

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭНТЕРАЛЬНОГО
ВВЕДЕНИЯ ТИОМЕРСАЛА И АЦЕТАТА РТУТИ В ЭКВИТОКСИЧЕСКИХ
ДОЗАХ**

**COMPARATIVE STUDY OF THE RESULTS OF ENTERAL ADMINISTRATION
THIOMERSAL AND MERCURY ACETATE IN EQUITOXIC DOSES**

Шемаев М.Е., Малов А.М., Щеголохин Д.К., Генералова К.Р., Лапина Н.В.

Shemaev M. E., Malov A. M., Shchegolikhin D. K., Generalova K. R., Lapina N.V.

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова

Федерального медико-биологического агентства»

Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1

Телефон +7(812) 365 51 80 E-mail: ot@toxicology.ru

Резюме

Пиролитическим способом на анализаторе РА-915М определяли содержание ртути в тканях мозга, печени, почках и крови крыс, а также в тканях мозга новорожденных крысят. Ртуть в виде тиомерсала и ацетата ртути вводили внутримышечно в эквитоксических дозах - 0.05 LD₅₀. Установлено, что ртутьорганическое соединение тиомерсал вносит в организм крысы гораздо большее количество ртути, чем неорганический ацетат ртути. Состояние беременности значительно влияет на распределение ртути в организме. Представлена динамика содержания ртути в крови на протяжении беременности.

Resume

The content of mercury in the tissues of the brain, liver, kidneys, and blood of rats, as well as in the tissues of the brain of newborn rat pups, was determined by the pyrolytic method on a RA-915M analyzer. Mercury in the form of thiomersal and mercury acetate was injected intramuscularly at equitoxic doses of 0,05 LD₅₀. It was found that thiomersal of an organic mercury compound introduces a much larger amount of mercury into the rat's body than inorganic mercury acetate. Pregnancy significantly affects the distribution of mercury in the body. The dynamics of mercury content in blood during pregnancy is presented.

Ключевые слова: крысы, эквитоксическая доза тиомерсала и ацетата ртути, распределение ртути, беременность

Key words: rats, equitoxic dose of thiomersal and mercury acetate, distribution of mercury, pregnancy

Введение

Ртуть принадлежит к группе токсичных металлов – веществ негативно влияющих на экологическую обстановку и представляющих большую опасность для живых организмов. Этот металл и его соединения относят к веществам первого класса опасности [1]. Достаточно широкое применение, растущее содержание в окружающей среде, персистентность, летучесть ртути и некоторых ее соединений, при высокой степени сродства к лигандам живой материи обуславливают высокую токсичность этого металла, делают ее приоритетным неорганическим экотоксикантом.

Ртуть может поступать в организм различными путями – ингаляционно в виде паров металла и его летучих соединений, с пищевыми продуктами [2], с прививочным материалом, в котором органическое соединение ртути тиомерсал является консервантом. Расчеты показывают, что в течение первых 6 месяцев жизни с прививками ребенок может получить до 187,5 мкг ртути. [3]. Тиомерсал (Тимеросал, Мертиолят, Мерторган, Мерзонин) по радикально-функциональной химической номенклатуре это орто-этилртутьтиосалицилат натрия, с брутто-формулой – $C_9H_9HgNaO_2S$, (CAS 54-64-8). LD₅₀ 98 мг/кг для крыс. [4]. Тиомерсал - ртутьорганическое соединение с не до конца выясненными механизмами антибактериального и противогрибкового действия. [5]. В США он используется как консервант более чем в 30-ти вакцинах в концентрациях от 0.0003 % до 0.01 %. В Российской Федерации тиомерсал входит в состав не менее чем 8-ми вакцин. Согласно Национальному календарю прививок ребенку до годовалого возраста с прививками 15 раз могут внести тиомерсал в организм. Помимо вакцин, тиомерсал входит как консервант в некоторые препараты для наружного применения – до 0.01 %.

Особый интерес к тиомерсалу возник в связи с появившимися подозрениями на то, что в концентрациях прививочных доз это соединение может провоцировать тонкие психические нарушения у детей, в частности аутизм [6].

Тиомерсал - источник органической ртути – этилртути, которая образуется в организме при его распаде.

Своеобразным структурным антагонистом тиомерсалу является другое соединение ртути – ацетат ртути $(CH_3COO)_2 \cdot Hg$. CAS 1600-27-2. LD₅₀ ацетата ртути 40.9 мг/кг [7].

Это неорганическое соединение, имеющее эссенциальный короткоцепочный алифатический анион, обладает определенной способностью преодолевать тканевые и клеточные барьеры и таким образом доносить катион неорганической ртути до межклеточного и внутриклеточного пространства и соответствующих молекулярных мишеней. В то же время известно, что неорганические соединения ртути плохо всасываются в кишечнике, в отличие от органических форм этого металла [8].

Была поставлена цель провести сравнительное исследование распределения ртути при энтеральном введении крысам эквитоксических доз тиомерсала и ацетата ртути и изучить влияние беременности на этот процесс.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах самках массой 180 - 200 г. Животным в период половозрелости (с 25-го после рождения дня) и до зачатия с питьевой водой в растворенном виде давали тиомерсал и ацетат ртути в суточной дозе 0,05 LD₅₀. Расчеты показывают, что в среднем в организм крысы в сутки поступало 1,86 мг/кг и 1,28 мг/кг ртути в случае тиомерсала и ацетата ртути, соответственно.

В эксперименте было задействовано несколько групп животных (см. табл. 1)

Таблица 1. Обозначение групп экспериментальных животных

Физиологическое состояние крыс	Введенный препарат		
	Тиомерсал	Ацетат ртути	Питьевая вода
Беременные	I группа	III группа	V группа
Небеременные	II группа	IV группа	VI группа

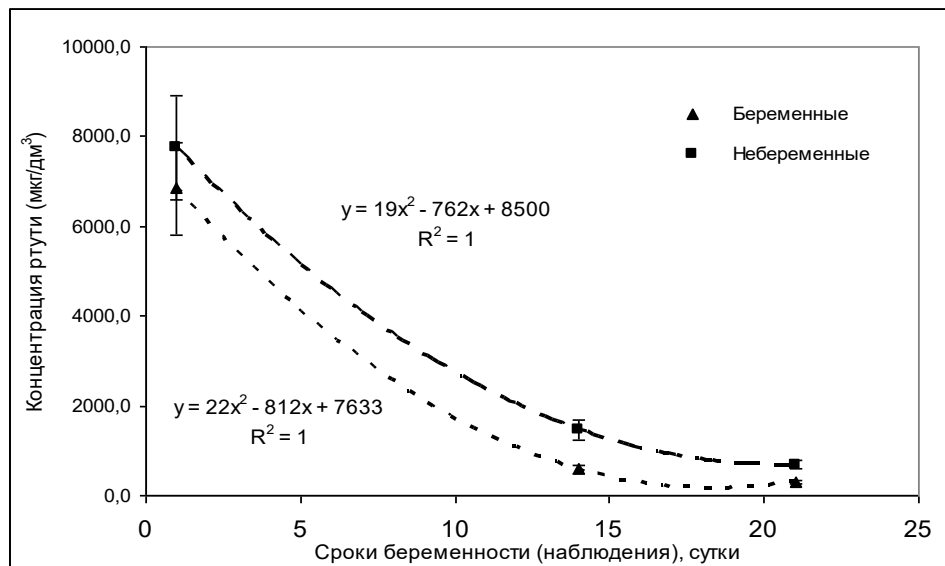
Содержание ртути в органах и тканях крыс определяли на ртутном анализаторе РА-915М с помощью пиролитического метода, разработанного во ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России [9, 10]. Содержание ртути было также определено в тканях мозга крысят, родившихся от самок I, III и V группы на момент прекращения грудного вскармливания.

Исследования соответствовали принципам гуманности, изложенных в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU) [11].

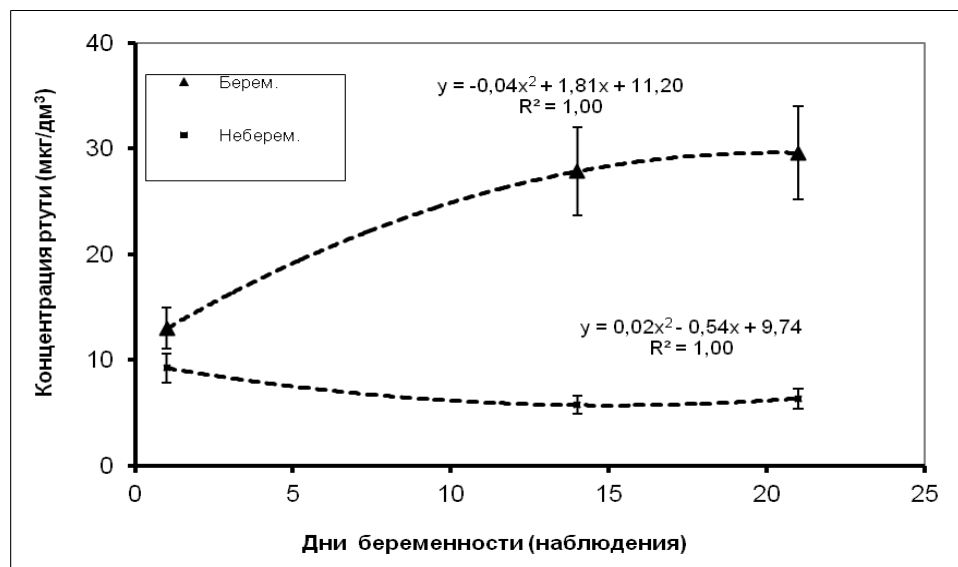
Полученные результаты обработаны стандартным пакетом прикладных программ Microsoft Office 2007 ОС Windows 7. Данные представлены средними арифметическими значениями с ошибкой среднего $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Концентрация ртути в крови контрольной группы крыс на протяжении 21 дня наблюдений беременности в среднем составила 3,7 мкг/л для беременных (V группа) и 5,0 мкг/л для небеременных (VI группа). Такой уровень ртути в крови можно считать фоновым для животных, не получавших соединений ртути.



а)



б)

Рисунок 2 . Изменение содержания ртути в крови крыс в течение беременности

а - заправка тиомерсалом, б- заправка ацетатом ртути

Из анализа графиков на рис. 2а, (данные для I и II групп животных), видно, что для обеих групп (беременные и небеременные) наблюдается плавное снижение концентрации ртути в крови, к 21-му дню наблюдения значения содержания ртути в крови достигают у животных I и II групп таковых для контрольных животных (V группа). Статистически значимые отличие уровня концентрации ртути в крови у беременных и небеременных лабораторных животных наблюдаются только на 14 день беременности (по критерию Манна-Уитни). Однако различие невелико и уже на 21 день и концентрации ртути в этих группах статистически неразличимы (по критерию Манна-Уитни). Кривые элиминации ртути из крови крыс, получавших тиомерсал, у беременных и небеременных практически совпадают, хотя кривая для небеременных проходит несколько выше.

Принципиально иначе выглядит картина элиминации ртути из крови крыс, получавших ацетат ртути (рис. 26). В первые дни анализа содержание ртути в крови III и IV групп крыс, статистически неотличимы. На 14 и 21 день концентрация ртути в крови беременных крыс возрастает до 29-30 мкг/л (III группа), в то время как концентрация ртути в крови небеременных крыс (IV группа) снижается к этому сроку практически до значений содержания ртути в крови V группы, т.е. до фонового уровня контрольной группы.

Другим важным отличием в динамике накопления и выведения ртути в виде тиомерсала или ацетата ртути является на два порядка большие концентрации ртути в крови животных I-й и II-й групп, по сравнению с III-й и IV-й группами.

Наблюдаемые коллизии, по-видимому, обусловлены различным накоплением ртути в органах и тканях в случае тиомерсала и ацетата ртути.

Таблица 2 – Содержание ртути в органах экспериментальных животных, мкг/кг

Органы	Группы животных					
	I группа	II группа	III группа	IV группа	V группа	VI группа
Мозг	411,7±43,2	2765,5±326,	15,93±2,1	16,02±1,97	7,88±0,89	4,83±0,57
Почки	132,8±19,2	58,84±8,94	4,74±0,66	4,95±0,64	0,56±0,08	0,51±0,07
Печень	4,70±0,62	17,15±1,31	0,31±0,04	1,27±0,18	0,12±0,02	0,12±0,02
Мозг крысят	53,4±1,9 мкг/кг		3,9±0,1 мкг/кг		2,2±0,1 мкг/кг	

Данные табл. 2 свидетельствуют о разнонаправленном характере накопления ртути в зависимости от физиологического состояния животного (беременность, небеременность) и вида токсиканта, т.е. формы ртути проступившей в организм животного.

Состояние беременности сопровождалось значительным накоплением ртути в тканях мозга и печени в случае тиомерсала (I и II группа крыс), в то же время в почках содержание ртути снижалось. По-видимому, такие изменения обусловлены липофильным характером органического соединения ртути, каковым является тиомерсал.

В случае затравки ацетатом ртути (III и IV группы крыс) беременность отразилась только на уменьшении содержания ртути в печени. Обращает на себя внимание, так же как в случае крови, гораздо большее содержание ртути в тканях мозга, печени и почек при затравке тиомерсалом.

В последней строке табл. 2 приведены значения концентрации ртути в тканях мозга крысят, полученных от крыс I, III и V групп. Очевидно, что в период беременности

и грудного кормления ртуть передается потомству и ее количество зависит от формы токсиканта при затравке матерей.

Таким образом полученные результаты показывают, что в зависимости от формы соединений ртуть по разному накапливается в тканях мозга, печени, почках и крови. Ртуть в форме органического соединения – тиомерсала, в значительно больших количествах накапливается в перечисленных структурах по сравнению с неорганической формой, ацетатом ртути. Эта же закономерность наблюдается у крысят, в мозгу которых ртути гораздо больше при затравке их матерей тиомерсалом, чем ацетатом ртути.

Другой вывод просматривается при анализе влияния беременности на накопление ртути, особенно при использовании тиомерсала. Состояние беременности в этом случае сильно снижает содержание ртути в тканях мозга и печени, увеличивая его в почках. В случае ацетата ртути таких сильных изменений не наблюдается, хотя в печени при беременности содержание ртути сильно уменьшается.

Помимо сделанных напрашивается еще один, вывод общего характера, а именно о значительной условности показателя среднесмертельной дозы веществ (LD_{50}), в данном случае для тиомерсала и ацетата ртути. Расчет эквитоксических доз исключительно на основе LD_{50} , по-видимому, не всегда является оправданным при исследовании механизмов распределения и действия токсикантов. Такой подход отражает выживаемость животных, но не отражает картину изменения физиологических процессов, сопровождающих действие токсиканта. Возможно, эквиконтрационный подход, т.е. применение веществ в равных концентрациях, было бы более оправданным.

Литература

1. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (Межгосударственный стандарт): ГОСТ 12.1.007-76; введ. с 01.01.1977. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 6 с.
2. Okpala C. O. R. et al. Hazardous properties and toxicological update of mercury: From fish food to human health safety perspective //Critical reviews in food science and nutrition. – 2018. – Т. 58. – №. 12. – С. 1986-2001.
3. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11590>.
4. Thimerosal [54-64-8] Nomination to the National Toxicology Program / Review of the Literature. 2001. URL: <https://ru.scribd.com/document/18028168/Thimerosal-National-Toxicology-Program>.
5. https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C47751.

6. Bradstreet Jeff, Geier D.A., Kartzinel J.J., Adams J.B., Geier M.R. A Case-Contrrol Study of Mercury Burden in Children with Autistic Spectrum Disorders. Journal of American Physicians and Surgeons. 2003. - Vol. 8. - № 3. - P. 76-79.

7. Mercuric Acetate (Certifued ASC). Revision Date 17.01.2016.
<https://www.thermofisher.com>.

8. Ртуть и ее неорганические соединения.// Обзоры литературы по токсичности и опасности химических веществ. Под. общ. ред. Н.Ф.Измерова. - Вып. 126. Центр международных проектов. М. - 1988. - 116 с.

9. Малов А.М., Щеголихин Д.К., Шемаев М.Е., Сибиряков В.К. Пиролитический способ определения ртути в крови. Биомедицинский журнал Medline.ru. - ТОМ 21. – СТ. 14. - С. 157-165.

10. Малов А.М., Сибиряков В.К., Кашуро В.А., Шемаев М.Е., Щеголихин Д.К. Патент на изобретение «Способ определения ртути в биологических материалах» № 2696958. Патентообладатель ФГБУН ИТ ФМБА России. Заявка № 2018143843. Приоритет от 10 декабря 2018 г. Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 07 августа 2019 г. Срок действия исключительного права 10 декабря 2036.

11. Красильщикова, М.С., Белозерцева, И.В. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA: Объединение специалистов по работе с животными СПб 2012.