

УДК 546.766 : 615.9

МАТЕРИАЛЫ К ОБОСНОВАНИЮ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ СИЛИЛХРОМАТА В РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

М.В. Бидевкина¹, Н.Г. Иванов²,
Е.Б. Гугля², Э.Г. Скрябина²,
Н.И. Шеина²

¹ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора, 117246, г. Москва, Российская Федерация

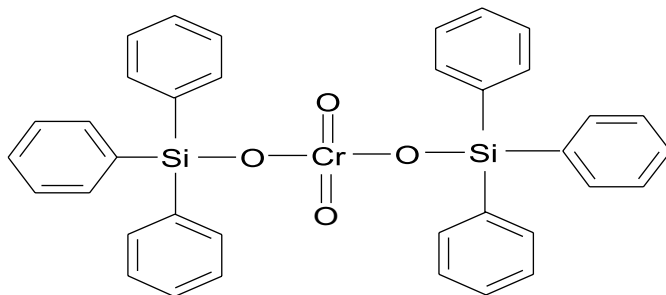
²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, Российская Федерация

В опытах на белых крысах установлены основные параметры токсикометрии силилхромата при однократном и повторном введении в желудок и интратрахеально. Характер биологического действия силилхромата при различных путях введения в организм и уровни действующих доз/концентраций аналогичны соединениям шестивалентного хрома. На основании этого обоснованы и утверждены ПДК силилхромата в воздухе рабочей зоны, ОБУВ в атмосферном воздухе населенных мест, ОДУ воды водоемов на уровне принятых в РФ величин для соединений шестивалентного хрома.

Ключевые слова: гигиеническое нормирование, шестивалентный хром, токсичность, белые крысы, почки, альвеолярные макрофаги.

Введение. Характер токсического действия Cr⁶⁺ и его неорганических соединений хорошо изучен. Неорганические соединения шестивалентного хрома высоко токсичны, вызывают преимущественное поражение почек, печени, легких, нервной системы, обладают сенсibiliзирующим, эмбриотропным, гонадотропным, мутагенным, канцерогенным действием [1-4]. Механизм цитотоксичности шестивалентного хрома не до конца понятен. Однако в большом количестве исследований как *in vitro*, так и *in vivo*, показано, что хром усиливает окислительный стресс, повреждение ДНК, апоптоз клеток и изменяет экспрессию генов [5,6]. Силилхромат является новым, мало изученным органическим соединением хрома. Применяется в химической промышленности в качестве основного компонента катализатора S-2 газовой поли-

меризации этилена. В связи с этим задачей нашего исследования было изучение характера биологического действия силилхромата на организм экспериментальных животных с целью обоснования гигиенических нормативов в различных объектах окружающей среды.



Бидевкина Марина Васильевна (Bidevkina Marina Vasil'evna), кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией токсикологии дезинфекционных средств ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора, 117246, г. Москва, BidevkinaMV@niid.ru
Иванов Николай Георгиевич (Ivanov Nikolaj Georgievich), был доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом токсикологии НИИФБИ (фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований) РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва
Гугля Елена Борисовна (Guglja Elena Borisovna), кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии НИИФБИ (фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований) РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва, let@rsmu.ru
Скрябина Эмилия Григорьевна (Skrjabina Jemilija Grigor'evna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии НИИФБИ (фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований) РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва, let@rsmu.ru
Шейна Наталья Ивановна (Sheina Natalia Ivanovna), доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела токсикологии НИИФБИ (фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований) РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва, let@rsmu.ru

Материалы и методы исследования. Силилхромат [(бис (трифенилсилил) хромат (VI), трифенилсиланолхромат (VI), бис(трифенилсилил) эфир хромовой кислоты (H_2CrO_4)] – крупнокристаллический порошок желто-оранжевого цвета.

№ CAS: 1624-02-8. Эмпирическая формула: $C_{36}H_{30}CrO_4Si_2$. М. м.: 634,8. Плотность 0,4 г/см³. Не растворяется в воде при 20°C и в жирах. Реакционная способность: гидролизуется, окисляется, галогенизируется, сульфидируется, алкилируется.

Изучение токсичности, опасности и характера биологического действия силилхромата выполняли в соответствии с методическими указаниями [7, 8]. Исследование проведено на 300 белых крысах популяции Вистар, 50 белых нелинейных мышах, 20 морских свинок, 6 кроликах. Статистические группы животных состояли из 6-10 особей.

Кумулятивный эффект силилхромата изучали при введении в желудок белым крысам в течение 1 месяца в трех дозах: 7,5, 1,5 и 0,3 мг/кг (соответственно в пересчете Cr^{+6} составило 0,6, 0,12 и 0,024 мг/кг). Выбор доз осуществляли на основе прогноза максимально недействующей и пороговой доз (ПД). Ингаляционное воздействие силилхромата на организм моделировали путем его введения в трахею крыс однократно в дозах 100, 20 и 1 мг/кг и повторно в дозах 1 и 0,2 мг/кг 2 раза в неделю в течение двух месяцев. Испытанные дозы пересчитывали на содержание Cr^{+6} в воздухе при экспозиции 4 часа. Введение силилхромата в трахею белым крысам проводили под эфирным наркозом в виде суспензии в 2 % крахмальном геле, подогретом до 37 °C, в объеме 0,5 – 0,2 мл. Контрольным животным вводили 0,5 – 0,2 мл 2 % крахмального геля.

У животных оценивали состояние дыхательной (измерение частоты дыхания и анализ состава клеток смывов из легких и верхних дыхательных путей), нервной систем (регистрация СПП и поведенческих реакций), функции печени (определение в сыворотки крови активности АЛАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы, содержания общего белка, альбумина), почек (измерение суточного объема мочи после водной нагрузки, содержания белка, ионов хлора, мочевины в моче и сыворотке крови). Влияние на иммунную систему, включая сенсibiliзирующую активность, изучали в соответствии с МР [9]. В периферической крови определяли общее количество лимфоцитов и относительное значение их основных популяций (Т- и В-лимфоциты), титры гуморальных

антител к эритроцитам барана (гемагглютининов). Для оценки гонадотоксического действия силилхромата исследовали жизнеспособность, концентрацию, характер и длительность движения сперматозоидов, определяли относительное количество мертвых и патологических форм сперматозоидов. Цитогенетический эффект силилхромата оценивали путем определения в клетках костного мозга частоты хромосомных aberrаций на стадии ана-телофазы. Определение концентраций растворенного хрома выполняли методом атомной абсорбции на спектрофотометре «Квант-2А» фирмы «Кортек» (Россия) в обогащенном пламени ацетилен-воздух с коррекцией неатомного поглощения. Чувствительность метода 0,005 мг/л. Оценку статистической достоверности различия данных опытной и контрольной групп животных проводили по критерию Стьюдента, руководствуясь 95% ($p < 0,05$) уровнем значимости с учетом числа животных, используемых в каждом опыте.

Результаты и обсуждение. Силилхромат обладает умеренной токсичностью (III класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76) при введении в желудок экспериментальным животным. DL_{50} (мг/кг) для крыс-самцов составляет 2980 ± 540 , для крыс-самок – 3050, для мышей-самок – 3800. Клиническая картина отравления характеризовалась вялостью, малоподвижностью, учащением дыхания. Гибель животных наблюдали в течение первых двух суток. При макроскопическом патоморфологическом обследовании погибших животных, помимо резко выраженного кровенаполнения внутренних органов, отмечались дистрофические нарушения слизистой оболочки желудка (особенно пилорической части).

Вещество не проникает в организм через неповрежденную кожу в количествах, вызывающих гибель или симптомы острого отравления. Силилхромат обладает умеренно выраженным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки. Установлено умеренно выраженное сенсibiliзирующее действие вещества на морских свинок путем накожных и внутрикожных аппликаций.

При изучении кумулятивной активности силилхромата в подостром эксперименте на крысах-самцах ПД составила 1,5 мг/кг (0,12 мг/кг по Cr^{6+}) по влиянию на функциональное состояние почек. У крыс зарегистрировано снижение содержания хлоридов в моче на 15-е (опыт: $53,8 \pm 6,1$ мМ; контр.: $42,3 \pm 12,2$ мМ; $p < 0,05$) и более выраженное на 30-е сутки воздействия (опыт: $60,0 \pm 7,7$ мМ;

контр.: $76,5 \pm 8,0$ мМ; $p < 0,01$). Силилхромат на уровне ПД не индуцировал увеличение частоты хромосомных aberrаций, не влиял на деление клеток: митотический индекс (%) в опытной группе ($1,86 \pm 0,2$) не отличался от установленного в контроле ($1,96 \pm 0,15$).

Вещество в дозе 7,5 мг/кг оказывало общетоксическое действие на организм экспериментальных животных, вызывая нарушение функции почек, нервной системы и иммунного статуса. Изменения со стороны функции почек проявлялись с 5 дня экспозиции и свидетельствовали о понижении их функциональной активности (снижение содержания в моче хлоридов, мочевины, стандартного коэффициента очищения мочевины). Влияние силилхромата на функциональное состояние нервной системы характеризовалось понижением СПП на 20-й и 30-й день обследования. Поведение животных при исследовании в тестах «открытое поле» и «ТКСО» не изменялось во все сроки наблюдения. Оценка состояния иммунной системы крыс выявила снижение относительного числа Т-лимфоцитов (опыт: $29,0 \pm 2,48$; контроль: $43,25 \pm 1,25$; $p < 0,01$) и популяции В-лимфоцитов в целом по группе по сравнению с контролем (опыт: $14,5 \pm 1,04$; контроль: $20,0 \pm 1,83$; $p < 0,05$). Установлено снижение титров гемагглютининов ($\log_2 T$) у крыс (опыт:

$4,5 \pm 0,35$; контроль: $6,25 \pm 0,48$; $p < 0,05$), свидетельствующее об угнетении гуморального ответа у опытных животных. Нарушение функционального состояния печени, мужской репродуктивной системы под действием силилхромата во всех испытанных дозах не наблюдалось.

При однократном внутритрахеальном введении силилхромата в дозах 100 и 10 мг/кг (в пересчете на концентрацию Cr^{+6} 0,8 и 0,16 мг/м³) через 24 часа после экспозиции в бронхоальвеолярном лаваже зарегистрировано понижение количества макрофагов на 37 - 42% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Снижение числа макрофагов в данном случае можно рассматривать как результат цитотоксического действия соединения в высоких дозах. При изучении функции почек зарегистрировано снижение содержания мочевины в моче, которое составило при введении 20 мг $1161,9 \pm 98,1$ ммоль ($p < 0,01$), при введении 10 мг/кг – $1214,0 \pm 91,1$ ммоль ($p < 0,02$; контроль: $1667,8 \pm 142,8$ ммоль). Содержание в моче белка и хлоридов в опытных группах не отличалось от контроля. Силилхромат в дозе 1 мг/кг (в пересчете на концентрацию Cr^{+6} 0,8 мг/м³) не вызывал каких-либо изменений регистрируемых показателей. Таким образом, Lim_{ac} силилхромата при интратрахеальном введении установлен по общеток-

Таблица 1

Функциональное состояние почек крыс при субхроническом интратрахеальном введении силилхромата в различных дозах

Показатели	Сроки обследования	Доза введения, мг/кг		Контроль
		1,0	0,2	
Хлориды в моче, ммоль/л	4 недели	$57,24 \pm 7,18^{***}$	$75,57 \pm 8,41^{**}$	$110,2 \pm 10,12$
	9 недель	$68,39 \pm 6,0^*$	$63,65 \pm 6,7^*$	$89,34 \pm 7,92$
Мочевина в крови, ммоль/л	9 недель	$6,27 \pm 0,11$	$5,89 \pm 0,13$	$5,89 \pm 0,2$
Мочевина в моче, ммоль/л	9 недель	$730,6 \pm 44,9^{**}$	$674,1 \pm 28,2^{***}$	$984,9 \pm 85,7$
СКОМ	9 недель	$8,22 \pm 0,61^*$	$8,84 \pm 0,79$	$11,22 \pm 1,19$

* $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,001$

сическому действию на уровне 10,0 мг/кг, что соответствует концентрации Cr^{+6} в воздухе 8 мг/м³.

Наблюдение за животными в течение субхронического эксперимента не выявило видимых клинических признаков отравления. Прирост массы тела крыс во всех группах был одинаковый и равномерный. Подсчет клеточных элементов (в пересчете на 100 клеток) в смывах из легких выявил увеличение количества лимфоцитов (опыт: $73,5 \pm 1,76$; контроль: $61,3 \pm 1,45$; $p < 0,001$) и уменьшение нейтрофилов (опыт: $11,8 \pm 0,6$; контроль: $23,0 \pm 3,1$; $p < 0,01$) под действием максимальной дозы силилхромата. Зарегистрировано увеличение общего количества клеток в смывах у опытных крыс по сравнению с контролем. Причем общее количество клеток в смывах под действием силилхромата в дозах 1,0 и 0,2 мг/кг (в пересчете на концентрацию Cr^{+6} 0,8 и 0,16 мг/м³) было соответственно в 4 и 2,2 раза выше, чем в контрольной группе. Увеличение миграции клеточных элементов на поверхность слизистой оболочки дыхательных путей является одним из основных признаков раздражающего действия химических веществ. Характер изменения функционального состояния почек при субхроническом введении силилхромата в трахею был близок к нарушениям, установленным при повторном введении вещества в желудок. Установлено снижение содержания хлоридов в моче через 4 и 9 недель экспозиции, понижение содержания мочевины в моче под действием силилхромата в обеих дозах и снижение стандартного коэффициента очищения мочевины (СКОМ) в группе крыс, подвергавшихся воздействию силилхромата в дозе 1,0 мг/кг (табл. 1). Отмечено влияние силилхромата в испытанных дозах на функциональное состояние нервной системы – зарегистрировано снижение ориентировочно-исследовательской и общей двигательной активности крыс в различные сроки наблюдения. Макроскопическое патологическое исследование внутренних органов опытных крыс не выявило каких-либо отличий от контрольной группы. Массовые коэффициенты внутренних органов экспериментальных животных при действии всех испытанных доз не изменялись. На основании приведенных данных можно заключить, что доза силилхромата 0,2 мг/кг (в пересчете на концентрацию Cr^{+6} 0,16 мг/м³) близка к $\text{Lim}_{\text{subch}}$ по влиянию на функциональное состояние почек и легких.

Для оценки возможных механизмов действия силилхромата на организм изучена

его способность к гидролизу. Показано, что указанное вещество способно разлагаться в воде с выделением хрома: процент растворенного хрома составил через 2 и 24 часа 15,9 и 26,8, через 6 и 15 суток – 37,8 и 52,4, соответственно. Распад силилхромата в организме с высвобождением Cr^{6+} подтверждается его накоплением в сыворотке крови при повторном поступлении силилхромата в дыхательную систему. Так, концентрация хрома в сыворотке крови крыс, получавших силилхромат в дозе 1,0 мг/кг, была в 2,6 раза выше по сравнению с контрольной группой (опыт: $6,84 \pm 0,38$ мкг/л; контроль: $2,65 \pm 0,44$ мкг/л; $p < 0,001$). При измерении концентрации хрома в моче у одного животного из этой группы было зарегистрировано повышенное содержание хрома по сравнению с контролем в 2,5 раза и составило 24,3 мкг/л. В среднем концентрация хрома в моче в опытной группе составила $10,9 \pm 3,42$ мкг/л (диапазон 7,2 – 24,3 мкг/л), в контрольной группе – $10,7 \pm 1,39$ мкг/л (диапазон 7,8 – 14,2 мкг/л). В группе крыс, подвергавшихся воздействию силилхромата в дозе 0,2 мг/кг, повышенное содержание хрома в сыворотке крови отмечено у 2 из 5 животных. При этом среднее значение уровня хрома в сыворотке крови составило $3,5 \pm 0,71$ мкг/л. Таким образом, установлено дозо-зависимое повышение содержания Cr^{+6} в крови крыс при субхроническом введении силилхромата в трахею.

Для установления ОДУ силилхромата в воде водоемов изучено его влияние на органолептические свойства воды. $\text{ПК}_{\text{орг}}$ составила 1,25 мг/л, лимитирующий показатель – мутность. Период полураспада силилхромата в воде при 20°C составляет 15 суток (2 класс стабильности).

Заключение. Основными признаками токсического действия силилхромата, выявленными в условиях данного эксперимента, являются поражение почек, развитие воспалительной реакции в легких, иммунотоксическое и сенсибилизирующее действие, раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки. Важно подчеркнуть, что указанные симптомы интоксикации, характерны для отравления неорганическими соединениями Cr^{6+} . Силилхромат в организме подвергается превращениям с выделением Cr^{+6} , о чем свидетельствует как способность его к гидролизу, так и обнаруженное повышение содержания Cr^{+6} в сыворотке крови при поступлении вещества в дыхательную систему. Воздействие силилхромата на уровне ПД (1,5 мг/кг) в течение месяца не вызывало цитогенетического эффекта в клетках кост-

ного мозга, не оказывало влияние на репродуктивную систему крыс.

На основании полученных данных были рекомендованы и утверждены гигиенические нормативы в различных объектах окружающей среды на уровне принятых в РФ величин для шестивалентного хрома. Для воздуха рабочей зоны установлена ПДК си-

лилхромата (в пересчете на Cr⁺⁶) 0,03/0,01 мг/м³ (агрегатное состояние – аэрозоль, класс опасности 1, К, А). Для атмосферного воздуха населенных мест установлен ОБУВ 0,0015 мг/м³ (по хрому-УІ). Для воды водоемов утвержден ОДУ силхромата 0,05 мг/л в пересчете на Cr⁺⁶ (с.-т. показатель вредности, 3 класс опасности).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). *Toxicological Profile for Chromium*. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. 1998.
2. Marouani N, Tebourbi O, Mahjoub S, Yacoubi MT, Sakly M, Benkhalifa M, Rhouma KB. Effects of hexavalent chromium on reproductive functions of male adult rats. *Reprod Biol*. 2012 Jul;12(2):119-33.
3. Marouani N, Tebourbi O, Mokni M, Yacoubi MT, Sakly M, Benkhalifa M, Ben

- Rhouma K. Embryotoxicity and fetotoxicity following intraperitoneal administrations of hexavalent chromium to pregnant rats. *Zygote*. 2011 Aug;19(3):229-35.
4. Thompson CM, Proctor DM, Suh M, Haws LC, Kirman CR, Harris MA Assessment of the mode of action underlying development of rodent small intestinal tumors following oral exposure to hexavalent chromium and relevance to humans. *Crit Rev Toxicol*. 2013 Mar;43(3):244-74
5. Bagchi D, Stohs SJ, Downs BW,

- Bagchi M, Preuss HG. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology*. 2002 Oct 30;180(1):5-22.
6. Xie Y, Zhong C, Zeng M, Guan L, Luo L. Effect of hexavalent chromium on electron leakage of respiratory chain in mitochondria isolated from rat liver. *Cell Physiol Biochem*. 2013;31(2-3):473-85.
7. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ

- в воздухе рабочей зоны. № 2163-80. - М., 1980. - 20 с.
8. Методические указания по обоснованию гигиенических нормативов в воде водных объектов. № 2.1.5.720-98.- М., 1998 - 55 с.
9. Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы. № 1.1.578-96.- М., 1996. - 24 с.

REFERENCES:

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). *Toxicological Profile for Chromium*. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. 1998.
2. Marouani N, Tebourbi O, Mahjoub S, Yacoubi MT, Sakly M, Benkhalifa M, Rhouma KB. Effects of hexavalent chromium on reproductive functions of male adult rats. *Reprod Biol*. 2012 Jul;12(2):119-33.
3. Marouani N, Tebourbi O, Mokni M, Yacoubi MT, Sakly M, Benkhalifa M, Ben

- Rhouma K. Embryotoxicity and fetotoxicity following intraperitoneal administrations of hexavalent chromium to pregnant rats. *Zygote*. 2011 Aug;19(3):229-35.
4. Thompson CM, Proctor DM, Suh M, Haws LC, Kirman CR, Harris MA Assessment of the mode of action underlying development of rodent small intestinal tumors following oral exposure to hexavalent chromium and relevance to humans. *Crit Rev Toxicol*. 2013 Mar;43(3):244-74
5. Bagchi D, Stohs SJ, Downs BW,

- Bagchi M, Preuss HG. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology*. 2002 Oct 30;180(1):5-22.
6. Xie Y, Zhong C, Zeng M, Guan L, Luo L. Effect of hexavalent chromium on electron leakage of respiratory chain in mitochondria isolated from rat liver. *Cell Physiol Biochem*. 2013;31(2-3):473-85.
7. Guidelines for the formulation of research to substantiate the sanitary standards of harmful substances in the

- air of working zone. № 2163-80. - М., 1980. - 20. (in Russian).
8. Guidance on substantiation of hygienic standards in water of water bodies. No. 2.1.5.720-98.- М., 1998 - 55. (in Russian).
9. Requirements for the production of experimental studies for substantiation of the maximum permissible concentrations of industrial allergens in the air of working zone and atmosphere. No. 1.1.578-96.- М., 1996. - 24. (in Russian).

M.V. Bidevkina¹, N.G. Ivanov², E.B. Guglja²,
Je.G. Skrajabina², N.I. Sheina²

MATERIALS FOR SUBSTANTIATION OF HYGIENIC STANDARDS FOR BIS (TRIPHENYLSILYL)CHROMATE IN VARIOUS ENVIRONMENTAL MEDIA

¹Federal Budgetary Science Institution «Scientific Research Disinfectology Institute», Rosпотребнадзор, 117246, Moscow, Russian Federation

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University», 117997, Moscow, Russian Federation

In experiments on white rats, the main toxicometric parameters of bis(triphenylsilyl) chromate were established at single and repeated stomach and intraperitoneal administration. The character of the biological action of bis(triphenylsilyl) chromate with different delivery paths into the organism and levels of effective doses/concentrations are analogous to those of hexavalent chromium compounds. Based on these conclusions, TLV/TWA (Threshold limit value/time-weighted average) of bis(triphenylsilyl) chromate in occupational air, tentative safe exposure level (TSEL) in atmospheric air of residential settings, tentative permissible levels (TPL) in water of water reservoirs were substantiated and approved at the level of magnitudes adopted for hexavalent chromium compounds in RF.

Key words: *hygienic regulation, hexavalent chromium, toxicity, white rats, kidneys, alveolar macrophages.*

Материал поступил в редакцию 10.09.2014 г.