зерне составляла более 10 мг/кг. Периодическое склевывание протравленного семенного зерна птицами привело к тому, что через несколько лет была отмечена массовая гибель фазанов, голубей, куропаток и других зерноядных пернатых от хронической интоксикации ртутью.

При оценке экологической обстановки необходимо иметь в виду основной закон токсикологии: чувствительность различных видов живых организмов к химическим веществам всегда различна. Поэтому появление поллютанта в окружающей среде даже в малых количествах может быть пагубным для представителей наиболее чувствительного вида. Так, хлорид свинца убивает дафний в течение суток при содержании его в воде в концентрации около 0,01 мг/л, малоопасной для представителей других видов.

2. Прямое действие ксенобиотика, приводящее к развитию аллобиотических состояний и специальных форм токсического процесса. В конце 80-х годов в результате вирусных инфекций в Балтийском, Северном и Ирландском морях погибло около 18 тысяч тюленей. В тканях погибших животных находили высокое содержание полихлорированных бифенилов (ПХБ). Известно, что ПХБ, как и другие хлорсодержащие соединения, такие как ДДТ, гексахлорбензол, диелдрин обладают иммуносупрессивным действием на млекопитающих. Их накопление в организме и привело к снижению резистентности тюленей к инфекции. Таким образом, непосредственно не вызывая гибели животных, поллютант существенно повышал их чувствительность к действию других неблагоприятных экологических факторов.

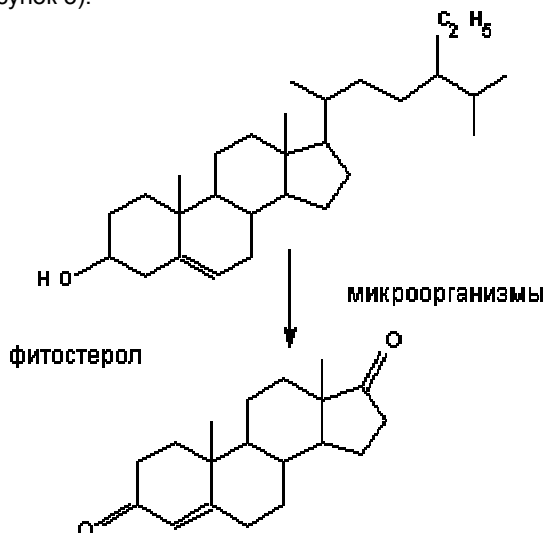
Классическим примером данной формы экотоксического действия является увеличение числа новообразований, снижение репродуктивных возможностей в популяциях людей, проживающих в регионах, загрязненных экотоксикантами (территории Южного Вьетнама - диоксин).

3. Эмбриотоксическое действие экополлютантов. Хорошо установлено, что ДДТ, накапливаясь в тканях птиц, таких как кряква, скопа, белоголовый орлан и др., приводит к истончению скорлупы яиц. В итоге птенцы не могут быть высижены и погибают. Это сопровождается снижением численности популяции птиц.

Примеры токсического действия различных ксенобиотиков (в том числе лекарственных препаратов) на эмбрионы человека и млекопитающих широко известны (см. раздел УТератогенезФ).

4. Прямое действие продукта биотрансформации поллютанта с необычным эффектом. Полевые наблюдения за живородящими рыбами (карпозубые) в штате Флорида позволили выявить популяции с большим количеством самок с явными признаками маскулинизации (своеобразное поведение, модификация анального плавника и т.д.). Эти популяции были обнаружены в реке, ниже стока завода по переработке орехов. Первоначально предположили, что стоки содержат маскулинизирующие вещества.

Однако исследования показали, что такие вещества в выбросах отсутствуют: сточная вода не вызвала маскулинизацию. Далее было установлено, что в сточных водах содержался фитостерон, (образуется в процессе переработки сырья), который попав в воду реки подвергался воздействию обитающих здесь бактерий и превращался при их участии в андроген. Последний и вызывал неблагоприятный эффект (рисунок 3).



андроген

Рисунок 3. Превращение фитостерола в андроген при участии микроорганизмов.

Таким образом, взаимодействие ксенобиотика с биотическим компонентом среды (микроорганизмы) может стать причиной существенных популяционных эффектов в биоценозе.

5. Опосредованное действие путем сокращения пищевых ресурсов среды обитания. Для борьбы с вредителями лесного хозяйства, гусеницами елового листовертки-почкоеда в одном из регионов Канады применили фосфорорганический пестицид, быстро деградирующий в среде. В результате резкого снижения числа гусениц от бескормицы погибло около 12 млн птиц.

6. Взрыв численности популяции вследствие уничтожения вида-конкурента.

В США после начала применения синтетических пестицидов для борьбы с некоторыми видами вредителей растений стали интенсивно размножаться малочисленные ранее виды клещей-хлопкоедов. Количество опасных видов таких клещей увеличилось с 6 до 16. Это явление объясняют тем, что в мире насекомых существует сложная система взаимоотношений, и количество особей в популяции растительноядных насекомых зачастую контролируется другими видами, которые либо паразитируют на этих насекомых, либо ведут себя по отношению к ним как хищники. Воздействие пестицидов может оказаться более выраженным на представителей видов-хищников. В итоге - гибель врагов приводит к взрыву численности растительноядных насекомых.

Нетрудно заметить, что приведенные в качестве примеров механизмы экотоксического действия веществ на животных при иных условиях вполне могут реализоваться и в отношении человека.

4. Экотоксикометрия

4.1. Общая методология

Экотоксикометрия - раздел экотоксикологии, в рамках которого рассматриваются методические приемы позволяющие оценить (перспективно или ретроспективно) экотоксичность ксенобиотиков.

Все виды классических количественных токсикологических исследований в полной мере используются для определения экотоксичности ксенобиотиков (см раздел УТоксикометрияФ).

Острая токсичность экополлютантов определяется экспериментально на нескольких видах, являющихся представителями различных уровней трофической организации в экосистеме (водоросли, растения, беспозвоночные, рыбы, птицы, млекопитающие). Агентство по защите окружающей среды США требует при определении критериев качества воды, содержащей некий токсикант, определения его токсичности, по крайней мере, на 8 различных видах пресноводных и морских организмов (16 тестов).

Неоднократно делались попытки ранжировать виды живых существ по их чувствительности к ксенобиотикам. Однако для различных токсикантов соотношение чувствительности к ним живых существ различно. Более того, использование в экотоксикологии Устандартных видовФ представителей определенных уровней экологической организации, для определения экотоксичности ксенобиотиков, с научной точки зрения, не корректно, поскольку чувствительность животных даже близких видов, порой отличается очень существенно.

Условные данные для оценки токсичности веществ для биоты представлены в таблице 6.

Таблица 6. Группы токсичности ксенобиотиков для позвоночных животных

LC ₅₀ для рыб (мг/л)	LD ₅₀ для птиц и млекопитающих (мг/кг)	Степень токсичности	Пример
более 100	более 5000	мало токсичные	барий
10 - 100	500 - 5000	умеренно	кадмий

1 - 10 менее 1	50 - 500 менее 50	токсичные токсичные высоко токсичные	дихлорбензол алдрин

При оценке экотоксичности необходимо учитывать, что хотя практически все вещества могут вызывать острые токсические эффекты, хроническая токсичность выявляется далеко не у каждого соединения. Косвенной величиной, указывающей на степень опасности вещества при его хроническом действии, является соотношение концентраций, вызывающих острые (ЛК₅₀) и хронические (порог токсического действия) эффекты. Если это соотношение менее 10, вещество рассматривается как малоопасное при хроническом воздействии (таблица 7).

Таблица 7. Острая и хроническая токсичность пестицидов для рыб (условия лаборатории)

Пестицид	ЛК ₅₀ (мкг/л)	Токсичность	Порог действия* (мкг/л)	Коэффициент опасности
эндосульфат	166	высокая	4,3	39
хлордекон	10	высокая	0,3	33
малатион	3000	токсичен	340	8,8
карбарил	15000	умеренная	378	40

*Пороговая концентрация вещества, по критерию Ухроническая токсичностьФ

При оценке хронической экотоксичности вещества необходимо учитывать следующие обстоятельства:

1. Определение коэффициента опасности является лишь самым первым шагом по определению экотоксического потенциала вещества. В условиях лаборатории пороговые концентрации хронического действия токсикантов определяют, оценивая показатели летальности, роста, репродуктивных способностей группы. Изучение других последствий хронического действия веществ порой может привести к иным числовым характеристикам.

2. Исследования токсичности проводят на животных, пригодных для содержания в условиях лаборатории. Получаемые при этом результаты нельзя рассматривать как абсолютные. Токсиканты могут вызывать хронические эффекты у одних видов, и не вызывать - у других.

3. Взаимодействие токсиканта с биотическими и абиотическими элементами окружающей среды может существенно сказаться на его токсичности в естественных условиях (см. выше). Однако это не подлежит изучению в условиях лаборатории.

Специфическим методом экотоксикометрии является метод оценки экологического риска.

4.2. Оценка экологического риска

Важнейшей характеристикой ксенобиотиков с позиции экотоксикологии является их экотоксическая опасность. Опасность - это потенциальная способность вещества в конкретных условиях вызывать повреждение биологических систем при попадании в окружающую среду. Потенциальная опасность вещества, определяется его стойкостью в окружающей среде (персистирование), способностью к биоаккумуляции (накопление в организмах животных и растений), величиной токсичности для представителей различных биологических видов.

Оценка экологического риска - это процесс определения вероятности развития неблагоприятных эффектов со стороны биогеоценозов (включая популяции человека) в результате изменений различных характеристик среды. Важным элементом оценки экологического риска является выявление опасности, связанной с возможным массивным воздействием на среду различных химических веществ (изменение естественного ксенобиотического профиля среды) и определение вероятности такого воздействия. В системе оценки экологического риска любое воздействие (будь то химический фактор или энергетическое поле), вызывающее изменения в биологических системах (как позитивные, так и негативные), называется стрессором. В этом смысле любой экотоксикант - несомненно стрессор.

Как правило оценка экологического риска проводится в форме заказного исследования, выполняемого с целью получения информации, носящей перспективный или ретроспективный характер, и необходимой заказчику (законодательные, управленческие структуры и т.д.) для принятия административных решений. Поэтому, в отличие от научных экотоксикологических исследований, в ходе которых рассматриваются объективные закономерности реакций биоценоза на действие стрессора, при определении экотоксического риска, в качестве объектов среды, подлежащих изучению и УзащитеФ, могут выступать характеристики биосистемы, имеющие антропоцентрическое значение, а порой и отдельные элементы окружающей человека природы, субъективно воспринимаемые общественным мнением, как весьма значимые.

Методология оценки экологического риска до конца не разработана. В подавляющем большинстве случаев её выводы носят качественный, описательный характер. Попытки внедрить методы количественной оценки сталкиваются с серьезными трудностями. Это обусловлено сложностью экосистем, комплексностью воздействия на среду стрессоров (не только химической, но и физической и биологической природы), недостаточной изученностью характеристик экотоксической опасности огромного количества ксенобиотиков, используемых человеком и т.д. В этой связи, по мнению самих экологов, в настоящее время оценка экологического риска в значительной степени является искусством.

Поскольку процедура оценки риска сложна и в значительной степени страдает известной неопределенностью, с целью стандартизации исследований, Агентство по Защите Окружающей среды США (EPA) разработало и утвердило план проведения таких работ. Он содержит описание последовательности решения задачи, организации и анализа данных, учета неопределенностей и допущений с целью получения в какой-то степени унифицированной приблизительной информации о вероятности развития неблагоприятных экологических эффектов.

Согласно этому плану оценка экологического риска включает этапы:

1. Формулирование проблемы и разработка плана анализа ситуации.
2. Анализ экологической ситуации.

3. Обработка данных, формирование выводов и представление материалов заказчику. Этапы оценки экологического риска представлены на схеме 1.

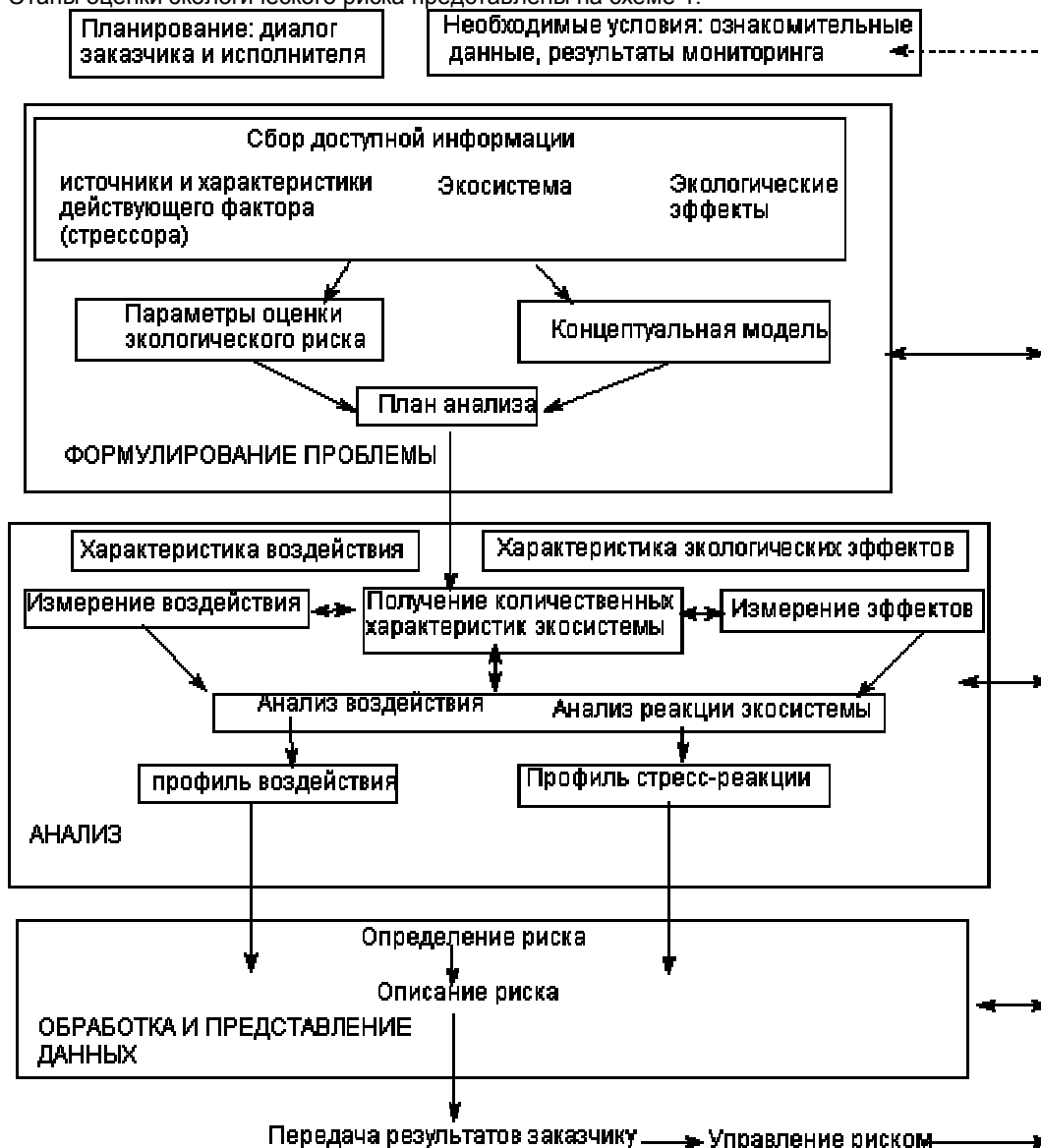


Схема 1. Этапы оценки экологического риска.

5. Характеристика некоторых экотоксикантов, опасных для человека

Наибольшую опасность, как экотоксиканты, для человека представляют вещества, длительно сохраняющиеся в окружающей среде и организме и способные, действуя в малых дозах, инициировать хронические интоксикации, аллобиотические состояния и специальные формы токсического процесса. К числу таких прежде всего относятся полигалогенированные ароматические углеводороды и некоторые металлы.

5.1. Полигалогенированные ароматические углеводороды

Группа полигалогенированных полициклических углеводородов включает галогенпроизводные некоторых ароматических углеводородов, например, диоксина, дибензофурана, бифенила, бензола и др.

Галогенированные токсиканты, содержащие один атом кислорода в молекуле, называют дибензофуранами, два атома - диоксинами, если вещества не содержат кислорода - это бифенилы (рисунок 4). Атомы галогенов (хлора или брома) замещают один и более атомов водорода, входящих в структуру бензольных колец.

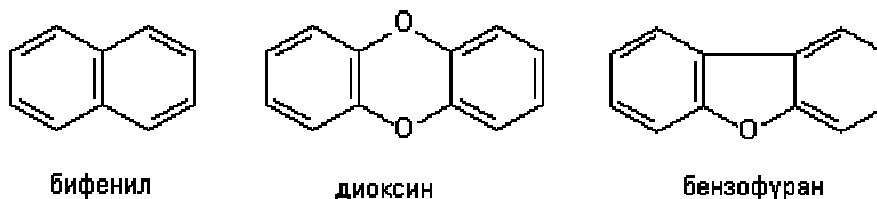


Рисунок 4. Структура молекул некоторых полициклических углеводородов

Вещества могут образовываться при взаимодействии хлора с ароматическими углеводородами в кислородной среде, в частности, при хлорировании питьевой воды.

К другим источникам веществ относятся: термическое разложение различных химических продуктов, сжигание осадков сточных вод и других отходов, металлургическая промышленность, выхлопные газы автомобилей, возгорание электрического оборудования, лесные пожары, и наконец производство некоторых видов продукции (см. ниже).

5.1.1. Диоксины

Разнообразие химической структуры диоксинов определяется числом атомов и типом галогена, возможностью изомерии. В настоящее время насчитывается несколько десятков семейств этих ядов, а общее число соединений превышает 1 тыс.

2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксин (ТХДД, УдиоксинФ) - самый токсичный представитель группы.

При оценке токсичности 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксина выявляются значительные межвидовые различия (таблица 8).

Таблица 8. Токсичность диоксина для разных видов животных.

Вид животного	ЛД ₅₀ , мкг/кг
Морская свинка	0,6-2,5
Норка	4
Крыса	22-45
Обезьяна	менее 70
Кролик	115-275
Мышь	114-280
Собака	менее 300
Лягушка-бык	менее 500
Хомяк	5000

Примечание: токсичность ТХДД для человека, по-видимому, сопоставима с таковой для приматов.

Вещество образуется как побочный продукт в процессе синтеза 2,4,5-трихлорофеноксиуксусной кислоты и трихлорфенола.

Во второй половине 20 столетия зарегистрированы более 200 аварий и инцидентов на предприятиях по производству хлорированных фенолов, при которых отмечался выброс ТХДД в атмосферу. Самая крупная - авария в Севезо (Италия, 1976 г). За последние 40 лет в результате аварий на таких производствах пострадало более 1500 человек. Экологические последствия действия веществ могут оказаться значительно более существенными.

Примером неблагоприятного воздействия на экосистемы ТХДД является химическая война во Вьетнаме, где американцы и их союзники применили не менее 100 тыс. тонн гербицидов. При этом в окружающую среду поступило 200-500 кг диоксина (более 1 10⁹ смертельных доз для приматов).

ТХДД представляет собой кристаллическое вещество. Хорошо растворяется в липидах и органических растворителях, особенно в хлорбензоле. В воде не растворим. Практически не летуч.

Вещество отличается необычайной стойкостью, накапливается в объектах внешней среды, организмах животных, передается по пищевым цепям. Диоксин относят к УсуперэкотоксикантамФ.

Во внешней среде ТХДД абсорбируются на органических, пылевых и аэрозольных частицах, разносятся воздушными потоками, поступают в водные экосистемы. В донных отложениях стоячих водоемов яд может сохраняться десятки лет. В почве возможна медленная микробная деградация диоксинов. Период полужизни из почвы определяется конкретными климато-географическими условиями и характером почвы.

В Российской Федерации установлен единый регламент на содержание полихлорированных дибензо-пара-диоксинов и дибензофуранов в почве - 0,133 пг/г.

Ежесуточное предельно допустимое поступление диоксина в организм человека в разных странах определено по-разному: от 1 до 200 пг/кг массы.

Токсикокинетика. Диоксины, поступившие в организм с зараженной пищей или ингаляционно, подвергаются медленной биотрансформации. Значительная часть токсикантов накапливается в жировой ткани. Через 15 лет после окончания химической войны содержание ТХДД в жировой ткани жителей зараженных районов Вьетнама было в 3-4 раза выше, чем у жителей Европы и США (Schecter et al., 1989).

Период полувыведения 2,3,7,8 - ТХДД у представителей разных видов не одинаков. Он составляет: у мышей, хомяков (в днях) - 15; крыс - 30; морских свинок - 30-94; обезьян - 455; у человека - 2120 (5-7 лет) (Федоров Л.А., 1993).

Токсикодинамика. Для токсического процесса характерен продолжительный скрытый период. После введения яда в летальных дозах грызунам гибель развивается спустя 3 и более недель. У крупных животных этот период еще более продолжителен. Течение даже острого поражения крайне вялое и растягивается на месяцы.

У разных биологических видов выявляются особенности проявления токсического процесса (табл. 9).

Таблица 9. Проявления поражений диоксином у представителей различных видов млекопитающих

Эффект	Человек	Обезьяна	М.свинка	Мышь	Цыпленок	Крыса
Хлоракне	+	+	-	-	-	-

Потеря веса	+	+	+	+	+	+
Поражение печени	+	+	—	+	+	+
Отеки	+	+	-	+	+	-
Атрофия тимуса	+	+	+	+	+	+

В клинической картине вначале преобладает синдром общей интоксикации (истощение, анорексия, общее угнетение, адинамия, эозинопения, лимфопения, лейкоцитоз). Позднее присоединяются симптомы органоспецифической патологии (гиперплазия и/или метаплазия эпидермальных производных кожи, поражение печени, тканей иммунокомпетентных систем, проявления панцитопенического синдрома и др.).

Характерно эмбриотоксическое и тератогенное действие. ТХДД - канцероген.

У людей наиболее ранним и наиболее частым признаком поражения является хлоракне. Нередко это единственный эквивалент токсического воздействия диоксином. Поражение может сохраняться длительно, особенно в условиях промышленного производства, когда трудно определить возможность повторного контакта с ядом. По-видимому, минимальный срок сохранения хлоракне - 10 лет.

Как результат контакта с диоксином у жителей неблагополучных районов Южного Вьетнама часто выявлялся астенический синдром, болезни гепатобилиарной системы, болезни кожи и подкожной жировой клетчатки, заболевания ЛОР-органов, зоб, врожденные пороки развития. Частота самопроизвольных аборт на зараженной территории возросла в 2,2-2,9 раз, частота врожденных пороков развития увеличилась в 12,7 раз.

Австралийская Королевская комиссия оценила последствия воздействия оранжевого агента на ветеранов войны во Вьетнаме и их потомство. Получены данные о высокой перинатальной и ранней смертности среди детей ветеранов.

5.1.2. Полихлорированные бифенилы (ПХБ)

ПХБ это класс синтетических хлорсодержащих полициклических соединений, используемых в качестве инсектицидов. В США для этой цели они производились с 1929 по 1977 год под промышленной маркой Арохлор. Кроме того, ПХБ широко использовались при производстве электрооборудования, в частности, трансформаторов и усилителей (охлаждающие жидкости), а также в качестве наполнителей при производстве красителей и пестицидов, смазочных материалов для турбин, гидравлических систем, текстиля, бумаги, флуоресцентных ламп, телевизионных приемников и др.

Такое широкое использование ПХБ было обусловлено их высокой термостойкостью, химической стабильностью, диэлектрическими свойствами. В 70-е годы в лабораторных и натурных исследованиях была установлена высокая опасность этих веществ обусловленная способностью персистировать в окружающей среде и токсичностью для лабораторных животных. В 1979 году производство веществ в США было запрещено.

На рисунке 5 представлена структура одного из представителей галогенированных бифенилов. Теоретически возможно существование 209 изомеров вещества.

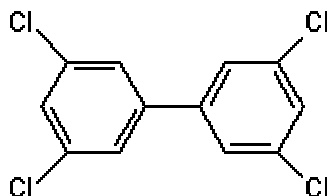


Рисунок 5. Структура молекулы ПХБ. Хлор может замещать атомы водорода при любом атоме углерода. Представлена структура 3,3',4,4'-тетрахлорбифенила

При остром воздействии вещества обладают сравнительно низкой токсичностью. В зависимости от строения изомера и вида экспериментального животного средняя смертельная доза колеблется в интервале от 0,5 до 11,3 г/кг. Хлорзамещенные бифенилы в мета- и параположении более токсичны.

Токсикокинетика. В организм млекопитающих и человека ПХБ могут проникать через кожу, легкие и желудочно-кишечный тракт. На производстве основной способ поступления веществ - через кожные покровы, в то время как в повседневной жизни большее количество веществ поступает в организм с загрязненной пищей.

Попав в кровь, вещества быстро накапливаются в печени и мышцах, откуда затем, перераспределяются в жировую ткань. Коэффициент распределения веществ в тканях - мозг : печень : жир - составляет в среднем 1 : 3,5 : 81.

ПХБ метаболизируют в основном в печени с образованием гидроксилированных фенольных соединений, через промежуточный продукт - ареноксид. Возможно дегалогенирование соединений. Скорость метаболизма зависит от структуры изомера и вида экспериментального животного, на котором изучается процесс. Собаки и грызуны метаболизируют ПХБ с большей скоростью, чем приматы. Их введение в организм сопровождается усилением метаболизма других ксенобиотиков. Основные пути выведения: с желчью в содержимое кишечника и через почки с мочой. В зависимости от строения изомеров период полувыведения ПХБ из организма человека колеблется от 6-7 до 33-34 месяцев.

Токсикодинамика. Наибольшую опасность представляют подострые и хронические воздействия ПХБ, которые приводят к развитию многообразных эффектов: прогрессирующему падению веса, хлоракне, выпадению волос, отекам, инволюции тимуса и лимфоидной ткани, гепатомегалии, угнетению костного

мозга, нарушению репродуктивных функций и т.д. Изменения иммунного статуса не однозначны: отмечается как иммуносупрессивное, так и активирующее действие ПХБ. В эксперименте частота инфекционных заболеваний среди лабораторных животных увеличивается. У животных, подвергшихся воздействию токсикантов в пренатальном, неонатальном и постнатальном периоде развиваются неврологические знаки, проявляющиеся, главным образом, нарушением поведения: склонностью к стереотипным УманежнымФ движениям, гипер- или гипоактивности.

У человека наиболее достоверным проявлением действия ПХБ является патология кожных покровов, и в частности, хлоракне.

В условиях производства или при проживании на зараженной местности, отмечается неблагоприятные последствия действия токсикантов на репродуктивные функции женщин и плод. Это проявляется преждевременными родами, снижением веса новорожденных, микроцефалией, отставанием в умственном и физическом развитии детей.

Получены многочисленные данные, свидетельствующие о мутагенном действии ПХБ. В опытах на животных показана способность веществ образовывать аддукты с молекулами ДНК. Однако у человека этот вид токсического действия не подтвержден. Хроническое действие ПХБ в эксперименте проявляется увеличением числа опухолей печени. Показано также, что эти вещества могут являться модификаторами действия известных канцерогенов, выступая в роли промоторов или ингибиторов опухолевого роста. Так, в опытах на животных доказана их роль как промоторов гепатоцеллюлярных опухолей и неопластических изменений, развивающихся при действии N-нитрозаминов. Свойства промоторов у различных изомеров ПХБ выражены тем сильнее, чем в большей степени они способны активировать цитохром Р-450-зависимые оксидазы, чувствительные к 3-метилхолантрону. Канцерогенность ПХБ для человека не доказана.

5.1.3. Хлорированные бензолы (ХБ)

Хлорированные бензолы - это группа химических соединений, используемых в качестве органических растворителей, пестицидов, фунгицидов, компонентов химического синтеза. Они представляют собой молекулу бензола, в которой атомы водорода замещены 1 - 6 атомами хлора (рисунок 6)

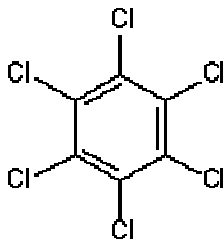


Рисунок 6. Структура молекулы гексахлорбензола

Как правило, воздействию веществами люди подвергаются в производственных условиях, однако в последнее время достаточно высокое количество веществ стали обнаруживать в окружающей среде: воздухе, почве, продовольствии, воде. Чем выше степень хлорирования молекулы, тем ниже растворимость в воде, летучесть веществ.

Токсикокинетика. Хлорированные бензолы - липофильные вещества и потому способны к биоаккумуляции в тканях животных и человека (хотя и в меньшей степени, чем другие хлорированные ароматические углеводороды).

В опытах на животных показано, что вещества, попавшие в организм метаболизируют в печени при участии цитохром-Р-450-зависимых оксидаз до хлорированных фенолов, через стадию ареноксидов. Часть ксенобиотика, попавшего в организм, связывается с клеточными белками и подвергается превращению путем дегалогенирования молекулы. Метаболизм веществ в организме человека практически не изучен. У лиц, подвергшихся воздействию ХБ, метаболиты определялись в крови, жировой ткани, моче, выдыхаемом воздухе.

Хлорированные фенолы выделяются с мочой и калом в основном в форме серусодержащих конъюгатов. Скорость элиминации низка. Полагают, что ХБ могут депонироваться в тканях человека на период до 15 лет (Burton, Bennett, 1987).

Токсикодинамика. Основным проявлением острого токсического действия ХБ является *porphyria cutanea tarda*. Этот эффект, в частности, развился у лиц, употребивших в пищу зерно, обработанное гексахлорбензолом (Турция, 1950).

Данные о других проявления поражения ХБ малочисленны и противоречивы. Сообщается, что у лиц, подвергшихся острому воздействию 1,2-дихлорбензола, развились беспокойств, головная боль, чувство слабости, тошнота, раздражение глаз и слизистых дыхательных путей. У обследованных обнаружено повышение числа хромосомных aberrаций в лейкоцитах периферической крови (8,9% против 2% в контроле).

Исследования на животных свидетельствуют о способности веществ (гексахлорбензола, дихлорбензола) вызывать карциному печени, почек и аденому паращитовидной железы. Исследования на генотоксичность веществ дают отрицательных результат. Не удалось получить объективных данных о канцерогенности ХБ для человека.

5.2. Металлы

5.2.1. Кадмий

Cd представляет собой серебристый, кристаллический металл, напоминающий цинк. Валентность кадмия в его кислородных соединениях: +1, +2. Чаще металл образует двухвалентные соединения, включая

оксиды, гидроксиды, сульфиды, селениды, теллуриды, галлиды. В водных растворах образует с галлидами комплексные анионы.

Металл широко распространен в окружающей среде. Он встречается в природе в форме редких минералов гринокит (CdS) и отавит (CdCO_3). Оба соединения обнаруживаются в цинковых и цинково-свинцовых рудах. Потребление кадмия и загрязнение им почвы, воды и воздуха в результате производственной деятельности неуклонно возрастает. Источниками большинства антропогенных загрязнений являются: выброс кадмия в сточные воды, производство и использование фосфатных удобрений, сжигание отходов, угля бензина и т.д. Однако больше всего в окружающую среду кадмий поступает в виде побочного продукта при выплавке и электролитической очистке Zn .

Таблица 10. Производства и процессы опасные в плане воздействия кадмия

Производство (выплавка) кадмия Выплавка цинка и свинца Электроанодирование металлов Изготовление кадмиево-никелиевых батарей Переплавка анодированных кадмием металлов Производство сплавов (с медью, серебром) Производство стабилизаторов пластмасс Производство красителей Ювелирное производство Электронная промышленность

Кадмий относится к числу высокотоксичных металлов. Он действует на самые разные органы и системы. Металл обладает очень высокой кумулятивной способностью. Пары кадмия, образуемые при плавлении, являются чрезвычайно опасными и представляют собой основную причину острых смертельных интоксикаций металлами. Установленные и подозреваемые эффекты кадмия (от гипертонии до канцерогенеза) наряду с его широким и все возрастающим использованием и накоплением в окружающей среде заставляют предположить, что этот металл представляет наивысшую угрозу человечеству, как экополлютант.

В большинстве стран отсутствует регламент на содержание Cd в пищевых продуктах. ВОЗ рекомендует максимально допустимую дозу металла, поступающую с водой и пищей Ц до 400-500 мкг/неделю, в качестве максимально допустимого уровня заражения воздуха концентрацию 10 мкг/м³.

Токсикокинетика. Поступление кадмия *per os* - основной путь воздействия, не связанный с производством. Содержание Cd в различных пищевых продуктах колеблется от 0,001 до 1,3 частей на миллион (1,3 мкг/г), а суточное потребление Cd с водой и продовольствием составляет в среднем 10-30 мкг. В сильно загрязненных регионах потребление может составить до 400 мкг/сутки. Особенно много Cd содержится в печени и почках убойной, а также морепродуктах. Растительные продукты в целом содержат больше Cd , чем мясные.

Ингаляция Ц другой важный путь поступления Cd в организм. Средняя концентрация Cd в воздухе в различных регионах неодинакова: в сельской местности - 1-6 нг/м³, в городах - 5-60 нг/м³, промышленных районах - 20-700 нг/м³. Ежедневное поступление Cd с вдыхаемым воздухом колеблется в интервале от 0,02 мкг/сут до 2 мкг/сутки. Таким образом, даже в сильно загрязненной местности пища и вода Ц основной источник поражения населения кадмием.

Дополнительный источник поступления кадмия в организм Ц курение. Дело в том, что табак активно кумулирует кадмий, содержащийся в загрязненной почве. Установлено, что курильщик ежедневно выкуривающий пачку сигарет дополнительно ингалирует около 2 мкг Cd /сутки.

Абсорбция кадмия в первую очередь зависит от пути поступления, а затем уже от строения соединения. Большинство солей кадмия плохо абсорбируются в желудочно-кишечном тракте. По расчетам лишь около 5% вещества, попавшего в желудочно-кишечный тракт, всасывается в кровь, хотя ряд факторов, таких как характер пищи и железодефицитная анемия, могут усиливать поступление вещества. Время прохождения металла по желудочно-кишечному тракту достаточно продолжительно, вероятно, вследствие захвата его клетками слизистой оболочки.

Абсорбция в дыхательной системе проходит достаточно полно. В зависимости от степени растворимости в воде ингалированных соединений всасывается до 90% вещества проникшего в глубокие отделы дыхательной системы.

Поступивший в кровь кадмий быстро связывается эритроцитами и альбуминами плазмы. Связавшийся с плазмой металл быстро переходит в различные ткани и органы, преимущественно печень и почки (до 50% поступившего в организм Cd).

Кадмий очень медленно выводится из организма. Период его полувыведения из организма человека составляет по современным оценкам 25-30 лет. Первоначально Cd в неизменном состоянии выделяется через почки. Однако после развития нефропатии происходит значительное увеличение выведения элемента с мочой в комплексе с металлотионеином.

Примерно 95% Cd , попавшего в желудочно-кишечный тракт, выделяется с калом в силу плохой всасываемости металла.

Токсикодинамика. Кадмий и его соединения представляют реальную опасность, как при остром, так и хроническом воздействии.

Острая интоксикация может развиваться как при ингаляционном, так и алиментарном поступлении Cd в организм. Однако для этого нужны достаточно высокие дозы и концентрации. Так, для крыс LD_{50} при внутрижелудочном введении CdO равна 72 мг/кг, CdSO_3 - 88 мг/кг, CdCl_2 - 94 мг/кг, CdSO_4 - 2425 мг/кг. При

вдыхании в течение получаса крысами аэрозоля CdO , образующегося при сжигании Cd на пламени электрической дуги, LK_{50} , составляет 45 мг/м^3 .

Хроническое поражение людей зараженной Cd водой, которую использовали для ирригации рисовых полей, проявлялось, в частности, в форме болезни Итай-итай (Япония).

Проявления хронического воздействия кадмия наиболее отчетливо прослеживаются со стороны дыхательной системы и почек. Поражение легких возникает исключительно при ингаляционном способе воздействия, в то время как почки страдают при поступлении кадмия в организм всеми возможными способами.

Другими эффектами хронического действия металла являются поражения опорно-двигательного аппарата, нарушение функций сердечно-сосудистой системы. Длительное введение металла экспериментальным животным (крысы) сопровождается некрозом нервных клеток чувствительных ганглиев и аксональной дегенерацией и демиелинизацией периферических нервных стволов.

Иммуносупрессивное действие кадмия может быть причиной канцерогенеза, встречающегося у работников, контактирующих с металлом.

Данные, полученные на животных свидетельствуют о том, что Cd может быть сильным канцерогеном. Однако проведенные эпидемиологические обследования не привели к получению однозначных результатов. Так, в ходе эпидемиологических исследований, проведенных Waalkes и Oberdorster (1990), не удалось зарегистрировать абсолютную связь между действием Cd и канцерогенезом, хотя в опытах на грызунах было установлено, что хроническое воздействие кадмия приводит к развитию аденокарциномы легких. С другой стороны, установлено, что профессиональное воздействие смеси токсикантов, среди которых был и Cd , приводит к значительному росту числа опухолей почек (Kolonel, 1976). Тем не менее до настоящего времени Cd не рассматривается как безусловный канцероген для человека.

Тератогенное действие Cd выявляется в опытах на животных. У человека тератогенное действие Cd не зарегистрировано.

Заключение

Основные практические результаты в экотоксикологии получаются в настоящее время в ходе эмпирических исследований в реальных полевых условиях и лабораториях. В будущем необходимо продолжить работы, направленные на установление основных феноменов этой науки. Среди них следует отметить следующие направления:

- выявление видов живых организмов (прежде всего среди определяющих благополучие человеческой популяции), обладающих повышенной чувствительностью к наиболее опасным экотоксикантам;
- изучение закономерностей взаимодействий ксенобиотиков с абиотическими элементами окружающей среды, приводящих к формированию экотоксических эффектов;
- раскрытие закономерностей формирования неблагоприятных эффектов при сочетанном действии веществ, составляющих ксенобиотический профиль среды, влияние на экотоксичность стрессоров нехимической природы;
- выявление молекулярных и клеточных маркеров, позволяющих выявлять токсическое действие ксенобиотиков на экосистемы, до их проявления на уровне популяций и т.д.

ГЛАВА 8.2. СИНДРОМ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОВЫШЕННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ

1. Состояние проблемы

Во многих странах мира феномен Унеспецифической повышенной химической восприимчивости (ПХВ) граждан привлекает внимание не только медицинской общественности, но и административных структур различного уровня. Лица, у которых диагностируют синдром ПХВ, предъявляют целый спектр жалоб на состояние здоровья, связывая это с высокой восприимчивостью к токсическим веществам, находящимся в окружающей среде, на производстве. Иногда у таких лиц при обследовании выявляются признаки нарушений иммунного статуса, некоторые другие отклонения от нормы, нередко - психические нарушения. Проявления СПХВ возникают у предъявляющих жалобы при действии разнообразных веществ в дозах, не вызывающих каких бы то ни было признаков токсического процесса у большей части населения. Это состояние описывается либо как заболевание, обусловленное действием на организм химических веществ, либо как ощущение болезни, возникающее у людей, испытывающих постоянное чувство страха и беспокойство по поводу угрозы для их здоровья Узагрязненной воды, продовольствия, воздуха. Увеличение числа лиц с синдромом ПХВ, предъявляющих по этому поводу иски различным организациям и структурам власти, обусловлено, с одной стороны - озабоченностью населения угрозой здоровью многочисленных токсикантов, присутствующих на рабочем месте, в быту и в окружающей среде, а с другой - отсутствием доверия к официальной информации о реальной опасности химических веществ. В течение многих лет ведется дискуссия относительно того, является ли СПХВ патологией, действительно обусловленной воздействием химикатов, либо причина состояния кроется совсем в ином.

Токсикология, как наука, изучающая неблагоприятное действие веществ на биологические системы, отвечает за определение условий, при которых обеспечивается безопасность, как отдельной личности, так и общества в целом. Официальное представление о риске для здоровья, имеющемся при контакте с ксенобиотиками, формируется в ходе научных токсикологических исследований и выражается в форме соответствующих нормативных, правовых и законодательных актов. Сложилось специальное направление практической и теоретической токсикологии, разрабатывающее методологию оценки рисков (см. раздел УОценка риска действия токсикантов). Однако, существующий в обществе эмоциональный настрой по этому поводу, как правило отличается от официальной позиции, и не контролируется научным сообществом. По мнению большинства жителей развитых стран, риск заболеть вследствие воздействия Узагрязненной среды неуклонно возрастает, не смотря на то, что реально система охраны окружающей среды за последние годы значительно окрепла. Это возрастающее беспокойство по поводу химической опасности отчасти связано с объективной причиной, а именно: - существенным ростом химизации общества, проникновением новых, синтезируемых и производимых в огромных масштабах, веществ во все сферы жизни современного человека, но отчасти и субъективными - отсутствием элементарной токсикологической грамотности у населения и даже у многих специалистов медико-биологического профиля; - не всегда корректным освещением в средствах массовой информации проблем химической опасности.

Дивергенция отношения к химической опасности научного сообщества и населения постоянно растёт. Примерами такого рода Уразмолвок является отказ от использования асбеста при строительстве жилых зданий (указания на его якобы канцерогенные свойства), требования закрыть и прекратить строительство атомных электростанций и т.д.

Этой дивергенции способствуют и ошибки, периодически возникающие (и неизбежные в процессе познания) в ходе научных исследований по оценке рисков, различное отношение ученых и населения к подобным ошибкам. Ученые порицают результаты не воспроизводимых, лишенных тщательного контроля, выполненных на скорую руку экспериментов, демонстрирующих наличие эффектов там, где их нет (ошибки первого типа). Общественность озабочена результатами исследований, констатирующими отсутствие эффекта там, где он реально существует (ошибки второго типа). В итоге в обществе формируется убеждение, что в отношении всего, предназначенного для интродукции в коммерцию, промышленность, сельское хозяйство, должны быть получены научные доказательства абсолютной безвредности.

С точки зрения науки такая постановка вопроса не корректна, поскольку действие любого эндогенного и экзогенного для биологической системы фактора, при определенных условиях, является пагубным, и, следовательно, сопряжено с риском для её благополучия. Изначально - жизнь есть расходование ресурса на сохранение самой себя в условиях среды, действующей в направлении разрушения биосистемы. УВредны с подобных позиций даже естественные физиологические процессы. Каждый вдох есть повод для энерготрат, а стало быть, вреден, т.к. способствует Уизнашиванию организма. В этой связи с научной точки зрения корректной была бы иная постановка вопроса, а именно: что происходит с интегральным показателем риска бытия в конкретных условиях существования организма (популяции) при интродукции в среду нового фактора. При этом следовало бы ставить преграду на пути новаций, увеличивающих этот показатель. Желательной была бы интродукция факторов, снижающих величину показателя интегрального риска (если это в принципе возможно).

Поскольку в реальных условиях эта задача не разрешима, существующие лаборатории заняты решением иной проблемы. В опытах на животных осуществляется более или менее полная оценка относительной опасности новых химических веществ. Если эта характеристика сравнима с уже принятыми и широко эксплуатируемыми веществами, то и новое признаётся безвредным. На самом деле это далеко не так. Как уже указывалось на страницах этой книги, во-первых, не решена проблема переноса данных с животных на человека, во-вторых, в популяции всегда ожидается наличие особей, чувствительность которых к токсиканту существенно выходит за рамки Унормы, в-третьих, ни одно из веществ не может рассматриваться как абсолютно безвредное (см. выше). В этой связи в настоящее время научные лаборатории в значительной степени являются поставщиками данных, получаемых при решении не в полной мере корректно сформулированной задачи. Выход из сложившейся ситуации состоит, с одной

стороны, в широком просвещении населения по проблеме токсикологической и иного вида опасности, с другой - в дальнейшем развитии теории и методологии оценки рисков.

В настоящее же время страх болезни, вызванной воздействием химических веществ (или радиацией) существенно увеличил число жалоб и требований компенсаций за нанесенный ущерб. Несомненно, эмоциональный статус человека, характер общественного восприятия проблемы столь же реальны, сколько и научные измерения. Но тем не менее, следует признать, что первые менее обоснованы, как метод оценки опасности того или иного фактора.

2. Неспецифическая повышенная химическая восприимчивость, как заболевание

Экологическая медицина не описывает состояние ПХВ в терминах традиционной медицины, симптоматики и лабораторных данных. По мнению приверженцев этой школы, ПХВ - состояние, продолжающееся не менее трёх месяцев и характеризующееся полифункциональными нарушениями со стороны различных органов и систем, включая ЦНС и проявляющееся болезненными реакциями различной выраженности - от лёгкого недомогания до полной утраты работоспособности. При углублённом обследовании у пациента, как правило, не удаётся выявить объективных признаков заболевания. Подверженные этому состоянию люди плохо переносят некоторые виды продуктов питания, а также болезненно реагируют на целый ряд веществ, находящихся в окружающей среде в концентрациях, без последствий переносимых большинством населения. При прекращении контакта с УдействующимиФ агентами состояние пациента улучшается, при возобновлении действия - ухудшается.

У большинства больных с синдромом ПХВ отсутствуют специфические проявления интоксикаций или заболеваний, диагностируемых клиническими или лабораторными методами. Выявляемые порой отклонения от нормы могут быть легко объяснены альтернативными, не связанными с действием химических веществ, причинами. Однако предъявляющие жалобы настаивают на том, что их болезнь имеет химическую природу. И действительно, синдром ПХВ у разных лиц имеет много общих черт:

- заболевание появляется после воздействия того или иного токсиканта или смеси веществ;
- симптомы заболевания провоцируются химическими веществами, действующими в дозах, не вызывающих эффектов у большинства населения;
- приступ болезни может быть вызван действием самых разных химических веществ;
- симптомы охватывают разные органы и системы, составляя комбинации, которые трудно объяснить едиными патофизиологическими механизмами;
- с помощью методов лабораторной и функциональной диагностики не удаётся выявить патологические изменения со стороны органов, на состояние которых предъявляются жалобы.

Факторы, вызывающие ПХВ, как правило, связаны с производственным, бытовым или экологическим воздействием. В большинстве случаев конкретное вещество, вызвавшее ПХВ, остаётся не установленным. Больные убеждены, что состояние их здоровья постоянно ухудшается в связи с условиями труда, быта, региона проживания. В этой связи они постоянно меняют место жительства, работу. Пытаясь избавиться от действия вредных веществ, некоторые из них переселяются в горы, пустыни и т.д. Порой самочувствие таких лиц настолько ухудшается, что они полностью утрачивают работоспособность. Ещё одна особенность таких больных состоит в их зависимости от определенной категории практических врачей, называющих себя клиническими экологами, использующими УособыеФ методы диагностики и лечения.

3. Клиническая экология

Клиническая экология сформировалась в 1930 - 1940 годах в рамках концепции, объясняющей аллергические реакции на пищевые продукты. Полагали, что причиной пищевых аллергий являются хронические заболевания неизвестной этиологии. В практику был введен термин Уистоещающее аллергическое напряжениеФ (Spear, 1954). Предполагалось, что данное состояние вызывает поведенческие нарушения, снижение интеллекта у некоторых лиц. В 1950 году Rendolph предложил теорию, согласно которой химические вещества могут вызывать полиорганную патологию, действуя на организм в очень малых дозах. Автор утверждал, что заболевания могут быть вызваны у лиц с высокой чувствительностью веществами, находящимися в ничтожно малых количествах и в окружающей среде.

В США и странах Европы развитие клинической экологии сопровождалось рождением многочисленных научных обществ, появлением журнальных публикаций и руководств. В настоящее время клиническая экология основывается на концепции, согласно которой целый спектр веществ, находящихся в окружающей среде в малых количествах, может стать причиной заболеваний человека. Клинические экологи верят, что воздействие таких веществ приводит к нарушению со стороны различных органов и систем, в том числе страдает и иммунная система, а это, в свою очередь, провоцирует состояние ПХВ. С этим состоянием связывают нередко встречающиеся жалобы на трудно объяснимые постоянные головные боли, утомление, депрессию, нарушения поведения. Перечень веществ, вызывающих ПХВ, включает различные нефтепродукты, пестициды, детергенты, пищевые добавки, вещества бытовой химии, некоторые газообразные вещества и т.д.

Экологические болезни, как утверждалось, являются следствием неспособности человеческого организма адаптироваться к многочисленным химическим веществам, загрязняющим окружающую среду. В тех случаях, когда организм сенситилизован действием таких УполлутантовФ, по мнению экоклинцистов, он будет реагировать развитием патологических состояний на минимальные воздействия самых разных веществ.

Была сделана попытка обосновать эти представления с позиций иммунологии (см. раздел УИммунотоксичностьФ). Так, по мнению авторов, химические вещества, взаимодействуя с макромолекулами организма, образуют гаптены, провоцирующие выработку антител к токсикантам. Взаимодействие токсикантов с антителами вызывает образование иммунного комплекса, активирующего выброс биологически активных веществ, провоцирующего воспалительный процесс. Указывается, что у больных ПХВ более высокое, чем у здоровых людей, содержание Т-хелперов, в сравнении с Т-супрессорами, в связи с чем повышена активность В-лимфоцитов, продуцирующих антитела. Так, у

некоторых больных ПХВ определяется повышенный титр антител к ядрам клеток собственных тканей. Однако у большинства больных ПХВ отсутствуют либо объективные признаки иммунологических нарушений, выявляемые методами клинической и лабораторной диагностики, либо доказательства обусловленности выявляемых нарушений действием химических факторов. Например, позитивная реакция на антитела к ядрам клеток выявляется в 4% случаев общесоматической патологии, у 24% больных системными васкулитами, 33% больных красной волчанкой, 14% больных артритами, у 88% доноров крови в возрасте от 25 до 45 лет и т.д. У лиц, старше 60 лет антитела обнаруживаются в 38% случаев. Некоторые вещества, такие как формальдегид, глютаральдегид, изоцианаты, бериллий и т.д., действительно вызывают нарушения иммунного статуса. Однако эти нарушения проявляются клинически такими патологическими состояниями, как астма, патология почек и легких, кожные сыпи и т.д. (см. соответствующие разделы). Эти виды патологии у больных ПХВ не определяются.

Согласно другой концепции, объясняющей возникновение ПХВ, состояние развивается вследствие недостаточности антиоксидантных систем организма (аскорбиновой кислоты, системы обмена глутатиона, активности супероксиддисмутазы, токоферола и т.д.). В соответствии с этими представлениями токсиканты активируют в организме образование свободных радикалов, которые, в свою очередь, повреждают клетки, инициируют развитие вяло текущего воспалительного процесса в различных органах и тканях. Однако и в данном случае подтвердить эти представления объективными данными, как правило, не удается.

В силу значительного расхождения выраженности объективно выявляемых данных и жалоб на состояние здоровья, высказываемых пациентом, некоторые специалисты склонны рассматривать СПХВ, как психические или психосоматические расстройства. Особенности личности УбольныхФ могут сказываться на их отношении к ощущениям, испытываемых практически всеми, в том числе и вполне здоровыми людьми, и на попытке связать эти УнеблагоприятныеФ ощущения с действием Увредной окружающей средыФ. Вместе с тем, около 78% американцев указывают на наличие у них хотя бы одного из 12 субъективных признаков СПХВ, таких как головные боли, слабость, чувство беспокойства, периодически возникающие сердцебиения и т.д.

Это косвенно указывает более на психические, чем соматические отклонения от нормы, страдающих от синдрома.

Наконец, ПХВ может быть следствием ответной реакции на стресс, связанный с реальным воздействием в прошлом химических веществ. Возникшая в результате такого УопытаФ реакция страха может со временем приводить к соматической патологии. При этом у пострадавшего складывается убеждение, что наблюдаемые отклонения от нормы есть последствия действия химических веществ.

4. Диагностика СПХВ

Диагноз СПХВ ставится на основании предъявляемых жалоб, наличия в анамнезе факта воздействия на больного токсических агентов, выявления в ходе специальных исследований повышенной чувствительности человека к химическим веществам. К числу специальных исследований относятся провокационный тест и тест нейтрализации вредного действия токсикантов.

Эти исследования проводят в специальных камерах. В атмосферу камеры помещают вещество и фиксируют (методом опроса) состояние обследуемого. Наиболее часто предъявляемые жалобы, это: утомляемость, головная боль, тошнота, болевые ощущения в различных органах, выделения из носа, беспокойство, затруднение концентрации внимания, парестезии конечностей. В том случае, если в ходе провокационного теста удастся вызвать хотя бы один из перечисленных симптомов, говорят о положительной реакции на токсикант.

Клинические экологи, прежде всего, обращают внимание на субъективную оценку пациентом качества окружающей среды. В ходе обследования больному задают многочисленные вопросы, касающиеся диеты, возможности контакта с различными веществами в быту и на рабочем месте. Большое внимание уделяется определению самочувствия больного в различных условиях. Результатом подобной работы являются перечни УвредныхФ веществ, контакта с которыми пациенту следует избегать. В качестве УнейтрализаторовФ неблагоприятного действия веществ рекомендуют использовать пищевые экстракты, витамины, гормоны, другие биологически активные вещества естественного происхождения.

5. Лечение синдрома ПХВ

Поскольку большинство больных СПХВ не верят традиционным методам диагностики и лечения, вернуть больного к нормальной жизни порой бывает крайне сложно. В литературе описываются больные, лечившиеся у клинических экологов, и ставшие вследствие этого настолько беспомощными, что они не могли жить в обычной среде. Эти люди продавали дома, переселялись в УчистыеФ регионы, самоизолировались в помещениях, где на них не действовала УхимияФ. Они были убеждены в необходимости избегать всего, включая газеты и воздух городов.

Перед началом лечения необходимо убедиться в отсутствии реальной соматической патологии. Другая важная задача, стоящая перед врачом - добиться того, чтобы больной без скепсиса относился к предлагаемому лечению. Основные направления терапии включают: - ликвидацию стремления пациента избегать контакта с окружающей средой (это невозможно); - снижение зависимости от УдесенсибилизирующихФ средств и специальных диет; - убеждение в улучшении состояния. Это достигается путем: установления доверительных отношений с пациентом, выбора некоторых объективных критериев, по которым больной мог бы оценивать состояние своего здоровья; широкого использования методов психотерапии для снижения состояния напряженности и страха; реальной терапии, выявляемых недугов.

ЛИТЕРАТУРА ПО ТЕМЕ

1. Акрилонитрил. // Гигиенические критерии состояния окружающей среды. 28. - Женева: ВОЗ, 1987. - 114 с.
2. Аничков С.В. и соавт. Здравоохранение в условиях химической обороны. Пособие для врачей. - М.-Л.: Гос. Мед. изд., 1931. - 648 с.
3. Аничков С.В., Лихачев А.А., Предтеченский Б.И. Медико-санитарные основы военно-химического дела. - М.-Л.: Медгиз, 1933. - 155 с.
4. Бадюгин И.С. (Ред.). Военная токсикология, радиология и защита от оружия массового поражения. - М.: Воен. изд., 1992. - 334 с.
5. Бадюгин И.С. Токсикология ядохимикатов. - Казань: Татарское книжное издательство, 1976. - 112 с.
6. Баженов С.В. Ветеринарная токсикология. - Л.: Колос, 1964. - 375 с.
7. Барбье М. Введение в химическую экологию. - М.: Мир, 1978. - 229 с.
8. Барышников И.И., Лойт А.О., Савченков М.Ф. Экологическая токсикология. 1 часть. 11 часть. - Изд. Иркутского университета, 1991. - 282 с.
9. Бережной Р.В. Судебно-медицинская экспертиза отравлений техническими жидкостями. - М.: Медицина, 1977. - 206 с.
10. Бережной Р.В., Смутин Я.С., Томилин В.В., Ширинский П.П. (Ред.). Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений. - М.: Медицина, 1980. - 424 с.
11. Ганжара П.С., Новиков А.А. Учебное пособие по клинической токсикологии. - М.: Медицина, 1979. - 335 с.
12. Гембицкий Е.В., Алексеев Г.И. (Ред.). Военно-полевая терапия. - Л.: ВМА, 1987. - 342 с.
13. Глазова О.И. Отравления и первая помощь при них. (Краткий справочник) - М.: Медгиз, 1952. - 163 с.
14. Глинчиков В.И. Клиника и терапия газотравленных. - М.: Гос. воен. изд., 1925. - 159 с.
15. Голиков С.Н. (Ред.). Неотложная помощь при острых отравлениях. Справочник по токсикологии. - М.: Медицина, 1977. - 311 с.
16. Голиков С.Н. (Ред.). Руководство по токсикологии отравляющих веществ. - М.: Медицина, 1972. - 471 с.
17. Голиков С.Н., Санюцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. - Л.: Медицина, 1986. - 279 с.
18. Головки А.И. и соавт. Токсикология ГАМК-литиков. - СПб.: НИВА, 1996. - 141 с.
19. Головки А.И., Куценко С.А., Ивницкий Ю.Ю. и др. Экоотоксикология. - СПб.: НИИХВ СПбГУ, 1999. - 124 с.
20. Грушко Я.М. Вредные неорганические соединения в промышленных выбросах в атмосферу. Справочник. - Л.: Химия, 1987. - 191 с.
21. Гусынин И.А. Токсикология ядовитых растений. - М.: Госиздат с/х литературы, 1951. - 295 с.
22. Демидов А.В. Авиационная токсикология (избранные разделы). - М.: Медицина, 1967. - 143 с.
23. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. Пер. с англ. - М.: Мир, 1991. - 544 с.
24. Елизарова О.Н., Жидкова Л.В., Кочеткова Т.А. Пособие по токсикологии для лаборантов. - М.: Медицина, 1974. - 168 с.
25. Жоголев Д.Т., Келлер А.А. Опасные животные моря и некоторых районов суши. - М.: Воениздат, 1984. - 160 с.
26. Измеров Н.Ф. (Ред.). Профилактическая токсикология. Сборник учебно-методических материалов. Т.1. - М.: Центр Международных проектов ГКНТ, 1984. - 380 с.
27. Иличкин В.С. Токсичность продуктов горения полимерных материалов. Принципы и методы определения. - СПб.: Химия, 1993. - 133 с.
28. Исидоров В.А. Введение в курс химической экотоксикологии. Учебное пособие. - СПб.: Изд. СПб. Университета, 1997. - 88 с.
29. Исидоров В.А. Введение в химическую экотоксикологию. Учебное пособие. - СПб.: Химиздат, 1999. - 142 с.
30. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов. - Киев: Здоровье, 1981. - 174 с.
31. Каган Ю.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов. - М.: Медицина, 1977. - 296 с.
32. Калоянова-Симеонова Ф. Пестициды. Токсическое действие и профилактика. Пер. с болгарского. - М.: Медицина, 1980. - 304 с.
33. Карасик В.М. Исторический очерк учения о противоядиях. // Природа, 1939. - N 7. - С. 90 - 94.
34. Карасик В.М. Противоядия. // Руководство по фармакологии. Т.2 - Л.: Медгиз, 1962. - С. 436 - 452.
35. Каспаров А.А., Санюцкий И.В. (Ред.). Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду. - М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1986. - 426 с.
36. Катцунг Б.Г. Базисная клиническая фармакология. Т.1. Пер. с англ. - М.-СПб.: Бином. Невский Диалект, 1998. - 611 с.
37. Катцунг Б.Г. Базисная клиническая фармакология. Т.2. Пер. с англ. - М.-СПб.: Бином. Невский Диалект, 1998. - 669 с.
38. Косоротов Д.П. Краткий учебник токсикологии. - СПб.: Типогр. Я. Трея, 1907. - 264 с.
39. Крылов С.С. и соавт. Клиническая токсикология лекарственных средств. Холинотропные препараты. - СПб.: Изд. Лань, 1999. - 157 с.
40. Курляндский Б.А., Филлов В.А. (Ред.). Вредные химические вещества. Азотсодержащие органические соединения. Справочник. - Л.: Химия, 1992. - 432 с.

41. Кушнев В.С., Горшкова Р.Б. (Ред.). Справочник по токсикологии и гигиеническим нормативам (ПДК) потенциально опасных химических веществ. - М.: ИздАТ, 1999. - 272 с.
42. Лазарев Н.В. Основы промышленной токсикологии. - Л.: Медгиз, 1938. - 184 с.
43. Лазарев Н.В. Эволюция фармакологии. - Л.: Изд. Воен.-Морск. Мед. акад., 1947. - 276 с.
44. Лазарев Н.В., Гадаскина И.Д. (Ред.). Вредные вещества в промышленности. 111. Неорганические и элементарорганические соединения. Справочник для химиков, инженеров и врачей. - Л.: Химия, 1977. - 607 с.
45. Лазарев Н.В., Гадаскина И.Д. (Ред.). Вредные вещества в промышленности. 11. Органические вещества. Справочник для химиков, инженеров и врачей. - Л.: Химия, 1976. - 623 с.
46. Лазарев Н.В., Левина Э.Н. (Ред.). Вредные вещества в промышленности. 1. Органические вещества. Справочник для химиков, инженеров и врачей. - Л.: Химия, 1976. - 590 с.
47. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. - Л.: Медицина, 1972. - 184 с.
48. Линдеман В. Токсикология химических боевых веществ. Пер. с польского. - М.: Изд. Наркомздрава РСФСР, 1928. - 406 с.
49. Лойт А.О. Профилактическая токсикология. Раздел 9. Первичная токсикологическая оценка химических веществ. - СПб.: Теза, 1996. - 36 с.
50. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. - М.: Медицина, 1982. - 368 с.
51. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. - М.: Медицина, 1994. - 255 с.
52. Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цыбулькина Э.К. (Ред.). Клиническая токсикология детей и подростков. Часть 2. - СПб.: Интермедика, 1999. - 400 с.
53. Маркова И.В., Афанасьев В.В., Цыбулькина Э.К., Неженцева М.В. (Ред.). Клиническая токсикология детей и подростков. Часть 1. - СПб.: Интермедика, 1998. - 304 с.
54. Могош Г. Острые отравления. Диагноз. Лечение. - Бухарест: Мед. изд., 1984. - 579 с.
55. Монов А. Шокковые состояния при острых токсических и аллергических заболеваниях. - София: Медицина и физкультура, 1982. - 237 с.
56. Морган Д.Э., Михаил М.С. Клиническая анестезиология. Пер. с нгл. - М.-СПб.: Бином. Невский Диалект, 1998. - 430 с.
57. Мышьак // Гигиенические критерии состояния окружающей среды. 18. - Женева: ВОЗ, 1990. - 185 с.
58. Мясников В.В. (Ред.). Защита от оружия массового поражения. - М.: Воен. изд., 1989. - 398 с.
59. Новиков В.С. (Ред.). Программированная клеточная гибель. - СПб.: Наука, 1996. - 275 с.
60. Оксигендлер Г.И. Яды и организм. Проблемы химической опасности. - СПб.: Наука, 1991. - 317 с.
61. Орлов Б.Н., Гелашвили Д.Б. Зоотоксикология (ядовитые животные и их яды). - М.: Высшая школа, 1985. - 280 с.
62. Орлов Б.Н., Гелашвили Д.Б., Ибрагимов А.К. Ядовитые животные и растения СССР. - М.: Высшая школа, 1990. - 272 с.
63. Павловский Е.Н. Ядовитые животные средней Азии и Ирана. Ташкент: Госиздат УзССР, 1942. - 116 с.
64. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. Пер. с англ. - М.: Медицина, 1973. - 288 с.
65. Пеликан Е.В. (Ред.). Руководство к токсикологии. Составлено по Рабюто. - СПб., 1878. - 471 с.
66. Пигулевский С.В. Ядовитые животные. Токсикология беспозвоночных. - Л.: Медицина, 1975. - 375 с.
67. Пигулевский С.В. Ядовитые животные. Токсикология позвоночных. - Л.: Медицина, 1966. - 386 с.
68. Пиотровски Е. Использование кинетики метаболизма и выведения токсичных веществ в решении проблем промышленной токсикологии. Пер. с англ. - М.: Медицина, 1976. - 195 с.
69. Плате Н.А., Васильев А.В. Физиологически активные полимеры. - М.: Химия, 1986. - 294 с.
70. Правдин Н.С. Руководство по промышленной токсикологии. Выпуск 1. - М.-Л.: Биомедгиз, 1934. - 259 с.
71. Предтеченский Б.И. Цлаф Я.Б. (Ред.) Пособие по санитарно-химической защите. М.-Л.: Медгиз, 1940. - 518 с.
72. Принципы изучения болезней предположительно химической этиологии и их профилактика. // Гигиенические критерии состояния окружающей среды. 72. - Женева: ВОЗ, 1990. - 76 с.
73. Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В. Неантихолинэстеразные механизмы действия антихолинэстеразных средств. - Л.: Медицина, 1976. - 160 с.
74. Розенгарт В.И., Шерстобитов О.Е. Избирательная токсичность фосфорорганических инсектицидов. - Л.: Наука, 1978. - 174 с.
75. Рэмсен Э.Н. Начала современной химии. Пер. с англ. - Л.: Химия, 1989. - 784 с.
76. Саватеев Н.В. (Ред.). Военная токсикология, радиология и медицинская защита. - Л.: ВМА, 1987. - 355 с.
77. Савицкий Н.Н. (Ред.). Первая помощь и лечение при промышленных отравлениях. Справочник для врачей медсанчастей и здравпунктов. - Л.: Медгиз, 1952. - 84 с.
78. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ. - М.: Медицина, 1987. - 399 с.
79. Скарлато О.А. (Ред.). Биотестирование в решении экологических проблем. Сборник научных работ. - СПб.: Рос. АН, 1991. - 135 с.
80. Сондерс Б. Химия и токсикология органических соединений фосфора и фтора. Пер. с англ. - М.: Изд. иностранной литературы, 1961. - 424 с.

81. Софронов Г.А., Баринов В.А., Александров М.В. Некоторые вопросы корабельной токсикологии. - СПб.: ВМА, 1998. - 53 с.
82. Султанов М.Н. Укусы ядовитых животных. Клиника, патогенез, лечение и профилактика укусов змей и других ядовитых животных. - М.: Госиздат мед. лит., 1963. - 152 с.
83. Тараховский М.Л., Каган Ю.С., Мизюкова И.Г. и др. Лечение острых отравлений. - Киев: Здоровье, 1982. - 232 с.
84. Титан // Гигиенические критерии состояния окружающей среды. 72. - Женева: ВОЗ, 1986. - 59 с.
85. Тиунов Л.А., Кустов В.В. Токсикология окиси углерода. - М.: Медицина, 1980. - 286 с.
86. Толоконцев Н.А., Филов В.А. (Ред.). Основы промышленной токсикологии (руководство). - Л.: Медицина, 1976. - 303 с.
87. Филов В.А. Определение ядохимикатов в биологических средах. - М.-Л.: Наука, 1964. - 251 с.
88. Филов В.А., Мусийчук Ю.И., Ивин Б.А. (Ред.). Вредные химические вещества. Природные органические соединения. Т.7. - СПб.: Изд. СПХФА, НПО УМир и Семья-95Ф, 1998. - 504 с.
89. Филов В.А., Тиунов Л.А. (Ред.). Вредные химические вещества. Галоген- и кислородсодержащие органические соединения. Справочник. - СПб.: Химия, 1994. - 688 с.
90. Флюри Ф., Церник Ф. Вредные газы. Пер. с нем. - М.: Ред. химической литературы, 1938. - 846 с.
91. Франке З. Химия отравляющих веществ. Т.1. Пер. с нем. - М.: Химия, 1973. - 436 с.
92. Худолей В.В., Мизгирев И.В. Экологически опасные факторы. - СПб.: АОЗТ УПФФ, 1996. - 186 с.
93. Черкес А.И., Луганский Н.И., Родионов П.В. (Ред.). Руководство по токсикологии отравляющих веществ. - Киев: Здоровье, 1964. - 464 с.
94. Чумаков В.В. и соавт. Токсикологический справочник для врачей Военно-морского флота. - СПб.: МО РФ, 1996. - 130 с.
95. Шанин В.Ю. Клиническая патофизиология. - СПб.: Специальная литература, 1998. - 569 с.
96. Шицкова А.П., Рязанова Р.А. Гигиена и токсикология пестицидов. - М.: Медицина, 1975. - 191 с.
97. Штаркенштейн Э., Рост Э., Поль И. Токсикология. Руководство для врачей, студентов, фармацевтов и судебных работников. Выпуск 1 - М.-Л.: Гос. Мед. изд., 1931. - 222 с.
98. Штаркенштейн Э., Рост Э., Поль И. Токсикология. Руководство для врачей, студентов, фармацевтов и судебных работников. Выпуск 2 - М.-Л.: Гос. Мед. изд., 1933. - 292 с.
99. Шустов В.Я. (Ред.). Профессиональные болезни. - Изд. Саратовского университета, 1980. - 297 с.
100. Эдере Ш. Истен М. Химическое оружие и его токсическое действие. - М.: Гос. Воен. изд., 1938. - 510 с.
101. Ahrens G. Die Giftprüfung. - Leipzig: Johann Ambrosius Barth, 1971. - 214 s.
102. Bassus W. Gifte im Tierreichen. - Wittenberg, Lutherstadt: A. Ziemsen Verlag, 1963. - 104 s.
103. Bosshard E. Review on skin and mucous-membrane irritation tests and their application// Fd. Chem. Toxic., 1985. - V. 23, N 2. - pp. 149 - 154.
104. Cockerham L.G., Shane B.S. (Ed.). Basic Environmental Toxicology. - Boca Raton, FL: CRC Press, 1994. - 627 p.
105. Ecobichon D.J. The Basis of Toxicity Testing. - Boca Raton, FL: CRC Press, 1992. - 329 p.
106. Filov V.A., Golubev A.A., Lublina E.I., Tolokontsev N.A. Quantitative toxicology. - John Wiley & Sons, 1979. - 462 p.
107. Friemel H., Brock J. Grundlagen der Immunologie. - Berlin: Akademie-Verlag, 1976. - 177 s.
108. Graumann W. (Editor). Histo- and Cytochemistry as Tool in Environmental Toxicology. - Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1991. - 415 s.
109. Hauschild F. Pharmakologie und Grundlagen der Tjxikologie. - Leipzig: VEB Georg Thieme, 1973. - 1251 s.
110. Hayes A.W. (Ed.). Principles and methods of Toxicology. 2nd ed. - New York: Raven Press, 1989. - 929 p.
111. Hodgson E., Levi P.E. (Ed.). Introduction to Biochemical Toxicology. 2nd ed. - Norwalk, CT: Appltone & Lange, 1994. - 588 p.
112. Hodgson E., Levi P.E. Textbook of modern toxicology. - Appleton and Lang, 1997. - 496 p.
113. Jorgenson S.E. (Ed.). Modeling in Ecotoxicology. - Amsterdam, Oxford, New York, Toktyo: Elsevier, 1990. - 353 p.
114. Kruger M. Chemische Kampfstoffe (C-Waffen). Teil 2// Dermatosen, 1991. - V. 39, N. 6. - pp. 179 - 193.
115. Landis W.G., Yu M-H. Introduction to Environmental Toxicology. - Boca Raton, FL: Lewis Publishers, 1995. - 328 p.
116. Liebenow H., Liebenow K. Giftpflanzen. Vademekum fur Tierarzte, Humanmediziner, Biologen und Landwirte. - Jena: VEB Gustav Fischer, 1973. - 213 s.
117. Loomis T.A., Hayes A.W. Essentials of Toxicology. 4th ed. - San Diego: Academic Press, 1966. - 282 p.
118. Lu F.C. Basic Toxicology. 2nd ed. Washington: Hemisphere, 1991. - 361 p.
119. Ludewig R., Lohs K., Akute Vergiftungen. - Jena: VEB Gustav Fischer, 1974. - 633 s.
120. Paracelsus. Von der Bergsuch und anderen Bergkrankheiten. // Four Treatises of Teophrastus von Hohenheim calld Paracelsus. - Baltimore: Jons Hopkins Press, 1941.
121. Rang H.P., Bevan S., Dray A. Chemical activation of nociceptive peripheral neurons// British. Medical Bulletin, 1991. - V. 47, N 3. - pp. 534 - 548.
122. Trevan J.W. The error of determinaton of toxicity // Proc. R. Soc. Lond., 1927/ - 101 B. - P. 483 - 514.