

© РАДИЛОВ А.С., УКОЛОВ А.И., 2022

Радилов А.С., Уколов А.И.

Токсикометабономика – интеграция профилактической и аналитической токсикологии

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
Федерального медико-биологического агентства, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация

Введение. В данной работе рассмотрены аспекты развития токсикокинетически-обоснованной модели масштабирования пороговых концентраций токсичных соединений в воздухе, оценки коэффициентов их материальной кумуляции, а также оценки концентраций токсикантов в биологических средах, ожидаемых в ходе биологического контроля. Приведены результаты апробации модели на примере фосфорорганических пестицидов (ФОП) и летучих промышленных загрязнителей (ЛПЗ).

Материал и методы. Для экспериментального моделирования интоксикации использовали кроликов-самцов породы шиншилла, полученных из питомника “Рапполово”. Отбор крови осуществляли из краевой вены уха. Для высокочувствительного определения ФОП и ЛПЗ в биологических образцах использованы разработанные ранее высокочувствительные газохроматографические методики. Вычисление токсикокинетических параметров было произведено с использованием двухкомпарментной модели.

Результаты. Предложена токсикокинетически обоснованная модель масштабирования пороговых концентраций токсичных соединений в воздухе, оценки коэффициентов их материальной кумуляции, а также оценки концентраций токсикантов в биологических средах, ожидаемых в ходе биологического контроля.

Ограничения исследования. Предложенный алгоритм масштабирования токсикокинетических параметров возможно применять при условии близости биодоступности химических соединений для организма животного и человека, а также близкой к линейной зависимости от дозы площади под токсикокинетической кривой.

Заключение. С использованием предложенной токсикокинетически обоснованной модели масштабирования пороговых концентраций, сформированы рекомендации по химико-аналитическим методам биологического контроля в рабочей зоне и атмосферного воздуха для ФОП и ЛПЗ.

Ключевые слова: профилактическая токсикология; токсикокинетика; экстраполяция; масштабирование; гигиенические нормативы

Соблюдение этических стандартов. Исследования выполнены в соответствии с требованиями надлежущей лабораторной практики.

Для цитирования: Радилов А.С., Уколов А.И. Токсикометабономика – интеграция профилактической и аналитической токсикологии. *Токсикологический вестник*. 2022; 30(5): 286-296. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-5-286-296>

Для корреспонденции: Уколов Антон Игоревич, кандидат химических наук, заместитель заведующего отделом токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область. E-mail: Ukolov.ai@gpRech.ru

Участие авторов: Радилов А.С. – концепция и дизайн исследования, анализ результатов; Уколов А.И. – планирование исследований, подготовка образцов, выполнение исследований и обработка данных. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Благодарность. Авторы выражают благодарность С.А. Дулову за множество ценных замечаний, способствовавших качеству статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила в редакцию: 08 сентября 2022 / Принята в печать: 22 сентября 2022 / Опубликована: 30 октября 2022

Radilov A.S., Ukolov A.I.

Toxicometabolomics – integration of preventive and analytical toxicology

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of FMBA of Russia, 188663, Leningrad region, g.p. Kuzmolovskiy, Russian Federation

Introduction. This paper considers aspects of the development of a toxicokinetically based model for scaling the limit concentrations of toxic compounds in the air, estimating the coefficients of their material cumulation, as well as estimating the concentrations of toxicants in biological media expected in the course of biological control. The results of testing the model on the example of organophosphorus pesticides (OP) and volatile industrial pollutants (VIP) are presented.

Material and methods. For experimental modeling of intoxication, male chinchilla rabbits obtained from the Rappolovo nursery were used. Blood sampling was carried out from the marginal vein of the ear. For the highly sensitive determination of OP and VIP in biological samples, previously developed highly sensitive gas chromatographic techniques were used. Calculation of toxicokinetic parameters was made using a two-compartment model.

Results. A toxicokinetically based model for scaling the limit concentrations of toxic compounds in the air, estimating the coefficients of their material cumulation, and estimating the concentrations of toxicants in biological media expected in the course of biological control is proposed.

Research limitations. The proposed algorithm for scaling toxicokinetic parameters can be applied under the condition that the bioavailability of chemical compounds for the animal and human body is close, as well as the area under the toxicokinetic curve that is close to a linear dependence on the dose.

Conclusion. Using the proposed toxicokinetically substantiated model for scaling the threshold concentrations, recommendations were made on chemical-analytical methods of biological control in the working area and atmospheric air for OP and VIP.

Keywords: preventive toxicology; toxicokinetics; extrapolation; scaling

Compliance with ethical standards. Studies were carried out in accordance with the requirements of good laboratory practice.

For citation: Radilov A.S., Ukolov A.I. Toxicometabolomics – integration of preventive and analytical toxicology. *Toxikologicheskii vestnik (Toxicological Review)*. 2022; 30(5): 286-296. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-5-286-296> (in Russian)

For correspondence: Anton I. Ukolov, PhD, deputy head of toxicological department FSUE «Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology» FMBA of Russia, 188663, g.p. Kuzmolovskii, Leningrad region, Russian Federation. E-mail: AntonUkolov@gmail.com

Information about the authors:

Radilov A.S., <https://orcid.org/0000-0003-0776-7434>

Scopus Author ID: 6507193049, ResearcherID: S-2081-532

Ukolov A.I., <https://orcid.org/0000-0002-2911-1260>

Scopus Author ID: 25321116600, ResearcherID: S-2545-2016

Author contributions: Radilov A.S. – the concept and design of the study, analysis of results; Ukolov A.I. – study planning, sample preparation, study execution and data processing. All co-authors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Acknowledgements. The authors are grateful to S.A. Dulov for many valuable comments that contributed to the quality of the publication.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Funding. The study was not sponsored.

Received: September 08, 2022 / Accepted: September 22, 2022 / Published: October 30, 2022

Введение

Человек как незамкнутая система на протяжении всего периода жизни взаимодействует с окружающей средой, качественный состав которой включает в себя множество химических соединений. Все это многообразие можно условно разделить на нуклеиновые кислоты, полимеры аминокислот (белки, пептиды и пр.) и «малые молекулы», которые в организме образуют так называемый геном (в т.ч. транскриптом), протеом и метаболом человека, соответственно. На рис. 1 они изображены в виде пирамиды, отражающей центральную догму молекулярной биологии, дополненную метаболомом – конечным продуктом генома. По различным оценкам общее количество малых молекул, составляющих метаболом, – несколько тысяч, белков составляющих протеом – несколько миллионов, транскриптов – в десять раз больше, чем белков – десятки миллионов.

Справа и слева на рис. 1 изображены множества ксенобиотиков. Часть всего множества малых молекул в окружающей среде, поглощаемая организмом человека, составляет так называемый «токсом» или «экспозом». Модифицированные белки – множество аддуктов ксенобиотиков с биологическими макромолекулами составляют аддуктом. Чужеродные белки и пептиды в организме человека: экзопротеом, комменсальная микрофлора и патогенные микроорганизмы – микробиом, вирусом и пр. Общее разнообразие микробиома и в особенности виroma оценить затруднительно, однако известно, что суммарное количество чужеродных клеток в организме достигает 40 триллионов, со своими эндо- и экзопротеомами, геномами и транскриптомами.

Вклад такого разнообразия внешних факторов химической природы в этиологию заболеваний до конца не ясен. В «догеномную» эпоху высказывались предположения о значительном влия-

нии генетических особенностей организма, однако успехи в расшифровке человеческого генома не привели к значительному прогрессу в установлении причин заболеваний – сугубо генетические факторы являются решающими лишь в 10% заболеваний [1].

Обеспечить прогресс в оценке взаимодействия организма человека и химических факторов среды, оценке реальной опасности и вклада в заболеваемость возможно путем совершенствования методов аналитической токсикологии дополненных мультиомиксными подходами, что позволяет изучать взаимосвязи токсикокинетики и токсикодинамики химических соединений, физиолого-биохимического ответа на токсическое воздействие, с учетом представлений о гомеостазе, стрессе и механизмах адаптации к воздействию химических веществ на новом технологическом уровне. Более глубокая интеграция мультиомиксной методологии в практику профилактической токсикологии позволяет получать новые знания о воздействии ксенобиотика во всем его многообразии, взаимодействии с наследственными факторами на основе использования омиксных технологий, биоинформатики и вычислительной биологии для решения классических токсикологических задач.

Одним из ключевых этапов исследований на биомоделях является перенос (трансляция, экстраполяция, масштабирование) экспериментальных данных, в том числе токсикокинетических параметров, с лабораторных животных на человека, количественных от животных к человеку.

Методы метаболомики в оценке токсичности химических веществ подробно рассмотрены в работах [2–11]. В данной работе рассмотрены аспекты развития токсикокинетически обособленной модели масштабирования пороговых концентраций токсичных соединений в воздухе, оценки коэффициентов их материальной куму-



Рис. 1. Пересекающиеся множества основных классов химических веществ в составе среды обитания человека и в составе его организма.

Fig. 1. Intersecting sets of the main classes of chemicals in the composition of the human environment and in the composition of his body.

ляции, а также оценки концентраций токсикантов в биологических средах, ожидаемых в ходе биологического контроля. Приведены результаты апробации модели на примере фосфорорганических пестицидов (ФОП) и летучих промышленных загрязнителей (ЛПЗ): 1,4-дихлор-2-бутена, 2-нитропропан, бутилхлорида, гексахлорэтана, диазинона, диметоата, дисульфида углерода, метакрилонитрила, метилакрилата, метилпаратиона, пентахлорэтана, тетрагидрофурана, фозалона, хлорпирифоса, диэтилового эфира.

Предложенные подходы к токсикокинетически обоснованному масштабированию могут быть использованы в ходе установления гигиенических нормативов содержания вредных веществ в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны для масштабирования пороговых концентраций токсичных соединений в воздухе, оценки коэффициентов их материальной кумуляции, а также оценки концентраций токсикантов в биологических средах, ожидаемых в ходе биологического контроля.

Материал и методы

Для экспериментального моделирования интоксикации ФОП использовали кроликов породы шиншилла, полученных из питомника «Рапполово» (г. Москва). Навески всех ФОП объединяли и готовили *ex tempore* раствор в 50 % этаноле (w/v), из расчёта 1 мл/кг. Дихлофос, диметоат, диазинон и метилпаратион вводили в/ж в дозе 1/10 DL₅₀, хлорпирифос и фозалон – в/ж в дозе 1/50 DL₅₀. Отбор крови осуществляли из краевой вены уха сначала до введения ФОП (фоновый контроль), затем через 20–30 мин, 1, 2, 3, 4 и 6 ч, 1, 2, 3, 4 и 6 сут после введения ФОП. Мочу кроликов собирали до введения ФОП, затем в течение первых 3–6 ч, далее через 1, 2, 3, 5, 7, 14 и 21 сут.

Введение ЛПЗ осуществляли подкожно. Промышленные токсиканты представлены коммерчески доступной смесью 18 летучих соединений, растворенных в 1 мл метанола в концентрации около 2 мг/мл для каждого компонента смеси (EPA 524.2 Revision 4 Mix, Supelco, 47427-U, 1 мл). 1 мл указанной смеси разводили в метаноле до 3 мл, каждому кролику весом 3 кг вводили по 1 мл разведенной смеси подкожно. Таким образом, каждому кролику было введено примерно по 0,67 мг каждого компонента смеси (0,22 мг/кг).

Отбор крови осуществляли из краевой вены уха сначала до введения смеси (фоновый контроль), затем через 10 мин, 30 мин, 1, 2, 4, 6 ч, 1, 2, 5 сут после введения смеси. Мочу кроликов собирали до введения смеси, затем в течение первых 3–6 ч, далее через 1, 2, 3, 5 сут.

Для высокочувствительного определения ФОП и ЛПЗ в биологических образцах, нами разработаны [12] методики определения ФОП (хлорпирифоса, метилпаратиона, диазинона, диметоата и фозалона) на уровне 1 нг/мл в крови и моче методом ГХ-МС/МС (свидетельство о метрологической аттестации № 222.0320/01.00258/2013) и ЛПЗ в цельной крови и моче (свидетельство о метрологической аттестации № 222.0319/01.00258/2013).

Вычисление токсикокинетических параметров было произведено с использованием двух-компарментной модели:

$$\frac{dC_{\text{кровь}}}{dt} = (k_{1-2} + k_{\text{экс}} + k_{\text{мет}} + k_{\text{проч}})C_{\text{кровь}} - k_{2-1}C_{\text{депо}}, \quad (1)$$

где $C_{\text{кровь}}$ – концентрация соединения в крови; $C_{\text{депо}}$ – концентрация соединения в депо (жировая ткань, нековалентные аддукты с белками и пр.); k_{1-2} – константа скорости депонирования; k_{2-1} – константа скорости выведения из депо в кровь; $k_{\text{экс}}$ – константа скорости экскреции с мочой (соответствует почечному клиренсу); $k_{\text{мет}}$ – константа скорости биотрансформации; $k_{\text{проч}}$ – константа скорости выведения прочими путями (с желчью, воздухом, слюной и пр.). В сумме с $k_{\text{мет}}$ соответствуют печёчному клиренсу.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в компьютерной программе GraphPad Prism 5.04. Для выявления значимости различий показателей в динамике применяли *T*-критерий Вилкоксона для связанных выборок.

Результаты и обсуждение

Метод биологического контроля должен обладать чувствительностью, обеспечивающей возможность определения концентраций в биосредах, соответствующих 0,5 ПДК в окружающей среде [13]. Обнаружение высоких уровней и концентраций тестов экспозиции в биосредах, как правило, не представляет методических трудностей, в то время как низкие концентрации, которые могут наблюдаться при экспозиции 0,5 ПДК_{р.з.}, оказываются вне возможностей классических подходов к физико-химическому анализу в аналитической токсикологии и определяют необходимость разработки новых высокочувствительных методов биологического контроля.

Для оценки возможности использования разработанной методики для биологического контроля ФОП была проведена экспериментальная оценка токсикокинетических параметров пестицидов в остром опыте. Результаты определе-

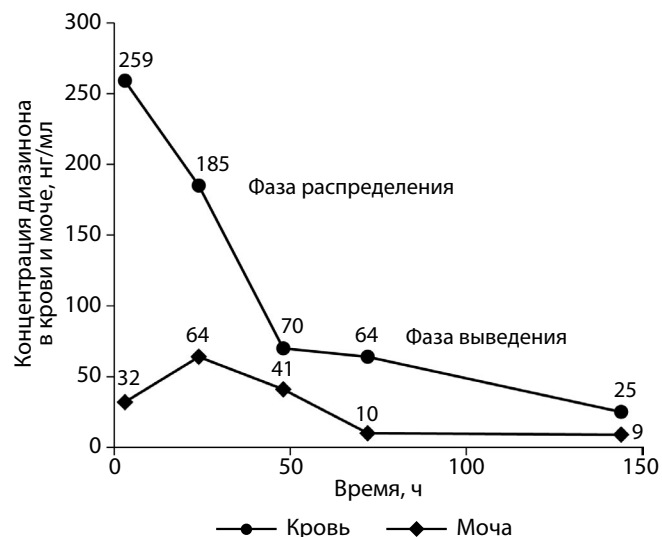


Рис. 2. Изменение концентраций диазинона в крови и моче кроликов после введения 1/50 DL₅₀.

Fig. 2. Changes in diazinon concentrations in the blood and urine of rabbits after administration of 1/50 DL₅₀.

ния концентраций ФОП (на примере диазинона) приведены на рис. 2.

Можно отметить, что определение токсикокинетических параметров на поздней стадии выведения оказалось возможным только с использованием высокочувствительной методики с пределом обнаружения 1 нг/мл. Большие пределы обнаружения не позволили бы вообще выявить кинетические параметры на поздних сроках после введения ФОП.

Скорость ингаляционного поступления вещества в организм ${}^h v_{0 \rightarrow 1}$, мкг/ч с учётом минутного объёма дыхания человека (VR , л/мин) можно вычислить по формуле (2):

$${}^h v_{0 \rightarrow 1} = {}^h VR \cdot Lim \cdot 60, \quad (2)$$

где ${}^h v_{0 \rightarrow 1}$ – скорость ингаляционного поступления вещества в организм, мкг/ч; VR – минутный объём дыхания человека, л/мин; Lim – пороговая концентрация, например, ПДК (ОБУВ), мг/м³.

Оценку скоростей экскреции, биотрансформации и трансфера вещества между компартментами в различные моменты времени после введения токсикантов согласно уравнению (2) выполняли с использованием подходов в табл. 1:

Алгоритм оценки скоростей и констант скоростей различных токсикокинетических процессов можно рассмотреть на примере метилпаратиона: с 4 до 6 ч после введения метилпаратиона его суммарное количество в организме кролика убывает со скоростью 23,8 мкг/ч (v), при этом со скоростью 12,3 мкг/ч ($v_{мет}$) проис-

Таблица 1 / Table 1

Способы оценки скоростей экскреции, биотрансформации и трансфера вещества между компартментами
Methods for assessing the rates of excretion, biotransformation and transfer of a substance between compartments

Параметр	Способ оценки
v_{2-1}	Скорость элиминирования вещества из организма на поздних стадиях выведения
$v_{мет}$	По скорости увеличения концентрации метаболитов вещества в крови и моче
v_{1-2}	Определение суммарного количества депонированного вещества путем экстраполяции v_{2-1} на начальный момент времени
$v_{проч}$	Разница между v (скорость элиминирования вещества из первого компартмента) и остальными путями выведения
$v_{экс}$	Скорость увеличения количества вещества в моче

ходит увеличение концентрации основного метаболита – 4-нитрофенола. На поздней фазе элиминирования минорные концентрации вещества в моче поддерживаются исключительно за счет выведения из депо со скоростью 0,09 мкг/ч (v_{2-1}), в крови при этом концентрации ниже предела обнаружения. Экстраполяция v_{2-1} на начальный момент времени позволяет оценить суммарное количество депонированного вещества и провести оценку скорости депонирования 15,0 мкг/ч (v_{1-2}). Требование соблюдения материального баланса позволяет сделать вывод, что выведением прочими путями ($v_{проч}$) можно пренебречь (для нелетучих соединений – с желчью и слюной).

Проведение экспериментального определения токсикокинетических параметров позволяет оценить применимость разработанных методик для биологического контроля вредных веществ, однако требует проведения трансляции (экстраполяции, масштабирования) количественных токсикокинетических параметров от животных к человеку. В данной работе нами использована физиологически обоснованная модель масштабирования. Основные параметры и положения приведены согласно работам Н. Voxenbaum [14] и В.П. Жердева и соавт. [15] Исходные физиологические данные для масштабирования приведены в табл. 2.

Справочные коэффициенты масштабирования от биомоделей к человеку приведены в табл. 3.

Таблица 2 / Table 2

Исходные физиологические данные для масштабирования от крыс и кроликов к человеку
Initial physiological data for scaling from rats and rabbits to humans

Показатель	<i>H.sapiens</i>	<i>R. norvegicus</i>	<i>O. cuniculus</i>
Масса тела (BW), кг	70	0,25	2,5
Диурез, мл/ч/кг	0,9	8,0	2,4
Ток желчи (QC), мл/ч/кг	0,2	3,6	5,0
Минутный объём дыхания (VR), л/мин	8,0	0,12	0,8
Микросомальный белок (сур450), нмоль/мг	307 ± 160	673 ± 50	681 ± 36
Печёночный кровоток (QH), мл/мин/кг массы тела	20 (1,8 л/мин)	70 (170 мл/мин)	50 (120 мл/мин)
Почечный кровоток (QR), мл/мин/кг	18	37	32
Скорость клубочковой фильтрации (GFR), мл/мин/кг	1,8	8,7	4,8
Масса жировой ткани (AT), %	20%	7%	6%
Площадь лёгких (LS), м ²	140	0,9	6,8

Таблица 3 / Table 3

Межвидовое масштабирование от животных к человеку (h – физиологический параметр человека, a – животного)**Interspecies scaling from animals to humans (h – human physiological parameter, a – animal)**

Параметр	Уравнение	Коэффициент масштабирования от биомодели	
		<i>R. norvegicus</i>	<i>O. cuniculus</i>
Vd_1 , мл	$\frac{hVd_1}{aVd_1} = \frac{hBW}{aBW}$	280	28,0
Vd_2 , мл	$\frac{hVd_2}{aVd_2} = \frac{hAT}{aAT}$	3,0	3,0
$k_{1 \rightarrow 2}$, ч ⁻¹ $k_{2 \rightarrow 1}$, ч ⁻¹	Масштабирование не требуется*	1,0	1,0
$k_{экс}$, ч ⁻¹	$\frac{hk_{экс}}{ak_{экс}} = \frac{hGFR}{aGFR}$	0,2	0,4
$k_{мет}$, ч ⁻¹	$\frac{hk_{мет}}{ak_{мет}} = \frac{hQ_H}{aQ_H}$	0,3	0,4
$k_{проч}$, ч ⁻¹	$\frac{hk_{проч}}{ak_{проч}} = \frac{hQ_c}{aQ_c}$ Для экскреции с желчью	1,8	2,5
	$\frac{hk_{проч}}{ak_{проч}} = \frac{hLS}{aLS}$ Для экскреции с выдыхаемым воздухом	155	20
$v_{0 \rightarrow 1}$, мкг/ч	$\frac{hv_{0 \rightarrow 1}}{av_{0 \rightarrow 1}} = \frac{hVR}{aVR}$	66,7	10,0

Примечание. * – равновесие зависит от соотношения объёмов компартментов: Vd_1 и Vd_2 .

Создание токсикокинетически обоснованной модели «судьбы» химического соединения в организме открывает возможности для масштабирования внешней концентрации в ходе установления гигиенических нормативов.

Суть масштабирования пороговых величин заключается в следующем: при постоянной скорости поступления токсиканта в организм (2) достигаются стационарные концентрации в различных компартментах и экскретах организма, что создаёт математическую основу для масштабирования скорости поступления вещества в организм, а, следовательно, и пороговой величины. В общем виде уравнение стационарного состояния можно представить следующим образом (3):

$$v_{0 \rightarrow 1} = k_{2 \rightarrow 1} C_{ss_депо} - (k_{1 \rightarrow 2} + k_{экс} + k_{мет}) C_{ss_кровь}, \quad (3)$$

где $v_{0 \rightarrow 1}$ – скорость ингаляционного поступления вещества в организм; $C_{ss_кровь}$ – стационарная концентрация соединения в крови; $C_{ss_депо}$ – стационарная концентрация соединения в депо (жировая ткань, нековалентные аддукты с белками и пр.); $k_{1 \rightarrow 2}$ – константа скорости депонирования; $k_{2 \rightarrow 1}$ – константа скорости выведения из депо в кровь; $k_{экс}$ – константа скорости экскреции с мочой (соответствует почечному клиренсу); $k_{мет}$ – константа скорости биотрансформации; $k_{проч}$ – константа скорости выведения прочими путями (с желчью, воздухом, слюной и пр.); в сумме с $k_{мет}$ соответствуют печёночному клиренсу.

В ходе моделирования ингаляционного поступления соединения из атмосферного воздуха можно вычислить стационарные концентрации напрямую, а при моделировании профессионально обусловленного воздействия в качестве стационарных можно использовать средние величины.

Токсикокинетические параметры ФОП, расчётные скорости поступления при биологическом контроле и ожидаемые концентрации в биологических образцах
Toxicokinetic parameters of OP, estimated intake rates under biological control, and expected concentrations in biological samples

Показатель	Диазинон	Диметоат	Хлорпирифос	Фозалон	Метилпаратион
Токсикокинетическая константа, ч ⁻¹ :					
$k_{1 \rightarrow 2}$	0,016	0,02	0,027	1,41	0,08
$k_{2 \rightarrow 1}$	<0,001	0,0035	0,005	0,002	0,001
$k_{\text{экс}}$	<0,001	0,116	0,015	0,16	0,031
$k_{\text{мет}}$	0,028	0,210	0,303	~0*	0,065
$k_{\text{проч}}$	~0***	0,105	~**	~0	~0
Биологический контроль воздуха рабочей зоны					
Скорость поступления, мкг/ч	90	225	136.5	225	45
Ожидаемая концентрация в образце, нг/мл:					
в крови	62	42	32	80	41
в моче	30	220	31	296	304
Биологический контроль атмосферного воздуха					
Скорость поступления, мкг/ч	7,2	0,216	144	7,2	5,76
Ожидаемая концентрация в образце, нг/мл:					
в крови	0,01	0,2	0,6	0,007	0,5
в моче	0,05	13,9	9,6	0,389	53,3

Примечание. * – в условиях эксперимента константой можно пренебречь; ** – величина не оценена, т.к. липофильный метаболит накапливается в организме ($k_{\text{мет}}$ в данном случае сумма всех путей выведения кроме почечного); *** – диазинон единственный из рассматриваемых пестицидов, у которого преобладает окислительный путь метаболизма над гидролитическим (выявлено образование гидроксидиазинона со скоростью 5 мкг/ч, при этом скорость остальных путей метаболизма не превышает 0,5 мкг/ч), поэтому рациональным способом масштабирования $k_{\text{мет}}$ диазинона является сравнение содержаний микросомального белка.

В общем виде уравнение для оценки токсикокинетически обоснованной масштабированной пороговой величины концентрации вредного вещества в воздухе выглядит следующим образом (4):

$$Lim = \frac{k_{2 \rightarrow 1} \frac{m_{\text{депо}}}{h \cdot AT} - (k_{1 \rightarrow 2} + k_{\text{экс}} \frac{h \cdot GFR}{a} + k_{\text{мет}} \frac{Q_H}{a} + k_{\text{проч}} \frac{h \cdot LS}{a}) \cdot CSS_{\text{кровь}}}{1,44 \cdot h \cdot VR} \quad (4)$$

где Lim – пороговая концентрация соединения в воздухе, остальные обозначения см. выше.

Стоит отметить, что величины Vd_2 , $k_{1 \rightarrow 2}$, $k_{2 \rightarrow 1}$, $m_{\text{депо}}$, $CSS_{\text{кровь}}$, $k_{\text{экс}}$, $k_{\text{мет}}$, $k_{\text{проч}}$ оценены в ходе моделирования токсикокинетики, а величины VR , QH , GFR , AT и LS взяты в качестве констант.

Результаты масштабирования токсикокинетических параметров для соединения из групп ФОП и ЛПЗ суммированы в табл. 4 и 5. В таблицах также приведена оценка периодов возможного обнаружения биомаркеров экспозиции ФОП и ЛПЗ в крови человека при использовании разработанных методик количественного определе-

ния. Предложенный алгоритм масштабирования токсикокинетических параметров возможно применять при условии близости биодоступности химических соединений для организма животного и человека, а также близкой к линейной зависимости от дозы площади под токсикокинетической кривой (AUC).

Изменение скорости поступления диазинона (в качестве примера) в организм при 8-часовой рабочей смене приведено на рис. 3, в, скорость поступления составляет 90 мкг/ч при 0,5 ПДК_{р.з.} (см. табл. 4).

Вычисление ожидаемых концентраций диазинона в крови в течение 7 дней (5-дневная рабочая неделя) позволяет построить графики зависимости концентрации соединения в крови, моче (рис. 3, а) и депо (рис. 3, б).

Можно ожидать, что концентрация депонированного вещества достигнет стационарной уже к концу третьей рабочей недели. Ожидаемые концентрации в образцах крови и моче вычислены путём усреднения концентраций за одну рабочую

Таблица 5 / Table 5

Токсикокинетические параметры ЛПЗ, расчётные скорости поступления при биологическом контроле и ожидаемые концентрации в биологических образцах

Toxicokinetic parameters of VIP, estimated intake rates under biological control, and expected concentrations in biological samples

Показатель	2-нитропропан	Метилакрилат	Метакрилонитрил	Дисульфид углерода	Этиловый эфир	Бутилхлорид	1,4-дихлор-2-бутен	ТГФ	Гексахлорэтан	Пентахлорэтан
Токсикокинетическая константа, ч ⁻¹ :										
k_{1-2}	0,003	0,006	0,002	0,031	0,005	0,021	0,0091	0,006	0,003	0,030
k_{2-1}	0,006	0,005	0,007	0,007	0,002	0,006	0,0071	0,003	н/о*	0,007
$k_{\text{экс}}$	0,088	0,106	0,010	0,138	0,229	0,008	0,0078	0,255	0,024	0,034
$k_{\text{мет}} + k_{\text{проч}}$	0,366	0,351	0,42	0,029	0,031	0,014	0,0250	0,029	0,135	0,012
Биологический контроль воздуха рабочей зоны										
Скорость поступления, мкг/ч	н/о**	37,5	7,5	2,25	2250	3,75	7,5	750	н/о	н/о
Ожидаемая концентрация, нг/мл:										
в крови	н/о	1,7	0,3	1,4	223	9	6,8	175	н/о	н/о
в моче	н/о	0,9	6,2	8303	3	4,1	2768	46,8	н/о	н/о
Биологический контроль атмосферного воздуха										
Скорость поступления, мкг/ч	1,2	0,12	н/о	0,06	7,2	0,84	0,06	2,4	0,6	н/о
Ожидаемая концентрация, нг/мл:										
в крови	0,06	0,01	н/о	0,07	1,1	6,5	0,16	0,8	0,1	н/о
в моче	1,73	0,21	н/о	0,37	46,9	2,1	0,11	15,6	0,7	н/о

Примечание. * – константа не оценена; ** – гигиенический норматив отсутствует, ожидаемая скорость поступления и концентрации не оценены. Соединения с $M < 300$ а.е.м. практически не выводятся с желчью, преобладают с воздухом.

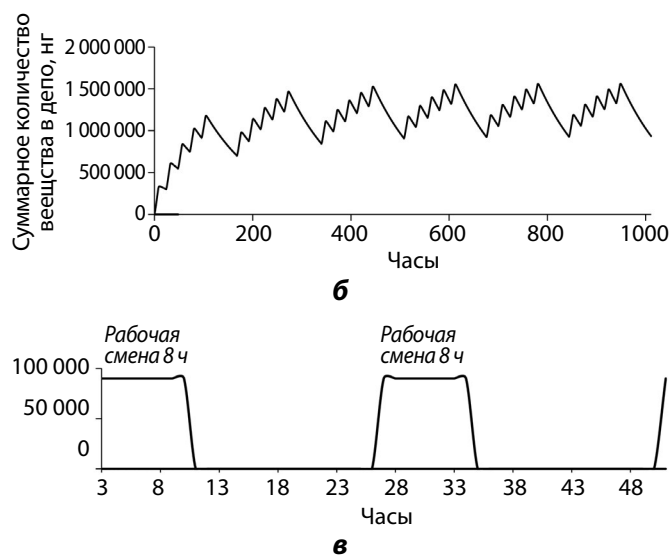
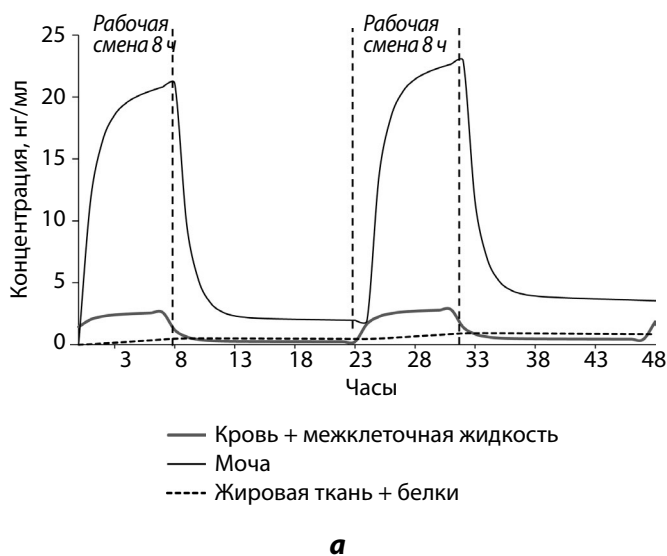


Рис. 3. Вычисление ожидаемых концентраций диазинона в биологических средах:

a – ожидаемые концентрации диазинона в крови, моче; *б* – депо в течение 7 дней (5-дневная рабочая неделя); *в* – изменение скорости поступления диазинона в организм.

Fig. 3. Calculation of expected concentrations of diazinon in biological media: *a* – expected concentrations of diazinon in blood, urine; *б* – depot within 7 days (5-day work week); *в* – change in the rate of entry of diazinon into the body.

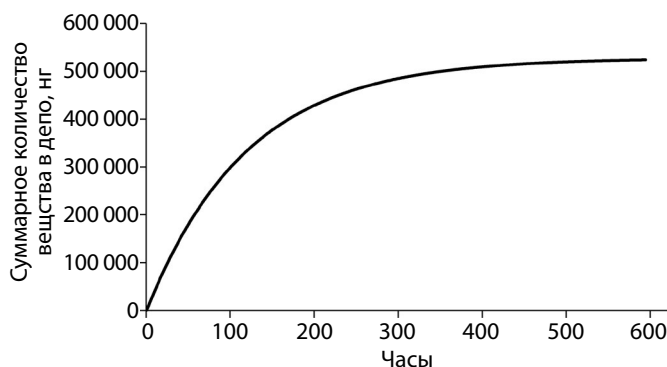


Рис. 4. Ожидаемые концентрации диазинона в депо при поступлении из атмосферного воздуха.

Fig. 4. Expected concentrations of diazinon in the depot when entered from atmospheric air.

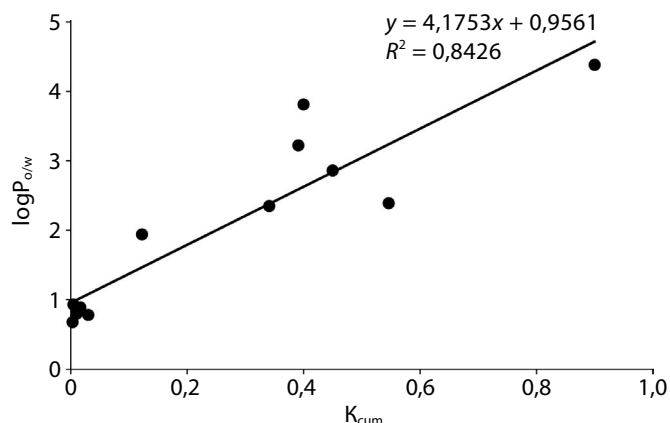


Рис. 5. Результаты оценки коэффициента материальной кумуляции с использованием токсикокинетически обоснованной модели в сравнении с коэффициентом распределения октанол-вода.

Fig. 5. Results of the assessment of the material cumulation coefficient using a toxicokinetic-based model in comparison with the distribution coefficient of octanol-water.

смену после наступления равновесия. Для веществ, характеризующихся низкой материальной кумуляцией в организме, равновесие с воздухом рабочей зоны не достигается.

При вычислении ожидаемых стационарных концентраций соединения при биологическом контроле атмосферного воздуха скорость поступления не будет меняться от времени и её график будет представлять собой прямую линию на уровне $0,8 \text{ ПДК(ОБУВ)}_{\text{атм}}$. График зависимости концентрации диазинона в депо приведен на рис. 4 (форма зависимости в крови и моче – аналогична).

Анализ результатов оценки ожидаемых концентраций ФОП в крови и моче показывает, что биологический контроль в рабочей зоне на

уровне $0,5 \text{ ПДК}_{\text{р.з.}}$ возможно осуществить с использованием разработанной методики для всех рассматриваемых соединений. Биологический контроль атмосферного воздуха на уровне $0,8 \text{ ПДК(ОБУВ)}_{\text{атм}}$ возможно осуществить для диметоата, хлорпирифоса и метилпаратиона при определении их концентраций в моче. Для биологического контроля фозалона и диазинона в атмосферном воздухе требуется более чувствительная методика с пределом определения в 3 и 20 раз ниже, соответственно.

Анализ результатов оценки ожидаемых концентраций ЛПЗ в крови и моче, показывает, что биологический контроль в рабочей зоне на уровне 0,5 ПДК_{р.з.} возможно осуществить для дисульфида углерода, диэтилового эфира, бутилхлорида, 1,4-дихлорбутена-2 и тетрагидрофурана при исследовании крови и мочи; метакрилонитрила и гексахлорэтана (нижнее значение предела определения) при исследовании только мочи; для 2-нитропропана, гексахлорэтана и пентахлорэтана нормативы содержания в воздухе рабочей зоны не установлены.

Биологический контроль атмосферного воздуха на уровне 0,8 ПДК(ОБУВ)_{атм.} возможно осуществить для диэтилового эфира и бутилхлорида при исследовании крови и мочи; 2-нитропропана и тетрагидрофурана – при исследовании только мочи; для метакрилонитрила и пентахлорэтана нормативы содержания в атмосферном воздухе не установлены. Для биологического контроля метилакрилата, дисульфида углерода, 1,4-дихлор-2-бутена и гексахлорэтана в атмосферном воздухе требуется более чувствительная методика с пределами определения в 3–7 раз ниже, соответственно.

Для ряда соединений не были оценены все необходимые токсикокинетические константы, поэтому ожидаемые стационарные концентрации в биологических жидкостях также не были оценены.

Использованная токсикокинетически обоснованная модель позволяет оценить коэффициент материальной кумуляции вредных веществ – долю предыдущей введённой дозы, которая остаётся в организме на момент введения следующей. Результаты оценки приведены на рис. 5 в сравнении с коэффициентом распределения октанол/вода ($\log P_{o/w}$) [16–17]. Высокий коэффициент детерминации ($r^2 = 0,84$) позволяет сделать вывод о том, что наибольший вклад в кумуляцию, среди физико-химических свойств, вносит липофильность. Аномальным отличием от линейной зависимости можно считать только K_{cum} для хлорпирифоса и гексахлорэтана.

Проведение оценки коэффициента материальной кумуляции на основе экспериментальной оценки токсикокинетических данных

позволяет существенно дополнить результаты определения функциональной кумуляции по методу Lim и соавт.

Заключение

Предложенная в данной работе методология позволила разработать и опробовать несколько дополнительных научно-методических «инструментов», которые могут войти в арсенал профилактической токсикологии и будут крайне полезны в ходе установления гигиенических нормативов вредных химических веществ. Применение токсикокинетических моделей для оценки новых биомаркеров экспозиции или эффекта вредных химических веществ позволяет надлежащим образом обосновать их чувствительность в соответствии с санитарными правилами: 0,5 ПДК в воздухе рабочей зоны при производственном контроле и 0,8 ПДК при контроле атмосферного воздуха.

Можно отметить, что определение токсикокинетических параметров на поздней стадии выведения оказалось возможным только с использованием высокочувствительных методик с пределом обнаружения 1 нг/мл. Менее чувствительные методы не позволяют определить количественные параметры материальной кумуляции токсикантов. Основой алгоритма масштабирования пороговых величин является следующий постулат: при постоянной скорости поступления токсиканта в организм достигаются стационарные концентрации в различных компартментах и экскретах организма, что создает математическую основу для масштабирования скорости поступления вещества в организм, а, следовательно, и пороговой величины.

Создание токсикокинетически обоснованной и масштабированной модели «судьбы» токсичного соединения в организме открывает возможности для масштабирования внешней концентрации в ходе установления гигиенических нормативов.

Разработанные подходы к обоснованию тестов экспозиции к вредным веществам – это научно-методическая платформа их биологического контроля, биологических ПДК и обеспечения химической безопасности Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bowden J., Traylor B. The Most Effective Ways to Live Longer, Revised: The Surprising, Unbiased Truth About What You Should Do to Prevent Disease, Feel Great, and Have Optimum Health and Longevity. Fair Winds Press. 2019; 272.
2. Уколов А.И., Мигаловская Е.Д., Радилов А.С. Хроматомасс-спектрометрическое исследование плазмы крови крыс, подвергавшихся воздействию алифатических углеводородов с числом атомов углерода от 1 до 5. *Биомед. журн. Medline.ru.* 2015; 16: 329–34.
3. Уколов А.И., Мигаловская Е.Д., Радилов А.С. Хроматомасс-спектрометрическое исследование биологических образцов крыс подвергавшихся воздействию алифатических углеводородов с числом атомов углерода от 6 до 10. *Биомед. журн. Medline.ru.* 2015; 16: 335–43.
4. Уколов А.И., Кессених Е.Д., Орлова Т.И., Савельева Е.И., Радилов А.С., Гончаров Н.В. Влияние хронического ингаляционного воздействия малых доз алифатических углеводородов С6–С10 на метаболические профили головного мозга и печени крыс. *Токсикологический вестник.* 2017; 3: 31–41.
5. Уколов А.И. Масс-спектрометрия низкого разрешения в метаболическом профилировании биологических образцов. Совершенствование метода. *Токсикологический вестник.* 2022; 30(3): 139–48. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-3-139-148>
6. Уколов А.И., Лаптев Д.С., Карманов Е.Ю., Каракашев Г.В., Криворотов Д.В., Нечайкина О.В., Бобков Д.В., Петунов С.Г. Новые биомаркеры несимметричного диметилгидразина (НДМГ). *Токсикологический вестник.* 2022; 30(3): 182–90. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-3-182-190>

7. Уколов А.И., Шачнева М.Д., Радиллов А.С. Идентификация биомаркеров экспозиции и эффекта 1,4-дихлоргексафторбутена-2. *Токсикологический вестник*. 2019; 4(157): 23–31.
8. Уколов А.И., Сорокоумов П.Н., Радиллов А.С. Определение токсикокинетических параметров вредных химических соединений для повышения эффективности биомониторинга. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21(1): 193–204.
9. Уколов А.И., Радиллов А.С. Токсикометаболизма гидроксилamina. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21(1): 184–192.
10. Уколов А.И., Кессених Е.Д., Радиллов А.С., Гончаров Н.В. Токсикометаболизма: поиск маркеров хронического воздействия низких концентраций алифатических углеводородов. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2017; 53(1): 24–32.
11. Гончаров Н.В., Уколов А.И., Орлова Т.И., Мигаловская Е.Д., Войтенко Н.Г. Метаболизма: на пути интеграции биохимии, аналитической химии, информатики. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(1): 3–17.
12. Уколов А.И., Сорокоумов П.Н., Уколова Е.С., Савельева Е.И., Радиллов А.С. Определение дихлорфоса, диметоата, хлорпирифоса, фозалона, диазинона и метилпаратиона в крови и моче методом газовой хроматографии с tandemным масс-селективным детектированием. *Аналитика и контроль*. 2014; 18(3): 280–6.
13. *Методические рекомендации «Биологический контроль производственного воздействия вредных веществ»*. М.: 1990.
14. Boxenbaum H. Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1980; 8: 165–76.
15. Жердев В.П., Бойко С.С., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Раскин С.Ю. Роль исследований межвидовых особенностей фармакокинетики в создании новых пептидных лекарственных средств. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2018; (1): 3–23.
16. Зенкевич И.Г., Уколов А.И. Кодирование особенностей структуры органических соединений для оценки хроматографических индексов удерживания с использованием аддитивных схем. *Журнал структурной химии*. 2010; 51 (4): 681–91.
17. Зенкевич И.Г., Уколов А.И. Особенности хромато-масс-спектрометрической идентификации продуктов конденсации карбонильных соединений. *Журнал общей химии*. 2011; 81(9): 1479–89.

REFERENCES

1. Bowden J., Traylor B. The Most Effective Ways to Live Longer, Revised: The Surprising, Unbiased Truth About What You Should Do to Prevent Disease, Feel Great, and Have Optimum Health and Longevity. Fair Winds Press. 2019: 272.
2. Ukolov A.I., Migalovskaya E.D., Radilov A.S. Chromatomass-spectrometric study of blood plasma of rats exposed to aliphatic hydrocarbons with the number of carbon atoms from 1 to 5. *Biomedicinskii zhurnal Medline.ru*. 2015; 16: 329–34. (in Russian)
3. Ukolov A.I., Migalovskaya E.D., Radilov A.S. Chromatomass-spectrometric study of biological samples of rats exposed to aliphatic hydrocarbons with the number of carbon atoms from 6 to 10. *Biomedicinskii zhurnal Medline.ru*. 2015.16: 335–43. (in Russian)
4. Ukolov A.I., Kessenikh E.D., Orlova T.I., Savelyeva E.I., Radilov A.S., Goncharov N.V. The effect of chronic inhalation exposure to small doses of aliphatic hydrocarbons C6–C10 on the metabolic profiles of the brain and liver of rats. *Toksikologicheskii vestnik*. 2017; 3: 31–41. (in Russian)
5. Ukolov A.I. Low resolution mass spectrometry in metabolic profiling of biological samples. Improvement of the method. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological review)*. 2022; 30(3): 139–48. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-3-139-148> (in Russian)
6. Ukolov A.I., Laptev D.S., Karmanov E.Yu., Karakashev G.V., Krivorotov D.V., Nechaikina O.V., Bobkov D.V., Petunov S.G. New biomarkers of unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH). *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological review)*. 2022; 30(3): 182–90. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2022-30-3-182-190> (in Russian)
7. Ukolov A.I., Shachneva M.D., Radilov A.S. identification of biomarkers of exposure and effect of 1,4-dichlorohexafluorobutene-2. *Toksikologicheskii vestnik*. 2019; 4(157): 23–31. (in Russian)
8. Ukolov A.I., Sorokoumov P.N., Radilov A.S. Determination of toxicokinetic indices of harmful chemical compounds to improve the efficiency of biomonitoring. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy (Medicine of Extreme Situations, Russian journal)*. 2019; 21(1): 193–204. (in Russian)
9. Ukolov A.I., Radilov A.S. Toxic metabolomics of hydroxylamine. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy (Medicine of Extreme Situations, Russian journal)*. 2019; 21(1): 184–92. (in Russian)
10. Ukolov A.I., Kessenikh E.D., Radilov A.S., Goncharov N.V. Toxicometabolomics: Identification of markers of chronic exposure to low doses of aliphatic hydrocarbons. *Zhurnal e'volucionnoy biokhimii i fiziologii*. 2017; 53(1): 25–36. (in Russian)
11. Goncharov N.V., Ukolov A.I., Orlova T.I., Migalovskaya E.D., Voitenko N.G. Metabolomics: On the Way to an In-tegration of Biochemistry, Analytical Chemistry, and Informatics. *Uspehi sovremennoy biologii*. 2015; 5(4): 296–307. (in Russian)
12. Ukolov A.I., Sorokoumov P.N., Ukolova E.S., Savelyeva E.I., Radilov A.S. Determination of dichlorvos, dimethoate, chlorpyrifos, fosalone, diazinon and methyl parathion in blood and urine by gas chromatography with tandem mass-selective detection. *Analitika i kontrol*. 2014; 18(3): 280–6. (in Russian)
13. Guidelines «Biological control of industrial exposure to harmful substances», Moscow: 1990. (in Russian)
14. Boxenbaum H. Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1980; 8: 165–76.
15. Zherdev V.P., Boyko S.S., Shevchenko R.V., Bochkov P.O., Gribakina O.V., Raskin S.Yu. The role of studies of interspecies differences pharmacokinetics in the creation of new peptide drugs. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*. 2018; 1: 3–23. (in Russian)
16. Zenkevich I.G., Ukolov A.I. Coding of the structural features of organic compounds for the estimation of chromatographic retention indices with the use of additive schemes. *Journal of Structural Chemistry*. 2010; 51(4): 642–51.
17. Zenkevich I.G., Ukolov A.I. Features of the Chromatography-Mass Spectrometric Identification of Condensation Products of the Carbonyl Compounds. *Zhurnal obshchey khimii*. 2011; 81(9): 1818–28. (in Russian)

ОБ АВТОРАХ:

Радиллов Андрей Станиславович (Radilov Andrey Stanislavovich), доктор мед. наук, профессор, и.о.директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация. E-mail: radilov@gpRech.ru

Уколов Антон Игоревич (Ukolov Anton Igorevich), канд. хим. наук, заместитель заведующего отделом токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Российская Федерация. E-mail: ukolov.ai@gpRech.ru

