

УДК [615. 9 : 667. 621. 64] : 001.891.5

ИЗУЧЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТИЛМЕТАКРИЛАТА И АКРИЛОНИТРИЛА ПРИ ПОВТОРНОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Василькевич В.М., Половинкин Л.В., Соболев Ю.А., Шидловская Т.А.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр гигиены», 220012, ул. Академическая, 8, г.Минск, Республика Беларусь, тел. 8 (017) 284-13-91, e-mail авторов: sabas2004@mail.ru, y_sobol@mail.ru

Проведено экспериментальное изучение при повторном ингаляционном поступлении в опытах *in vivo* (белые крысы) характера комбинированного действия метилметакрилата и акрилонитрила по изменению комплекса морфо-функциональных показателей. В результате поставленного эксперимента было установлено, что преимущественный характер комбинированного действия метилметакрилата и акрилонитрила в принятых условиях эксперимента более чем аддитивный (потенцирование).

Ключевые слова: метилметакрилат, акрилонитрил, комбинированное действие.

Введение

Из приведенных в литературе результатов изучения комбинированного действия химических веществ [1-4] прослеживается следующая особенность – на характер комбинированного действия веществ способны оказывать влияния условия эксперимента. Так, установленный тип комбинированного действия может не совпадать для одних и тех же веществ при разных путях поступления и продолжительности воздействия, что необходимо учитывать при экспериментальном изучении закономерностей взаимодействия веществ друг с другом и с организмом лабораторных животных, а также в случае регламентации загрязнения окружающей среды несколькими веществами одновременно. Таким образом, оценка характера комбинированного действия веществ-загрязнителей должна предусматривать проведение экспериментальных исследований изолированного и комбинированного биологического действия веществ при разных уровнях и времени воздействия.

Касательно проблемы загрязнения воздуха помещений химическими веществами, выделяющимися из отделочно-интерьерных материалов на полимерной, древесной и минеральной основах, которые получили широкое распростра-

нение в создании интерьера современных помещений жилых, общественных и административных зданий, необходимо отметить важность изучения комбинированного действия основных (приоритетных) веществ-загрязнителей, т.к. полученные данные в дальнейшем необходимо учитывать при гигиенической оценке качества воздушной среды и регламентации содержания загрязнителей в воздухе помещений.

Среди огромного разнообразия отделочно-интерьерных полимерных материалов особо следует выделить группу синтетических каучуков на основе бутадиена и сополимеров бутадиена с акрилонитрилом (НАК) и стиролом, а также сополимеров метилметакрилата (ММА) и стирола. Несмотря на очевидные потребительские достоинства, эксплуатация указанных материалов сопровождается выделением в окружающую среду вредных химических веществ, среди которых чаще всего обнаруживается миграция НАК, ММА, стирола и формальдегида.

Ранее нами были представлены результаты изучения характера комбинированного действия бинарных смесей ММА, стирола и НАК, полученных в острых опытах *in vivo* при однократном внутрижелудочном поступлении [5]. Учитывая, что дозовая (концентрационная) на-

грузка и путь поступления может влиять на характер комбинированного действия, в дополнение к полученным ранее результатам представляется интересным изучить влияние этих веществ на организм подопытных животных при их раздельном и совместном повторном ингаляционном поступлении.

В данной статье представлены результаты экспериментального изучения комбинированного действия смеси ММА + НАК.

Материалы и методы исследования

Ингаляционную затравку проводили в затравочных камерах (объем 250 л) аэрозолями ММА и НАК раздельно и в смеси на нелинейных беспородных белых крысах обоего пола (по 8 особей в каждой из опытных групп, контрольная группа состояла из 16 особей лабораторных животных, находившихся на стандартном рационе вивария) по 4 часа ежедневно в течение 7 дней, соблюдая этические нормы и правила проведения работ с лабораторными животными.

Отбор проб воздуха для контроля уровня содержания в камере изучаемых веществ проводили после 1,5 и 3 ч. от момента начала ингаляционного воздействия, а определение веществ в пробах воздуха осуществляли газохроматографически. В ходе эксперимента в затравочных камерах создавались следующие концентрации ($M \pm m$, $\text{мкг}/\text{м}^3$): ММА — $854,6 \pm 10,9$; НАК — $209,1 \pm 3,45$. Это соответствовало уровню $0,05 \text{ CL}_{50}$ и $0,25 \text{ CL}_{50}$ (средней смертельной концентрации) для ММА и НАК соответственно.

Для оценки токсических эффектов использовали ряд показателей — физиологические: суммационно-пороговый показатель (СПП), частота сердечных сокращений (ЧСС), температура тела, морфологические: — масса тела и относительные коэффициенты массы внутренних органов (ОКМ); гематологические — гемоглобин, эритроциты, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты, тромбоциты крови; биохимические — белковая флуоресценции триптофанилов, битирозина, глутатионпероксидаза (ГП), глутатион восстановленный (Г-SH), глутатионредуктаза (ГР), глутатион-S-трансфераза (ГТ), SH-группы, супероксиддисмутаза (СОД), мочевины, глюкоза, липиды, общий белок, хлориды, аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ), функциональные показатели мочевыделительной системы — диурез, белок, креатинин, хлориды, мочевины.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы «STATISTICA 6.0». Данные представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (P25 —

Таблица 1

Морфо-функциональные показатели белых после повторного ингаляционного воздействия ММА, НАК и их бинарной смеси

Изучаемые показатели, единицы измерения	Контрольная группа	Группы сравнения, Me и (P25 — P75)		
		1 опытная группа (ММА)	2 опытная группа (НАК)	3 опытная группа (ММА + НАК)
Физиологические показатели				
СПП, в	10,50 (9,9-11,2)	10,50 (9,4-10,5)	10,00 (9,5-10,5)	8,00 (7,8-8,5)*
Температура, °С	38,40 (38,24-38,71)	38,20 (38,10-38,50)	38,90 (38,50-39,20)	38,30 (38,18-38,43)
ЧСС, уд/мин	414,0 (414,0-428,0)	436,5* (424,5-445,0)	429,5 (414,0-445,0)	421,0 (414,0-428,0)
Масса, кг^{-3}	160,0 (155,5-165,0)	151,0 * (148,8-160,5)	143,0 (141,5-150,5)*	144,0 (140,0-149,5)*
Относительные коэффициенты массы внутренних органов, $\text{кг}^{-3}/\text{кг}$				
Печень	32,77 (31,80-34,20)	33,30 (31,80-34,80)	31,99 (30,77-33,02)	36,91 (34,42-38,60)*
Почки	6,75 (5,93-7,26)	7,20 (6,90-8,00)	6,96 (6,81-7,10)	7,50 (7,39-7,78)*
Сердце	3,94 (3,67-4,13)	3,80 (3,6-4,0)	4,00 (3,83-4,27)	4,10 (3,84-4,39)
Легкие	9,24 (8,13-11,32)	10,00 (8,06-12,46)	9,00 (8,00-11,00)	7,00 (7,00-8,00)*
Селезенка	5,50 (4,92-6,18)	5,70 (4,80-6,11)	5,89 (5,29-6,83)	5,02 (4,40-5,31)

Примечание: * — различия по сравнению с контрольной группой достоверны при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Таблица 2

Гематологические и биохимические показатели крови белых крыс при повторном ингаляционном воздействии ММА, НАК и их бинарной смеси

Исследуемые показатели, единицы измерения	Контр. группа	Группы сравнения, Ме и (P25 — P75)		
		1 опыт группа, ММА	2 опыт группа НАК	3 опыт группа ММА + НАК
Гематологические показатели периферической крови:				
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	18,19 (17,19-18,71)	15,30 (15,13-15,83)*	18,99 (14,41-19,59)	13,38 (12,82-14,10)*
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	3,28 (2,99-3,47)	5,05 (4,81-5,36)*	4,27 (4,06-4,73)*	3,44 (2,9-3,58)
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,64 (0,54-0,75)	0,53 (0,52-0,56)	0,47 (0,46-0,49)*	0,32 (0,26-0,36)*
Базофилы, 10 ⁹ /л	0,24 (0,14-0,29)	0,15 (0,12-0,23)	0,19 (0,13-0,29)	0,10 (0,06-0,13)*
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,82 (0,52-1,02)	0,72 (0,48-0,79)	0,72 (0,60-0,87)	0,88 (0,71-1,08)
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	10,99 (10,50-11,89)	10,96 (10,05-11,41)	12,17 (11,39-12,90)	9,75 (9,06-10,20)*
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,30 (7,19-7,40)	7,34 (7,06-7,44)	6,85 (6,68-6,94)*	7,59 (7,28-7,69)
Гемоглобин, г/л	144,5 (141,0-146,5)	132,0 (130,3-136,8)*	139,5 (137,8-140,3)*	147,0 (143,3-150,5)
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	710,5 (667,0-739,0)	736,5 (655,0-806,5)	727,0 (688,5-798,3)	831,0 (823,5-837,5)*
Биохимические показатели:				
ГР, мкМоль/г Нб мин	2,25 (2,21-2,44)	2,48 (2,35-2,66)	2,56 (2,30-3,00)	2,95 (2,81-3,18)*
Активность ГТ, мкМоль/г Нб мин	1,22 (1,01-1,21)	1,07 (1,01-1,21)	1,18 (1,03-1,24)	1,19 (1,04-1,37)
SH-группы, мкМ/мгНб	139,3 (131,8-145,3)	126,4 (122,3-132,5)*	130,33 (139,05-135,94)	117,87 (116,54-119,25)
G-SH, мкМ SH/мгНб	20,14 (18,79-21,17)	18,20 (17,99-19,48)*	18,71 (18,19-19,59)	16,62 (16,49-16,80)*
ГП, мкМ/гНб	191,4 (159,75-201,20)	186,2 (171,88-203,70)	207,6 (203,87-221,25)*	173,2 (155,00-177,39)
Флуоресценция битиризинов в сыворотке крови, усл.ед.	0,22 (0,21-0,24)	0,20 (0,18-0,21)	0,22 (0,20-0,24)	0,26 (0,22-0,26)
Флуоресценция триптофанилов в сыворотке крови, усл. ед.	20,80 (19,95-21,4)	19,80* (17,05-21,33)	21,40 (20,06-22,78)	19,15 (18,35-20,30)*
СОД в гемолизате крови, мкг/мл	55,00 (47,43-55,18)	48,49 (47,33-55,20)	47,43 (46,50-53,09)	48,72 (44,06-51,25)
Мочевина, ммоль/л	5,62 (4,71-6,33)	4,60 (4,38-5,25)	4,40 (4,30-4,80)*	4,99 (4,66-5,08)
Хлориды, ммоль/л	105,0 (103,0-106,0)	102,5 (100,0-105,0)	115,0 (113,8-116,3)*	121,0 (120,0-122,0)*
АЛТ, мкмоль/мл*час	0,09 (0,08-0,10)	0,09 (0,08-0,09)	0,10 (0,09-0,10)	0,09 (0,07-0,10)
АСТ, мкмоль/мл*час	0,16 (0,15-0,16)	0,16 (0,15-0,16)	0,20 (0,19-0,20)	0,13 (0,13-0,16)
Глюкоза, моль/л	4,16 (4,16-4,44)	4,44 (4,44-4,79)*	4,40 (4,20-4,70)	3,75 (3,80-4,16)
Липиды, г/л	4,09 (3,80-4,10)	3,40 (3,35-3,83)*	3,80 (3,50-4,00)	4,10 (3,88-4,13)

Примечание: * — различия по сравнению с контрольной группой достоверны при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

P75). Достоверность различий оценивалась по критерию Манна-Уитни. Различия между контрольной и опытными группами считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Для оценки характера комбинированного действия из всех изученных показателей, отражающих изолированное и совместное влияние веществ, были выбраны те из них, которые характеризуются достоверными различиями в опытной группе по сравнению с контрольной группой при уровне статистической значимости $p < 0,05$. При этом показателем степени выраженности комбинированного действия являлось соотношение наблюдаемых эффектов в смеси к изолированному воздействию, обобщенно выражаемое коэффициентом комбинированного действия ($K_{\text{кд}}$). Если $K_{\text{кд}}$ больше чем 1,0, то характер комбинированного действия является более чем аддитивным (потенцирование); в случае, если $K_{\text{кд}}$ меньше чем 1,0, то такое комбинированное действие расценивается как менее чем аддитивное (антагонизм); если отличие $K_{\text{кд}}$ от 1,0 несущественно, то действие принимается аддитивным (суммация) [6].

Результаты исследований и их обсуждение

Исследованиями установлено, что на всем протяжении ингаляционного воздействия ММА, НАК и их смеси (ММА+НАК) гибели и клинических симптомов интоксикации животных в течение всего эксперимента не наблюдалось, а характер изменения морфо-функциональных

показателей представлен в табл. 1.

Следует отметить, что из 9-и представленных в табл. 1 морфо-функциональных показателей к окончанию эксперимента после воздействия смеси НАК + ММА по 4-м отмечены достоверные ($p < 0,05$) различия по сравнению с контролем, в то время, как ингаляция отдельно одним из веществ в аналогичных условиях эксперимента приводила к достоверным ($p < 0,05$) изменениям лишь по 2-м показателям.

После завершения затравки у животных, подвергавшихся воздействию смеси НАК + ММА, наблюдалось достоверное снижение величины СПП (на 24% по сравнению с контролем), что указывает на возбуждение нервной системы. У животных опытных групп отмечалось снижение массы тела, что выражено в статистически значимых ($p < 0,05$) различиях массы тела в группе животных после воздействия ММА, НАК и их смеси на 6, 11 и 10 % соответственно. ОКМ легких у подопытных крыс после ингаляции смесью веществ был меньше, чем у крыс в контрольной группе (в 1,32 раза, $p < 0,05$). ОКМ печени и почек лабораторных животных, затравленных смесью, был достоверно больше, чем таковой у контрольных животных (в 1,13 и 1,1 раза соответственно). ОКМ других органов (сердца, селезенки) у подопытных крыс не отличались от контроля.

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что действие смеси ММА + НАК вызвало статистически значимое по сравнению с контролем снижение содержания в крови лейкоцитов, эозинофилов, базофилов и лимфоцитов крови в 1,4, 2, 2,4, 1,13 раза соответственно. На общем фоне угнетения роста белой крови со стороны красной крови существенных различий между контрольной и группой животных после воздействия смеси не выявлено, а количество тромбоцитов после ингаляции смесью достоверно увеличилось (в 1,17 раза). Вместе с тем, при изолированном воздействии ММА и НАК отмечено достоверное снижение содержания гемоглобина (соответственно на 10 и 3.5 %), а при воздействии бинарной смеси отмечается тенденция к увеличению гемогло-

Таблица 3

Показатели функционального состояния мочевыделительной системы белых крыс при повторном ингаляционном воздействии ММА, НАК и их бинарной смеси

Исследуемые показатели, ед. изм	Контр. группа	Группы сравнения, Ме и (P25 — P75)		
		1 опыт группа ММА	2 опыт группа НАК	3 опыт группа ММА + НАК
Диурез, мл/сутки	4,00 (3,70-4,25)	6,10 (5,80-6,55)*	4,05 (3,80-4,20)	5,20 (5,00-6,05)*
Белок, мг/сутки	0,20 (0,2-0,31)	0,35 (0,34-0,36)*	0,23 (0,22-0,25)	0,30 (0,24-0,30)
Креатинин, мМоль/сутки	6,40 (5,45-7,83)	3,00 (2,80-3,28)*	6,80 (6,51-6,80)	6,05 (5,30-6,40)
Хлориды, мг/сутки	0,23 (0,18-0,28)	0,38 (0,34-0,39)*	0,23 (0,21-0,26)	0,32 (0,27-0,34)
Мочевина, мМоль/сутки	1,93 (1,50-2,10)	2,90 (2,77-3,10)*	1,91 (1,86-2,06)	2,49 (2,12-2,58)*

Примечание: * — различия по сравнению с контрольной группой достоверны при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

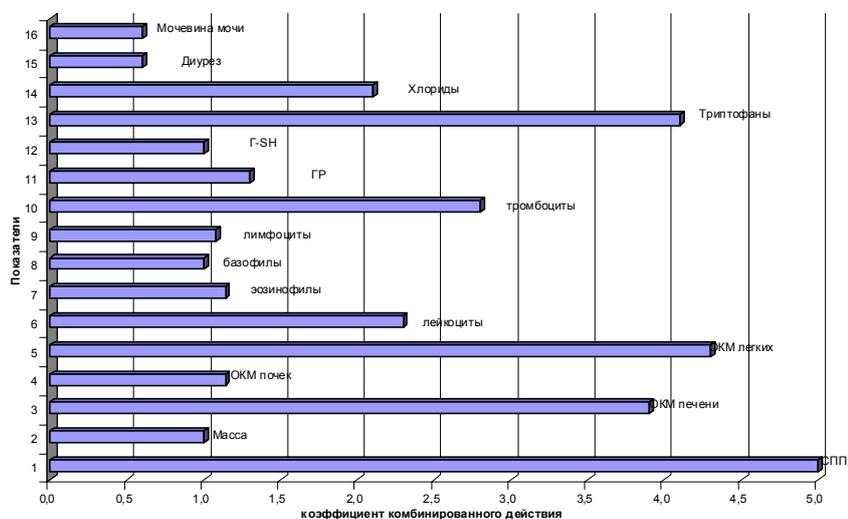


Рис. 1 – Значение $K_{кд}$ по изменению изученных показателей состояния организма белых крыс при повторном ингаляционном воздействии смеси ММА + НАК

бина.

Изучение влияния смеси НАК + ММА на биохимические показатели подопытных животных показало, что она вызывает увеличение активности ГР (в 4,3 раза, $p < 0,05$) и снижение содержания Г-SH (в 1,2 раза, $p < 0,05$) по сравнению с контролем. К концу эксперимента отмечено статистически значимое снижение флуоресценции триптофанов и увеличение концентрации хлоридов в крови соответственно на 9% и 15% к контрольному уровню.

Ингаляционное воздействие смеси НАК + ММА приводит к достоверному увеличению в 1,3 раза диуреза и концентрации мочевины в суточной моче относительно животных контрольной группы. Токсическое воздействие смеси на функцию мочевыделительной системы также проявляется тенденцией к увеличению выделения с мочой белка и хлоридов (табл. 3), что соотносится с увеличением концентрации хлоридов в крови.

Оценка характера комбинированного действия смеси основывалась на сопоставлении изолированных эффектов с токсичностью комбинации по совокупности изученных показателей достоверно (при $p < 0,05$) различающихся в опытной группе после воздействия смеси по сравнению с контрольной группой (16 показателей).

Рассчитанные значения $K_{\text{кд}}$ изученных показателей (табл. 1-3) после воздействия смеси ММА + НАК представлены на рис. 1.

Усредненный $K_{\text{кд}}$ для принятых условий эксперимента с учетом изменений всех изученных показателей при повторном ингаляционном воздействии смеси ММА + НАК составляет $2,09 \pm 0,37$.

Характер комбинированного действия смеси ММА + НАК по изменению комплекса изученных показателей в 62,5% является более чем аддитивным (потенцирование), в 25,0% аддитивным (суммирование) и в 12,5% менее чем аддитивным (антагонизм).

Выводы

Подострое ингаляционное воздействие бинарной смеси ММА + НАК в концентрациях 0,05 CL_{50} и 0,25 CL_{50} соответственно по степени выраженности морфо-функциональных изменений в организме белых крыс оказывает более чем аддитивное действие (потенцирование), что необходимо учитывать при гигиенической регламентации химических веществ в воздушной среде помещений жилых, общественных и административных зданий.

Литература

1. Уланова, И.П. Вопросы гигиенического нормирования смесей газов и паров химических веществ / И.П. Уланова // Токсикология новых промышленных химических веществ. — М.: Медицина, 1969. — Вып.11. — С. 33-39.
2. Пинигин, М.А. Актуальные проблемы коммунальной токсикологии в связи с химическим загрязнением атмосферного воздуха / М.А. Пинигин // Проблемы токсикологии. — М.: ВИНТИ, 1974. — Т.6.- С. 83-139.
3. Нагорный, П.А. Комбинированное действие химических веществ и методы его гигиенического изучения / М.А. Нагорный. — М.: Медицина, 1984. — 184 с.
4. Голиченков, А.М. Экспериментальное изучение комбинированного действия основных химических загрязнителей воздуха жилых помещений — фенола, стирола и формальдегида / А.М. Голиченков // Актуальные вопросы гигиены и экологической безопасности Украины на рубеже столетий: материалы научно-практической конференции, посвященной памяти О.М. Марзеева — Киев, 1999. — Вып.2. — С. 53-59.
5. Василькевич, В.М. Изучение характера комбинированного действия бинарных смесей стирола, метилметакрилата и акрилонитрила в острых опытах *in vivo* / В.М. Василькевич,

Л.В. Половинкин, Ю.А. Соболев // Актуальные проблемы транспортной медицины: окружающая среда; профессиональное здоровье; патология: науч. журнал Украинского НИИ транспорта М-ва здравоохранения Украины и Физ-хим ин-та им. А.В. Богатского НАН Украины. – 2012. — №1 (27). — С.137-143.

6. Health effects of combined exposures in the work environment: Technical reports. Series 662. – Geneva, 1981. – 76 p.

Резюме

ВИВЧЕННЯ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ
МЕТИЛМЕТАКРИЛАТУ ТА
АКРИЛОНІТРИЛУ ПРИ ПОВТОРНОМУ
ІНГАЛЯЦІЙНОМУ ВПЛИВІ

*Василькевич В.М., Половинкин Л.В.,
Соболев Ю.О., Шидловська Т.А.*

Проведено експериментальне вивчення при повторному інгаляційному надходженні в досліджах *in vivo* (білі щури) характеру комбінованої дії метилметакрилату та акрилонітрилу по зміні комплексу морфо-функціональних показників. В результаті поставленого експерименту було встановлено, що переважний характер комбінованої дії метилметакрилату та акрилонітрилу в прийнятих умовах експерименту більш ніж адитивний (потенціювання).

Ключові слова: метилметакрилат, акрилонітрин, комбінована дія.

Summary

THE STUDY OF COMBINED ACTION OF
METHYL METHACRYLATE AND
ACRYLONITRILE IN REPEATED
INHALATION EXPOSURE.

*Vasilkevich V.M., Polovinkin L.V.,
Sobol Yu.A, Shidlovskaya T.A.*

An experimental study with repeated inhalation in experiments *in vivo* (white rats) the nature of the combined effect of methyl methacrylate and acrylonitrile to change the complex functional parameters. As a result of experiments carried out showed that the predominant character of the combined effect of methyl methacrylate and acrylonitrile in the adopted experimental conditions, more than additive (potentiation).

*Keywords: methyl methacrylate,
acrylonitrile, the combined effect.*

*Впервые поступила в редакцию 25.06.2012 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*