

экологической безопасности, но и по экономическим показателям, учитывая их разносторонний вклад в управление здоровьем растений [5]. Первоочередной задачей, стоящей перед разработчиками биопрепаратов на бактериальной основе, является изучение антагонистической активности потенциальных продуктивных бактериальных агентов, в частности спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, с целью совершенствования методов борьбы с фитофагами, фитопатогенами и растительноядными насекомыми.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ботбаева, Ж. Т. Отбор штаммов рода *Bacillus* с противогрибковой активностью для создания эффективных биопрепаратов / Ж. Т. Ботбаева [и др.] // Биол. мед. геогр. – 2011. – № 2. – С. 29–33.
2. Грабова, А. Ю. Скрининг штаммов бактерий рода *Bacillus* – активных антагонистов фитопатогенов бактериальной и грибной природы / А. Ю. Грабова [и др.] // Микробиол. журн. – 2015. – № 6. – С. 47–54.
3. Леляк, А. А. Антагонистический потенциал сибирских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений / А. А. Леляк, М. В. Штерншис // J. of Biology. – 2014. – № 1. – С. 42–55.
4. Приходько, С. И. Антагонистические свойства бактерий, выделенных из листьев капусты / С. И. Приходько, О. В. Селицкая // АгроЭкоИнфо. – 2015. – № 6. – С. 101.
5. Штерншис, М. В. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений / М. В. Штерншис [и др.]. – Новосибирск: Издат. Сибирск. Рос. АН, 2016. – 284 с.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКАМИ

CLINICAL AND LABORATORY ASSESSMENT OF VIOLATIONS DURING THE CHRONIC INTOXICATION BY XENOBIOTICS

В. Ю. Зиновкина¹, Т. Н. Глинская²

V. Zinovkina¹, T. Glinskaya²

¹Научно-практический центр гигиены,
г. Минск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
г. Минск, Республика Беларусь
zinovkina@mail.ru

¹Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus

²National Center of Blood Transfusion and Medical Biotechnology,
Minsk, Republic of Belarus

На моделях хронического токсического поражения печени, вызванного четыреххлористым углеродом, и внепеченочного холестаза, изучены патогенетические аспекты развития патологического процесса и определены наиболее информативные клинико-лабораторные показатели, позволяющие проводить комплексную оценку состояния целостного организма, органа-мишени – печени, а также лизосомальной системы гепатоцитов.

On the models of chronic toxic liver damage caused by carbon tetrachloride and extrahepatic cholestasis, the pathogenetic aspects of the development of the pathological process were studied and the most informative clinical and laboratory indices were determined, allowing a comprehensive assessment of the state of the whole organism, the target organ - the liver, and the lysosomal system of hepatocytes.

Ключевые слова: хлорированные углеводороды, хронические токсические повреждения печени, внепеченочный холестаз, токсемия, цитолиз, лизосомальные гидролазы.

Keywords: chlorinated hydrocarbons, chronic toxic liver damage, extrahepatic cholestasis, chronic toxicity, cytolysis, lysosomal hydrolases.

Проблема загрязнения окружающей среды, обусловленная высокой степенью химизации производств, включая сельскохозяйственное, ограниченное использование безопасных для экологии технологий, последствия техногенных катастроф и связанные с этим нарушения здоровья человека сохраняют свою актуальность. Достаточно частным проявлением влияния на организм неблагоприятных факторов внешней среды, в том числе, химических, является развитие хронических повреждений печени токсической и холестатической природы, которые сопровождаются развитием синдрома эндогенной интоксикации. Исследования проводились в условиях биологического эксперимента на крысах с соблюдением правил работы с экспериментальными животными.

Моделирование хронического токсического поражения печени (ХТПП) осуществлялось подкожным введением масляного раствора CCl_4 по стандартной методике. Внепеченочный холестаз (ВХ) моделировали путем перевязки и перерезки общего желчного протока под наркозом. Сроки моделирования ХТПП составили 26 суток, 10, 20, 36 недель от начала затравки CCl_4 . Сроки моделирования при ВХ составили 12 ч, 3 суток, 1 неделя, 2 недели, 3 недели от начала эксперимента. Контролем служили интактные животные. Изучали выживаемость экспериментальных животных, анализировались показатели бромсульфалеиновой пробы (БСП), продолжительности гексеналового сна (ПГС), в сыворотке крови определялась активность аминотрансфераз (АлАТ, АсАТ), содержание веществ группы «средних молекул» (СМ), содержание общего билирубина, активность лизосомальных кислых гидролаз (ЛГ): катепсинов (К.К.), рибонуклеазы (К.РНК-азы), дезоксирибонуклеазы (К.ДНК-азы), бета-Д-галактозидазы (бета-Д-гал.), фосфатазы (КФ), степень токсичности сыворотки крови (СТК), содержание малонового диальдегида (МД) в ткани печени [1].

На моделях ХТПП и ВХ динамика патологических изменений характеризовалась стадийностью, которая выражалась в различном соотношении удельного веса патологических и компенсаторных реакций [1]. На фоне ХТПП 26 дней сдвиги со стороны изученных показателей свидетельствовали о преобладании собственно патологических реакций над компенсаторными (1 стадия). Отмечалась высокая смертность, достигавшая 24,5 %. Лабораторные исследования выявили высокую степень токсемии. Содержание СМ в сыворотке крови превышало значение контроля в 2,2 раза ($p < 0,05$), показатель токсичности крови – в 2,5 раза ($p < 0,05$), активность АлАТ – в 2,0 раза ($p < 0,05$), отношение активности АлАТ/АсАТ – в 2,1 раза ($p < 0,05$). Содержание МД в ткани печени превышало аналогичное значение контроля на 56,8% ($p < 0,05$). Активность ЛГ в плазме достоверно ($p < 0,05$) превышала значения интактного контроля: для катепсина Д – в 2,1 раза, К.РНК-азы – в 2,0 раза, К.ДНК-азы – в 1,7 раза, бета-Д-гал. – в 1,6 раза. Изучение лабораторных показателей в сроки ХТПП со 2-го до конца 4-го месяца позволило выявить достаточную выраженность реакций компенсации, обеспечивающих значительное сокращение патологических сдвигов со стороны изучаемых показателей (2 стадия). Установлено усиление детоксикационных процессов, которые выражались в снижении, по сравнению с предыдущим сроком ХТПП, степени токсемии крови, цитолиза, улучшение функционального состояния печени и ЛС. К 10-недельному сроку наблюдения содержание СМ в сыворотке крови превышало контрольные значения в 1,2 раза ($p < 0,05$), показатель токсичности крови – в 1,5 раза ($p < 0,05$), активность АлАТ – в 1,9 раза ($p < 0,05$), отношение активности АлАТ/АсАТ – в 1,9 раза ($p > 0,05$). Содержание МД в ткани печени превышало аналогичное значение контроля на 14,5 %. Со стороны плазменных гидролаз отмечались дальнейший рост активности катепсина Д – в 3,0 раза по отношению к контролю ($p < 0,05$), снижение активности бета-Д-гал. до практически контрольного значения (108,9 %). С конца 5-го месяца начался переход в 3-ю стадию, характеризующуюся преобладанием патологических реакций над компенсаторно-приспособительными. Особенно отчетливо это выразилось на этапе 36-недельного ХТПП. В более выраженной степени, чем в 1-ю стадию, увеличилась степень токсемии: содержание СМ было на 31 % ($p < 0,01$) и степень токсемии крови на 10 % ($p < 0,05$) выше 10-недельных величин. Еще значительно возросли активность АлАТ – до 220 % ($p < 0,01$) и соотношение АлАТ/АсАТ до 215 % ($p < 0,001$) контроля. Ухудшилось функциональное состояние печени и ее способность к биоконверсии ксенобиотиков: степень задержки БСФ на 10-й достигло 220 % ($p < 0,01$) и на 15-й минутах – 264 % ($p < 0,001$); ПГС увеличилась до 146 % ($p < 0,01$). Активность ЛГ в плазме крови значительно увеличилась для К.РНК-азы – в 1,7 раза ($p < 0,05$), возросла для бета-Д-гал. – на 30,2 % ($p < 0,05$), снизилась для К.К. – на 82,3 % ($p < 0,01$) по сравнению с 10-недельным ХТПП.

Для первой стадии ВХ (12 часов-3 суток) было характерно резкое ухудшение состояния животных. Моча приобретала ярко-желтый цвет. В этот период 1/5 часть животных погибала. В крови животных отмечалось нарастающее увеличение содержания общего билирубина, достигшего к третьим суткам 1727,0 % от контроля ($p < 0,001$), резкое увеличение содержания кислых гидролаз в сыворотке крови на 58,0–399,0 % ($p < 0,05$) превышавших контроль. Начиная с середины 1-й до конца 2-й недели ВХ состояние крыс несколько улучшалось. Наблюдалась выраженная желтушность ушей и хвоста, а при вскрытии брюшной полости – окрашивание в желтый цвет серозных оболочек и печени. На этом этапе гибель животных существенно снижалась. В дальнейшем, несмотря на продолжающееся нарастание желчестазы степень билирубинемии снижалась: к концу 1-й недели была ниже предыдущего значения на 402 % ($p < 0,001$), а к концу второй стадии составила 1503,0 % ($p < 0,001$) от исходных значений. Содержание ЛГ в сыворотке крови устанавливалось на относительно постоянном, существенно более низком уровне, по сравнению с 1-ой стадией, но повышенном, по сравнению с контролем, уровне. Во 2-ю стадию активность К.К. и К. ДНК-азы в сыворотке крови имели достоверное снижение к началу (7-е сутки) и возрастание к концу 2-ой стадии (14-е сутки). Активность бета-Д-гал. к началу 2-й стадии нарастала, а к ее исходу по сравнению с контролем снижалась ($p < 0,01$). Динамика активности ЛГ в сыворотке крови свидетельствует о стабилизации лизосомальных мембран в эту стадию ВХ. На протяжении третьей недели ВХ от начала эксперимента (3-я стадия) животные вновь становились малоподвижными, резко теряли в весе, кожа имела выраженный желтый оттенок. Гибель животных на 21-е сутки развития ВХ достигала 1/3. При вскрытии брюшной полости у части животных отмечался асцит, печень была плотная, на ее поверхности появлялись бурые пятна. На 21-е сутки эксперимента содержание общего билирубина у крыс вновь нарастало, достигая 1488,3 % ($p < 0,001$) контроля. В сыворотке крови содержание кислых гидролаз имело разнонаправленный характер: увеличивалась активность К.К., достигавшая 529,8 % ($p < 0,01$) контрольных значений. Активность остальных из-

учаемых кислых гидролаз имели тенденцию к снижению по сравнению с предыдущим сроком патологического процесса, что обуславливалось уменьшением их поступления в кровеносное русло.

Таким образом, в ходе развития ХТПП и ВХ изменения в соотношении патологических и компенсаторно-приспособительных реакций отмечаются на всех уровнях организации целостного организма: организменном, системном, органном, клеточном и субклеточном, в связи с чем, использованные клинико-лабораторные показатели являются достаточно информативными для оценки патогенеза развития токсических повреждений печени и определения степени повреждения на всех уровнях интеграции целостного организма в условиях хронической интоксикации ксенобиотиками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хронические поражения печени холестатической и токсической природы (патогенетические аспекты) / А. А. Кривчик [и др.]. – Минск : БГМУ, 2004 – 183 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОФОРОНА В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ И ВОДЕ ВОДОЕМОВ ISOPHORONE DEFINITION IN DRINKING WATER AND WATER RESERVOIRS

Л. С. Ивашкевич, Н. А. Шилова
L. Ivashkevich, N. Shilova

*Научно-практический центр гигиены,
г. Минск, Республика Беларусь
chromatographic@rcpch.by
Scientific Practical Centre of Hygiene, Minsk, Republic of Belarus*

Разработан метод определения изофорона в питьевой воде и воде водоемов с использованием газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием. Метод отличается простотой исполнения и высокой чувствительностью. Предел обнаружения составляет 0,01 мг/м³, извлечение изофорона из анализируемой пробы составляет 94,7 %.

An isophorone determining method for drinking water and water bodies by gas-liquid chromatography with flame ionization detection has been developed. The method is characterized by simplicity and high sensitivity. The detection limit is 0,01 mg/m³, the recovery is 94,7 %.

Ключевые слова: изофорон, газожидкостная хроматография, вода.

Keywords: isophorone, gas-liquid chromatography, water.

Изофорон является веществом, широко применяемым в качестве растворителя как в лакокрасочной промышленности, так и при производстве пестицидов. Вещество относится ко 2 классу опасности, обладает наркотическим действием, вызывает раздражение слизистых оболочек. Его ориентировочный допустимый уровень в воде водоемов – 0,03 мг/дм³.

Имеющийся в настоящее время метод определения изофорона, а также ряда других органических соединений основан на использовании хромато-масс-спектрометра, которые не всегда имеются в наличии в лабораториях, поскольку анализ имеет высокую стоимость и требует высокий уровень квалификации исследователя.

Цель работы – разработка общедоступного, чувствительного и простого в исполнении метода определения изофорона в питьевой воде и воде водоемов.

Предлагаемый метод основан на извлечении изофорона из анализируемых проб органическим растворителем и определении его методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с применением пламенно-ионизационного детектора.

Изофорон – представляет собой ненасыщенный циклический кетон. Он растворяется в эфире, ацетоне, спирте, растворимость в воде составляет 12000 мг/л при 25 °С. Для разработки метода использовали различные экстрагенты и подбирали оптимальные условия хроматографирования. Показано, что график зависимости площади пика изофорона от его концентрации находится в линейном диапазоне от 1 до 20 мкг/см³. Ориентировочное время удерживания изофорона, которое устанавливают по его стандартному раствору – 6,0 мин.

Пробу (100 см³) воды помещают в делительную воронку вместимостью на 500 см³ и экстрагируют хлороформом трижды порциями по 50 см³. Полученные экстракты пропускают через слой сульфата натрия, объединяют и упаривают на ротационном вакуумном испарителе до объема 0,2–0,3 см³ при температуре не выше 30 °С. Остаток растворителя удаляют в токе воздуха. Сухой остаток в колбе растворяют в 1 см³ этилового спирта и анализируют при разработанных условиях хроматографирования.