УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ З ПРОБЛЕМ

МЕДИЦИНИ ПРАЦІ

1(50)`2017

ISSN 2223-6757

У НОМЕРІ:

Certificate
ICI Journals Master List

INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL

Certificates that journal

Ukrainian Journal of Occupational Health

ISSN 2223-6757

has been indexed in
the ICI Journals Master List in 2015

1 October 2016
Date

Signature

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ З ПРОБЛЕМ МЕДИЦИНИ ПРАЦІ

1(50)'2017

Науково-практичний журнал для
гігієністів, фізіологів, токсикологів та лікарів-профпатологів

ЗАСНОВНИК
Державна установа
«Інститут медицини праці
Національної академії
медичних наук України»

Заснований у квітні 2005 р.

Виходить 4 рази на рік

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ
вул. Саксаганського, 75,
Київ 01033, Україна
Тел.: (044) 289-70-88
E-mail: ujohjournal@gmail.com

ВИДАВЕЦЬ
ТОВ «Видавничий дім
"Авіцена"»

У НОМЕРІ:

УДК 613.63,615.9; 615.252.349.7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОДХОДОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИ ГИГИЕНИЧЕСКОМ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИИ КСЕНОБИОТИКОВ

О. С. Лалыменко

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков

Введение. В последнее время для выявления устойчивых причинно-следственных связей между воздействием неблагоприятных химических факторов и возникновением профессиональной патологии приоритетным является использование методологии биологического мониторинга.

Цель исследования. Определение и обоснование биомаркеров экспозиции и эффекта, как критериев для биологического мониторинга антидиабетического средства производного янтарной кислоты.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 85 половозрелых крысах-самцах. Изучены особенности токсикокинетики в условиях однократного внутрижелудочного введения водной эмульсии субстанции антидиабетического средства с твин-80 в дозе 100 мг/кг м.т. Субхроническое воздействие изучено в условиях внутрижелудочного (30-кратно в дозе 100 мг/кг м.т.) и интраназального (20-кратно в дозах 6,7 и 1 мг/мл, что в перерасчете соответствует порогу острого (Lim_{ac}) и хронического (Lim_{ch}) ингаляционного действия) введения субстанции антидиабетического средства подопытным животным. Исследовано состояние процессов пероксидного окисления липидов, антиоксидантного статуса и метаболизма оксида азота. Хроматографическое определение антидиабетического средства и его метаболитов в плазме крови подопытных животных проведено с использованием метода ВЭЖХ.

Результаты. В условиях однократного воздействия антидиабетического средства установлены основные его токсикокинетические параметры, для соединения характерно быстрое поступление и довольно длительная циркуляция в системном кровотоке, а также превалирование процессов биотрансформации основного соединения над его экскрецией.

Установлено, что концентрация изучаемого соединения и его метаболитов (2-ГФСА и β-ФЭСА) в плазме крови являются тестами/биомаркерами экспозиции в условиях субхронического внутрижелудочного и интраназального введения антидиабетического средства.

Биомаркерами эффекта внутрижелудочного действия антидиабетического средства являются : повышение уровня ГПЛ сыворотки крови, снижение уровней NO_2^- / NO_3^- плазмы крови, ГП гемолизата эритроцитов и c-NOS гомогената печени. Биомаркерами эффекта интраназального воздействия антидиабетического средства являются : повышение уровня ГПЛ гомогената печени, снижение уровней NO_2^- / NO_3^- плазмы крови, c-NOS и ГП гемолизата эритроцитов.

Выводы. Определены и обоснованы биомаркеры экспозиции антидиабетического средства (концентрация антидиабетического средства и его метаболитов в плазме крови) и эффекта (уровни ГПЛ, NO_2^- / NO_3^-, активность ГП, c-NOS), которые являются лимитирующими критериями влияния данного соединения на организм и их следует учитывать в качестве дополнительных критериев при его гигиеническом регламентировании в воздухе рабочей зоны для повышения точности оценки риска влияния изучаемого соединения на организм работающих.

***Ключевые слова* :** биомониторинг, биомаркеры экспозиции и эффекта, антидиабетическое средство.

Введение

В настоящее время определяющим фактором потенциального риска для здоровья населения и работающего контингента является увеличение масштабов использования химических веществ и материалов, которые ежегодно поступают в оборот и оказывают неблагоприятное воздействие на организм [1].

Химико-фармацевтическая промышленность является крупнейшим сегментом экономики любой страны и по международной классификации Агентства по охране окружающей среды США занимает одно из ведущих мест по химической опасности [2]. При этом, одним из вредных факторов в химико-фармацевтической отрасли, в частности, при производстве лекарственных средств (ЛС) является загрязнение воздуха рабочей зоны аэрозолями органических и неорганических химических соединений на разных стадиях технологического процесса [3].

Расширение в Украине собственного потенциала лекарственных препаратов, в частности антидиабетических средств, ставит перед наукой и практикой ряд важных задач по созданию экологически безопасных производств и предупреждению неблагоприятного влияния лекарственных средств на организм работающих [4].

В последнее время в медицине труда приоритетными являются исследования, направленные на поиск и научное обоснование адекватных критериев для биологического мониторинга, по мнению экспертов ВОЗ использование данного направления является основным инструментом для выявления устойчивых причинно-следственных связей между воздействием неблагоприятных факторов на организм человека в первую очередь химических, загрязнением окружающей среды и возникновением профессиональной патологии [5].

Биологический мониторинг предусматривает установление достоверной взаимосвязи между уровнем ксенобиотика в воздухе рабочей зоны/ атмосферном воздухе и содержанием этого соединения или его метаболитов (независимо от путей поступления в организм) в биологических субстратах у работающего контингента/ населения, то есть определение тестов (биомаркеров) экспозиции. Тест экспозиции или биомаркер экспозиции – это содержание непосредственно токсиканта или продуктов его биотрансформации в биологическом субстрате (плазма крови, моча и т.п.), зависящее от уровня экзогенной дозы соединения, поступившего в организм человека [6].

Количественными выражениями результатов биологического мониторинга являются: биологические индексы экспозиции (Biological Exposure Indices - BEI), рекомендованные Американской ассоциацией государственных промышленных гигиенистов; биологически толерантные величины (Biologischer Arbeitstoff -Toleranz-Wert - BAT), внедренные Немецким научно-исследовательским обществом; биологические предельные значения (Biological Limit Value - BLV), предложенные Научным комитетом по предельным значением Европейского Комитета; биологическая предельно допустимая концентрация (БГДК), рекомендованная органами государственного санитарного надзора России . ВОЗ рекомендует эти критерии под названием – биомониторинговые уровни влияния «biomonitoring action levels» (BALs) [7-12].

В последнее время учеными гигиенистами все чаще обсуждается вопрос о необходимости установления биологических индексов экспозиции для мониторинга профессионального воздействия ЛС и их компонентов, принимая во внимание их плейотропный профиль биологического / токсического действия на здоровый организм даже в малых дозах [13].

При проведении биомониторирования широко используют биологические маркеры, среди которых различают биомаркеры экспозиции, эффекта и чувствительности. Биомаркеры экспозиции близки к понятию биологического индекса экспозиции, поскольку основаны на количественном определении самого ксенобиотика/ его метаболитов в биосубстрате с учетом его кинетических характеристик и особенностей специфического действия на организм. Биомаркеры эффекта представляют собой различные количественные показатели (биохимические, физиологические, иммунологические и др.), изменения которых отражают неспецифический ответ организма на вредное воздействие химического фактора в зависимости от его экзогенного уровня. Биомаркеры чувствительности отражают индивидуальную генетическую или приобретенную предрасположенность к повышенной ответной реакции организма на действие конкретного ксенобиотика [5].

Необходимо отметить, что при разработке биомаркеров (тестов) экспозиции особое внимание уделяется изучению особенностей токсикокинетики ксенобиотика, что предусматривает определение токсикокинетических параметров химического соединения в конкретный временной интервал. Данные исследования позволяют установить возможные кинетические различия поведения ксенобиотика при однократном воздействии от регулярного, ежедневно повторяющегося влияния на организм, что наиболее приближено к производственным условиям [14].

В качестве примера по разработке критериев для биомониторинга выбрано антидиабетическое средство производное янтарной кислоты β-фенилэтиламид 2-оксисукцинаниловой кислоты – (β-ФЭА-ОСАК), синтезированное в ДУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины» (г. Харьков). Установлено, что β-фенилэтиламид 2-оксисукцинаниловой кислоты обладает антигипергликемической, антиоксидантной активностью, оказывает влияние на ключевые патогенетические звенья сахарного диабета на ранних стадиях его развития, снижая риск сосудистых осложнений [15]. Всесторонне изучены особенности его токсикодинамики, установлен и утвержден в законодательном порядке гигиенический норматив в виде предельно допустимой концентрации в воздухе рабочей зоны [16]. Определены потенциальные метаболиты β-ФЭА-ОСАК: 2-гидроксифенилсукцинамид (2-ГФСА) и β-фенилэтилсукцинамид (β-ФЭСА). На данный момент ведется работа по промышленному выпуску антидиабетического средства, в связи с чем всестороннее изучение данного соединения с привлечением результатов биомониторинга является актуальным и своевременным.

Цель исследования

Определение и обоснование биомаркеров экспозиции и эффекта, как критериев для биологического мониторинга антидиабетического средства производного янтарной кислоты.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 85 половозрелых крысах-самцах массой тела 200-260 г, содержащихся в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» [17].

Особенности токсикокинетики изучены в условиях однократного внутрижелудочного введения водной эмульсии субстанции β-ФЭА-ОСАК с твин-80 в дозе 100 мг/кг м.т.

Субхроническое воздействие субстанции антидиабетического средства изучено в условиях внутрижелудочного (30-кратно в дозе 100 мг/кг м.т.) и интраназального (20-кратно в дозах 6,7 и 1 мг/мл, что в перерасчете соответствует порогу острого (Lim_{ac}) и хронического (Lim_{ch}) ингаляционного действия соответственно [18]) введения водной эмульсии β-ФЭА-ОСАК подопытным животным. Контрольным животным внутрижелудочно вводили – водный раствор с твин-80, интраназально – стерильный физиологический раствор в количестве 0,3 мл/кг. Для выявления тестов/биомаркеров экспозиции определяли концентрации β-ФЭА-ОСАК и его метаболитов в плазме крови крыс (при внутрижелудочном введении после 5, 15 и 30 дней, при интраназальном – в конце эксперимента) с помощью разработанной нами биоаналитической методики на основании высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Для установления биомаркеров эффекта проведены биохимические исследования. Изучено состояние процессов липопероксидации по уровню диеновых конъюгатов (ДК), гидроперекисей липидов (ГПЛ), активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКАС); показателей антиоксидантной защиты по активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП), глутатион-S-трансферазы (ГТ) и метаболизма оксида азота по активности синтазы оксида азота (c-NOS) и уровням нитрит/нитрат анионов (NO_2^-/ NO_3^-) в различных биосредах [19-27]. Исследование биохимических показателей проведено после 5, 15 и 30 дней в условиях внутрижелудочного поступлення и в конце эксперимента при интраназальном введении субстанции β-ФЭА-ОСАК.

Нормальность распределения в рядах определяли по критерию Шапиро-Уилка (W). Для парного сравнения показателей подопытной группы животных с интактным контролем использовали критерий Стьюдента. Для обоснования биомаркеров экспозиции проведено математическое моделирование зависимости «экзогенная доза антидиабетического средства (β-ФЭА-ОСАК) − концентрация β-ФЭА-ОСАК /метаболитов в плазме крови». При устрановлении биомаркеров эффекта – зависимости «вероятности отклонения биохимических показателей у подопытной группы животных по сравнению с контрольной от концентрации β-ФЭА-ОСАК и его метаболитов в плазме крови». Расчет параметров моделей и проверку их адекватности осуществляли с помощью стандартной процедуры линейного регрессионного анализа с использованием однофакторного дисперсионного анализа, критерия Фишера и определением 95%-ных доверительных интервалов (ДИ). Фактический материал обрабатывали с помощью пакета программного обеспечения StatSoft 10 [28].

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе основных токсикокинетических параметров установлено быстрое поступление (30 мин) и довольно длительная циркуляция (48 ч) β-ФЭА-ОСАК и его метаболитов в системном кровотоке на фоне замедленного клиренса исходного соединения. Определено, что процессы биотрансформации β-ФЭА-ОСАК несколько превалируют над его экскрецией, на что указывает увеличение константы скорости элиминации (k_{el}) на фоне относительно низких значений системного клиренса, а также удлинение времени достижения средних максимальных концентраций метаболитов по сравнению с основным соединением.

Анализируя данные хроматографического определения концентраций исследуемых соединений в плазме крови в условиях внутрижелудочного и интраназального поступления, выявлены и оценены параметры зависимости «экзогенная доза β-ФЭА-ОСАК – концентрация β-ФЭА-ОСАК/его метаболитов в плазме крови», которые позволили получить адекватную логистическую модель. На основании результатов математического моделирования установлена прямая корреляционная зависимость между экзогенной внутрижелудочной дозой и концентрациями β-ФЭА-ОСАК и его метаболитов в плазме крови, выведены уравнения линейной регрессии для β-ФЭА-ОСАК: $y = 5{,}9153 \cdot x - 109{,}4$ ($n=21$; $r=0{,}87$; $F= 14{,}2$; $p\leq 0{,}0000$), для 2-ГФСА: $y = 5{,}6587 \cdot x - 109{,}62$ ($n=21$; $r=0{,}74$; $F= 7{,}3$; $p\leq 0{,}0001$), для β-ФЭСА : $y = 10{,}808 \cdot x - 225{,}59$ ($n=21$; $r=0{,}85$; $F= 15{,}5$; $p\leq 0{,}00002$), где y – концентрация β-ФЭА-ОСАК или его метаболитов в плазме крови, нг/мкл; x – внутрижелудочно введенная доза субстанции β-ФЭА-ОСАК, мг. Также установлена прямая корреляционная зависимость между экзогенной интраназальной дозой β-ФЭА-ОСАК и его концентрациями в плазме крови и выведены уравнения линейной регрессии для β-ФЭА-ОСАК: $y = 0{,}0268 \cdot x + 12{,}3$ ($n=20$; $r=0{,}89$; $F= 20{,}5$; $p\leq 0{,}0002$), для 2-ГФСА: $y = 0{,}0051 \cdot x + 4{,}2$ ($n=20$; $r=0{,}70$; $F= 25{,}4$; $p\leq 0{,}001$), для β-ФЭСА : $y = 0{,}0291 \cdot x + 3{,}7$ ($n=20$; $r=0{,}80$; $F= 14{,}9$ $p\leq 0{,}0001$) где x –интраназально введенная доза субстанции β-ФЭА-ОСАК, мкг.

Концентрация β-ФЭА-ОСАК и продуктов его биотрансформации (2-ГФСА и β-ФЭСА) в плазме крови оценены как тесты/биомаркеры экспозиции в условиях субхронического внутрижелудочного и интраназального введения антидиабетического средства.

Для определения биомаркеров эффекта при внутрижелудочном и интраназальном введении соединения проведено исследование состояния прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза и метаболизма оксида азота.

Показано, что у подопытной группы животных в условиях внутрижелудочного введения исследуемого соединения установлены статистически значимые изменения уровней ТБКАС крови и гомогената печени, ГПЛ сыворотки крови и гомогената печени, активности каталазы сыворотки крови, СОД и c-NOS гомогената печени, ГП и ГР гемолизата эритроцитов, NO_2^- / NO_3^- плазмы крови, мочи и гомогената печени относительно уровней у контрольних животных.

При интаранзальном введении субстанции β-ФЭА-ОСАК у подопытных животных выявлены изменения уровней ДК сыворотки крови, ТБКАС и ГПЛ гомогената печени, активности каталазы сыворотки крови, ГП, ГР и c-NOS гемолизата эритроцитов, Г-S-трансферазы и c-NOS гомогената печени и уровней NO_2^-/NO_3^- плазмы крови, мочи и гомогената печени относительно значений у контрольной группы животных.

Для обоснования полученных изменений в качестве биомаркеров эффекта нами проведено математическое моделирование и оценка параметров зависимости «вероятности отклонения значений биохимических показателей подопытной группы животных по сравнению с контролем от концентрации β-ФЭА-ОСАК или его метаболитов в плазме крови (биомаркер экспозиции – биомаркер эффекта)» методом построения логистической регрессионной модели.

При оценивании результатов математического моделирования на фоне внутрижелудочного введения соединения получены адекватные модели, характеризующие статистически значимую связь содержания β-ФЭА-ОСАК в плазме крови (биомаркер экспозиции) с вероятностью повышения уровня ГПЛ сыворотки крови ($r= 0,74$; $F= 18$; $p\leq0,02$) и активности ГР гемолизата эритроцитов ($r=0,87$; $F= 21$; $p\leq0,003$), снижения уровней NO_2^- плазмы крови ($r= -0,76$; $F= 25$; $p\leq0,03$) и гомогената печени ($r= -0,80$; $F= 14$; $p\leq0,014$) и активности ГП гемолизата эритроцитов ($r= -0,80$; $F= 68$; $p \leq0,03$), c-NOS гомогената печени ($r= -0,82$; $F= 80$; $p\leq0,001$); содержания 2-ГФСА в плазме крови с вероятностью снижения активности СОД гомогената печени ($r= -0,75$; $F= 36$; $p\leq0,003$); содержания β-ФЭСА в плазме крови с вероятностью повышения уровня ГПЛ ($r= 0,74$; $F= 23$; $p\leq0,002$) и активности каталазы в сыворотке крови ($r= 0,73$; $F= 47$; $p\leq0,03$) и снижения уровня NO_2^- плазмы крови ($r= -0,70$; $F=26$; $p\leq0,001$) – биомаркеры эффекта антидиабетического соединения в условиях его внутрижелудочного введения.

В условиях интраназального введения соединения получены адекватные модели, характеризующие достоверную связь содержания β-ФЭА-ОСАК в плазме крови (тест/биомаркер экспозиции) с вероятностью снижения: уровней NO_2^-/ NO_3^- плазмы крови ($r= -0,89$; $F=121$; $p\leq0,001$ / $r= -0,77$; $F= 32$; $p\leq 0,009$) и мочи ($r= -0,78$; $F= 18$; $p\leq0,008$ / $r= -0,83$; $F= 109$; $p\leq 0,003$), активности с - NOS ($r=-0,83$; $F=127$; $p\leq0,001$) и ГП ($r= -0,84$; $F= 31$; $p\leq0,000$) гомогената печени, ГП ($r= -0,80$; $F= 32$; $p\leq0,001$) и c-NOS ($r= -0,77$; $F=42$; $p\leq0,009$) гемолизата эритроцитов и повышения уровня ГПЛ гомогената печени ($r= 0,77$; $F= 171$; $p\leq0,009$); содержания 2-ГФСА в плазме крови с вероятностью повышения активности ГП гемолизата эритроцитов ($r=0,88$; $F= 32$; $p\leq0,001$); содержания β-ФЭСА в плазме крови с вероятностью снижения активности c-NOS гемолизата эритроцитов ($r= -0,79$; $F=42,9$; $p\leq0,006$) и уровня NO_2^- плазмы крови ($r=-0,83$; $F=121,3$; $p\leq0,003$) – биомаркеры эффекта.

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что биомониторинг отражает суммарный уровень поглощенной в организме дозы ксенобиотика, обеспечивает прямое измерение его индивидуальных уровней и также дает оценку интегрированного влияния различных неблагоприятных химических факторов при различных путях поступления в организм. В связи с этим, применение биомониторинга совместно с мероприятиями санитарно-химического контроля производственной среды открывает ряд возможностей по более точному оцениванию токсиколого-гигиенической ситуации на производствах и позволяет существенно улучшить уровень диагностики профессиональных интоксикаций.

На основании полученных данных биомаркерами экспозиции соединения являются концентрации антидиабетического средства и его метаболитов в плазме крови, биомаркерами эффекта – активность ГП и c-NOS гемолизата эритроцитов, уровень ГПЛ сыворотки крови и NO_2^-/NO_3^- плазмы крови, мочи, которые можно считать лимитирующими критериями субхронического влияния антидиабетического средства.

Внедрение данных биомаркеров в практику гигиенического регламентирования в качестве дополнительных критериев, позволит решать задачи по установлению причинно-следственных связей развития негативных эффектов у работающих, подвергающихся экзогенному воздействию антидиабетического средства и раннему выявлению профессиональной патологии и надежности защиты здоровья работающих в соответствующем производстве.

Литература

1. Профессиональное здоровье в Украине. Эпидемиологический анализ / Ю. И. Кундиев, А. М. Нагорная. – К.: Авиценна, 2007. – 396с.

2. Буров Ю. В., Рожнов Г. И. Актуальные эколого-гигиенические проблемы в химико-фармацевтической и биотехнологической промышленности / Ю. В. Буров, Г. И. Рожнов // Гигиена и санитария.– 1995.– № 4.– С. 21–25.

3. Химическая опасность в Украине и меры по ее предупреждению / Ю. И. Кундиев, И. М. Трахтенберг // Журнал АМН Украины.− 2004.− № 2.− С. 259–267.

4. Розвиток фармацевтичного бізнесу в Україні: тенденції та перспективи / О. Л. Шевченко // Маркетинг в Україні. – 2002. – №3. – С. 20-24.

5. ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения). Гигиенические критерии состояния окружающей среды 155. Биомаркеры и оценка риска: концепции и принципы.– Женева: ВОЗ. 1996.– 96с.

6. Human Biomonitoring for Environmental Chemicals.Committee on Human Biomonitoring for Environmental Toxicants. Washington. – National Academies Press, 2006.– 291 р.

7. ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents Biological Exposure Indices.– ACGIH, 1999.–184 p.

8. ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Based on the Documentations of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices.– Cincinnati ACGIH,2005.– 64 p.

9. DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft). MAK- and BAT-Values. Commission for the investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area . Weinheim VCH Publications, 2005.– 165 p.

10. Methodology for the Derivation of Occupational Exposure Limits: Key Documentation : official text : [Scientific Committee on Occupational Exposure Limits, June 2013]. – European commission, 2013.– 38 p.

11. WHO (World Health Organization). Biological Monitoring of Chemical exposure in the workplace guidelines. Geneva: WHO 2005.– 89 p.

12. Онищенко Г. Г., Зайцева Н. В., Землянова М. А Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов / Г. Г. Онищенко, Н. В. Зайцева , М. А Землянова // Пермь: Книжный формат.– 2011.– 532 с.

13. Scott A. J. Occupational health in the pharmaceutical industry: an overview / A. J. Scott // Occup Med (Lond). – 2003 .– Vol. 53, Issue 6.– P. 354-356.

14. Пиотровски Е. Использование кинетики метаболизма и выведения токсических веществ в решении проблем промышленной токсикологии / Е. Пиотровски // М.: Медицина.– 1976.− 194с.

15. Горбенко Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукциналу в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження) : автореф. дис. … д-ра біол. наук : 14.01.14 / Горбенко Наталія Іванівна ; Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України. – Х., 2004. – 36 с.

16. Кудря М. Я. Особливості змін функціонально-метаболічних параметрів у щурів за умов інгаляційного впливу антидіабетичного засобу фенсукциналу / М. Я. Кудря, І. А. Палагіна, Ф. А. Колодуб // Проблеми ендокринної патології. − 2005.− № 3.− С. 63-71.

17. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142 – 145.

18. МВ 1.1.5-121-2005 Методичні вказівки з обгрунтування ГДК лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць // МОЗ України; Державна санітарно-епідеміологічна служба.− Київ.− 2005.− 30с.

19. Плацер З. Определение диеновых конъюгатов и общих гидроперекисей в биологических материалах / З. Плацер, М. Видлакова, Л. Купила // Чехосл. мед. обзор. – 1970. – Т. 16, № 1. – С. 30 – 34.

20. Asakawa T. Colorings conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushite // Lipids. – 1980. – Vol. 15. – P. 137 – 140.

21. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Соврем. методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66 – 68.

22. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : метод. рекомендации / Рос. Акад. мед. наук ; [авт. А. В. Арутюнян и др.]. – СПб., 2000. – С. 76.

23. Мишенева В. С. Наличие глютатиона в нормальних и опухолевых тканях человека и животных / В. С. Мишенева, Т. А. Горюхина // Вопр. онкологии. – 1968. – Т. 14, № 10. – С. 46 – 49.

24. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях (инструкция по применению) : утв. М-вом здравоохранения республики Беларусь 19.03.01. – Витебск : [Б.и.], 2001. – 9 с.

25. Сумбаев В. В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В. В. Сумбаев, И. М. Ясинская // Соврем. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3 – 7.

26. Кушаковский М. С. Методы качественного и количественного спектрофотометрического анализа гемоглобина и его дериватов в эритроцитах и плазме крови / М. С. Кушаковский // Клинические формы повреждения гемоглобина. – Л., 1968. – С. 9 – 80.

27. Гаспаров В. С. Определение белка по связыванию с красителем Кумасси бриллиантовым голубым G-250 / В. С. Гаспаров, В. Г. Дегтярь // Биохимия. – 1994. – Т. 59, вып. 6. – С. 763 – 775.

28. Пакет программного обеспечения для статистического анализа StatSoft Statistic 10.0.

References

1. Kundiev, J.I. I, Nagornaja, A. M. 2007, "Occupational health in Ukraine. Epidemiological analysis", Avicenna, p. 396 (in Russian)

2. Burov, Yu.V., Rozhnov, G.I. 1995, "Actual ecological-hygienic problems in chemical-pharmaceutical and biotechnological industry", Gigiena and sanitariya, no. 4, pp. 21–25. (in Russian)

3. Kundiev, J.I. Trachtenberg, I. M. 2004, "Chemical hazard in Ukraine and measures for its prevention", Journal of Academy of medical sciences of Ukraine, Vol. 10, no. 2, pp.259-267 (in Russian)

4. Shevchenko, O.L. 2002, "The development of business in the pharmaceutical Ukraïni: tendentsiï and perspectives", Marketing in Ukraine, no. 3, pp. 20-24 (in Ukraine)

5. WHO 1999, "Biomarkers and risk assessment concepts and principles", World Health Organization, 96 p.(in English)

6. National Academies Press 2006, "Human Biomonitoring for Environmental Chemicals", Committee on Human Biomonitoring for Environmental Toxicants, 291 p. .(in English)

7. ACGIH 1999, "TLVs and BEIs. Based on the Documentations for Threshold Limit Values for chemical substances and Physical Agents Biological Exposure Indices", American Conference of Governmental Industrial Hygienists,184 p. .(in English)

8. ACGIH 2005, " Based on the Documentations of the Threshold Limit Values for chemical substances and physical agents and Biological Exposure Indices" American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 64 p. (in English)

9. DFG 2005, "MAK- and BAT-Values. Commission for the investigation of health hazards of chemical compounds in the work area", Deutsche Forschungsgemeinschaft, 165 p.(in German)

10. Scientific Committee on Occupational Exposure Limits 2013, "Methodology for the Derivation of Occupational Exposure Limits", European commission 38 p.

11. WHO 2005, "Biological Monitoring of Chemical exposure in the workplace guidelines", World Health Organization, 89 p. (in English)

12. Onishchenko, G. G., Zaitseva, N. V., Zemlyanova, M. A. 2011, "Sdentification of health effects caused by environmental chemical exposure", Perm, 532 p. (in Russian)

13. Scott, A. J. 2003, "Occupational health in the pharmaceutical industry: an overview ", Occup Med (Lond), Vol. 53, no.6, pp. 354-356. (in English)

14. Piotrowski, E. 1976, "The application of metabolic and exretion kinetics to problems of industrial toxicology", Department of health, 194 p. (in Russian)

15. Gorbenko, N. I. Pathogenic basis of succinic acid derivative – phensuccinal efficacy in therapy of diabetes mellitus and its complications (experimental study) : Autoref. of Thesis … Doctor of Biol. Sciences : 14.01.14. Gorbenko Natalya Ivanivna; V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems at AMS of Ukraine. 2004, 36 p. (in Ukrainian)

16. Kudrya, M. Ya. 2005, "Particularities of functional and metabolic parameters in rats under the influence of inhaled antidiabetic agent fensuktsynal" , Problems of endocrine pathology, no. 3, pp. 63-71. (in Ukrainian)

17. General ethical principles of animal experiments, 2003, Endocrynology,Vol.8, no.1, pp. 142−145. (in Ukrainian)

18. Methodical instructions 1.1.5-121-2005, "Guidelines for the justification of maximum permissible concentration of drugs in the air of the working area and the air of settlements", Ministry of Health of Ukraine; State Sanitary Epidemiological Service, 30p. (in Ukrainian)

19. Platzer, Z., Vydlakova, M., Kupila, L. 1970, "Defenition of dienic conjugates and general hydroperoxides in biological samples", Czechoslovak. Med.Survey, Vol.16, no.1, pp. 30–34 (in Russian)

20. Asakawa, T., Matsushite, T. 1980, " Colorings conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides",Lipids, no.15, pp. 137−140. (in Russian)

21. Stalnaya, I.D., Garishvyli, T.G. 1977, " Method of definition of Malonic Aldehyd with the help of the thiobarbituric acid", Methods in Biochemistry Edited by Orekhovitch V.N., Medicine, no.1, pp. 66–68 (in Russian)

22. Arutyunyan, A.V., Dubinina, E.E., Zybina, N.N. 2000, "Methods of estimating the free-radical oxidation and anti-oxidant system of an organism", Method. recomm. Russ. Acad. Med. Sci. 104 p. (in Russian)

23. Misheneva, V.S., Gorukhina, T.A. 1968, "Presence of Glutathione in the normal and tumor tissues of animals and humans ", Probl. of Oncology, Vol. 14, no.10,pp. 46−49 (in Russian)

24. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., Tokarev, V.E. 1988, "Method of definition of the Catalase activeness ", Labor. Affairs., no. 1, pp. 16−19 (in Russian)

25. Photometric method of defining nitrites and nitrates in biological liquids (Manual): appr. by Ministry of Health Care of Belarus Rep. 2001.Vitebsk: [w/o publ.], 9 p. (in Russian)

26. Sumbaev, V.V., Yasinskaya, I.M. 2000, " DDT effect on rat liver, lungs and brain nitric oxide synthase activity ", Modern Probl. Toxicol., no. 3, pp. 3−7 (in Russian)

27. Gasparov, V.S., Gegtyar, V.G. 1994, " Definition of protein by its linkage to Kumassi Diamond light-blue G-250 dye", Biochem., Vol. 59, no. 6, pp. 763–775 (in Russian)

28. Software package for the statistical avalysis Statistic 10. (in Ukrainian)

ВИКОРИСТАННЯ ПІДХОДІВ БІОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ ПРИ ГІГІЄНІЧНОМУ РЕГЛАМЕНТУВАННІ КСЕНОБІОТИКІВ

О. С. Лалименко

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

Вступ. Останнім часом для визначення стійких причинно-наслідкових зв'язків між впливом несприятливих хімічних факторів та виникненням професійної патології пріоритетним є використання методології біологічного моніторингу.

Мета дослідження. Визначення та обґрунтування біомаркерів експозиції та ефекту як критеріїв для біологічного моніторингу антидіабетичного засобу похідного янтарної кислоти.

Матеріали та методи. Експерименти проведено на 85 статевозрілих щурах-самцях. Вивчені особливості токсикокінетики за умов одноразового внутрішньошлункового введення водної емульсії субстанції антидіабетичного засобу з твін-80 в дозі 100 мг/кг м.т. Субхронічну дію вивчали в умовах внутрішньошлункового (30-разово в дозі 100 мг/кг м.т.) та інтраназального (20 - разово в зозах 6,7 та 1 мг/мл, що в перерахунку відповідає порогу гострої (Lim_{ac}) та хронічної (Lim_{ch}) інгаляційної дії) введення субстанції антидіабетичного засобу піддослідним тваринам. Досліджено стан процесів пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту та метаболізму оксиду азоту. Хроматографічне визначення антидіабетичного засобу та його метаболітів в плазмі крові піддослідних тварин проведено з використанням методу ВЕРХ.

Результати. За умов одноразового впливу антидіабетичного засобу встановлені його основні токсикокінетичні параметри, для сполуки характерно швидке надходження та доволі тривала циркуляція у системному кровотоці, а також переважання процесів біотрансформації основної сполуки над її екскрецією.

Встановлено, що концентрація досліджуваної сполуки та її метаболітів (2-ГФСА и β-ФЕСА) у плазмі крові є тестами/біомаркерами експозиції за умов субхронічного внутрішньошлункового та інтраназального введення засобу.

Біомаркерами ефекту за умов внутрішньошлункової дії антидіабетичного засобу є : підвищення рівня ГПЛ сироватки крові, зниження рівнів NO_2^- / NO_3^- плазми крові, ГП гемолізату еритроцитів та c-NOS гомогенату печінки.

Біомаркерами ефекту інтраназальної дії антидіабетичного засобу є : підвищення рівня ГПЛ гомогенату печінки, зниження рівнів NO_2^- / NO_3^- плазми крові, c-NOS та ГП гемолізату еритроцитів.

Висновки. Встановлені та обґрунтовані біомаркери експозиції антидіабетичного засобу (концентрація антидіабетичного засобу та його метаболітів в плазмі крові) та ефекту (рівні ГПЛ, NO_2^- / NO_3^-, активність ГП, c-NOS), що є лімітуючими критеріями впливу сполуки на організм та які слід враховувати в якості додаткових критеріїв при гігієнічному регламентуванні даного антидіабетичного засобу у повітрі робочої зони для підвищення точності оцінки ризику впливу досліджуваної сполуки на організм працюючих.

Ключові слова **:** біомоніторинг, біомаркери експозиції та ефекту, антидіабетичний засіб.

USING APPROACHES OF BIOLOGYCAL MONITORING IN THE HYGYENIC RUGULATION OF XENOBIOTICS

O. S. Lalymenko

V.Y. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems, NAMS of Ukraine, Kharkiv

Introduction. Biological monitoring methodology for the detection sustainable causal relationships between exposure to chemical hazards and the occurrence of occupational diseases have been used lately..

Purpose of the study. Identification and justification of the biomarkers of exposure and effect, as criteria for biological monitoring of antidiabetic pharmaceuticals succinic acid derivatives.

Materials and methods. Experiments were conducted on 85 male rats. The peculiarities of toxicokinetics were studied after single intragastric administration of the substens in the rats in the dose of 100 mg an aqueous emulsion of substance antidiabetic pharmaceuticals. Subchronic exposure was studied under the condition of intragastric (30-fold in the dose of 100 mg) and intranasal (20- fold in the dose of 6,7 and 1 mg/ml) administering the substance antidiabetic agent in the experimental animals. Doses for intranasal administration were recalculated according to the threshold of acute and chronic inhalation effects of the compound. The state of lipid peroxidation, antioxidant protection and nitric oxide metabolism was investigated. Chromatographic determination of the antidiabetic agent and its metabolites in the blood plasma of experimental animals was conducted using HPLC method.

Results. The toxicokinetic parameters under the conditions of single intragastric administration of an antidiabetic pharmaceutical have been established. The antidiabetic pharmaceutical quickly enters into the blood and circulates there for a long time. We established the processes of biotransformation of antidiabetic pharmaceutical prevail over its excretion.

The concentration of the drug or its metabolites (2-HPhSA, β-PhESA) in the blood plasma is biomarkers of exposure antidiabetic agent.

The biomarkers of effect after intragastric introduction are : the increase of s lipid hydroperoxide levels in the blood serum, the decrease of the levels NO^{2}- / NO^{3}- in the blood plasma, glutathione peroxidase in the red blood cell hemolysate and c-NOS in the liver tissue.

Biomarkers of effect after intranasal introduction are : the increase of lipid hydroperoxide levels in the liver tissue, the decrease of levels NO2- / NO3- in the blood plasma, glutathione peroxidase and c-NOS in the red blood cell hemolysate.

They are limiting criteria of the compound effect on the organism. These criteria should be take into account during hygienic regulation of antidiabetic agents in the working area to improve the accuracy of risk assessment of the effect of the test compound on the workers health.

Key words: *biomonitoring, biomarkers of exposure and effect, antidiabetic drug.*

Сведения об авторах:

Лалыменко Ольга Сергеевна, ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», м.н.с. лаборатории токсикологии и гигиенического регламентирования лекарственных средств, г. Харьков, ул. Алчевских 10, 61002, тел. моб. 0661595653, e-mail: yaloposta@mail.ru