

УДК 57.084.1 + 57.017.8 + 59.084

АЭРОЗОЛЬНАЯ КАМЕРНАЯ УСТАНОВКА ПО ТИПУ «ГОЛОВА-НОС» TSE SYSTEMS ДЛЯ ЭКСПОНИРОВАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПО НОРМИРОВАНИЮ ПРОИЗВОДНОГО ДИПИРИДИЛИЯ

Порошин М.А., Белоедова Н.С., Сафандеев В. В.

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Ингаляционный путь поступления химических веществ является одним из наиболее значимых. Воздух рабочей зоны не должен оказывать вредное воздействие на работающих, поскольку характер их трудовой деятельности во многом предопределяет степень влияния поступающих с дыханием веществ на организм. Цель исследования состояла в разработке методического подхода при работе на новой ингаляционной камере в эксперименте по нормированию производного дипиридилия в воздухе рабочей зоны.

Материалы и методы. *С помощью установки для экспонирования лабораторных животных по типу «голова-нос» (TSE Systems, Германия) на крысах проведено исследование нескольких концентраций гербицидного аэрозоля, производного дипиридилия. Оценивали воздействие аэрозоля на животных по признакам интоксикации (изменение внешнего вида, характера выделений, поведения) и наличию летальных исходов. Статистическую обработку данных для оценки однородности выборки и определения значимости различий проводили с помощью F-критерия и t-теста Стьюдента.*

Результаты исследования. *Разработан оптимальный методический подход для токсикологических исследований на системе экспонирования по типу «голова-нос». Определены преимущества и недостатки используемой в данной работе системы экспонирования по типу «голова-нос». Даны рекомендации по установлению необходимых скоростей воздушных потоков, учету параметров гранулометрического состава, температуры и влажности внутри затравочного блока для достижения заданной концентрации аэрозоля (режима дозирования).*

Так, на новой ингаляционной системе удалось подобрать 3 режима дозирования химического вещества – $2018,76 \pm 4,28$ мг/м³, $806,56 \pm 0,65$ мг/м³ и $510,02 \pm 0,50$ мг/м³, для достижения нелетальной, полулетальной и летальной концентраций. Приведены важнейшие результаты токсикологической оценки производного дипиридилия для каждой достигнутой концентрации, в т.ч. описаны результаты автоматизированных поведенческих тестов. Используя подобранные режимы дозирования, удалось доказать успешность методического подхода применительно к работе с гербицидами, производными дипиридилия.

Ключевые слова: токсикология, воздух рабочей зоны, гербициды, производные дипиридилия, ингаляционная установка «голова-нос».

Для цитирования: Порошин М.А., Белоедова Н.С., Сафандеев В. В. Аэрозольная камерная установка по типу «голова-нос» tse systems для экспонирования лабораторных животных в эксперименте по нормированию производного дипиридилия. Медицина труда и экология человека. 2022;2:187-204.

Для корреспонденции: Порошин Михаил Андреевич, младший научный сотрудник отдела ингаляционной токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, e-mail: Mikhail_poroshin@bk.ru

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2022-10214>

TSE «HEAD/NOSE-ONLY» AEROSOL EXPOSURE SYSTEM FOR LABORATORY EXPERIMENTAL ANIMALS ON THE REGULATION OF A DIPYRIDYLIUM DERIVATIVE

M.A. Poroshin, N.S. Beloedova, V.V. Safandeev

F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene of the Federal Service for Surveillance
on Consumer Rights Protection and Human Well-being

The inhalation route of chemicals intake is one of the most significant. The air of the working area should not have a harmful effect on workers, since the nature of their work activity largely determines the degree of influence of substances entering with breathing on the body. The purpose of the study was to develop a methodological approach when working on a new inhalation chamber in an experiment on the regulation of a bipyridylum derivative in the air of the working area.

Materials and methods. *With the help of an «head/nose-only» aerosol exposure system for laboratory animals (TSE Systems, Germany), several concentrations of herbicidal aerosol, a derivative of dipyridylum, were studied on rats. The impact of the aerosol on animals was assessed by signs of intoxication (changes in appearance, secretions and behavior) and the presence of lethal outcomes. Statistical processing of data to assess the homogeneity of the sample and determine the significance of differences was carried out using the F-test and Student's t-test.*

Research results. *An optimal methodological approach has been developed for toxicological studies on a «head/nose-only» aerosol exposure system. The advantages and disadvantages of the «head/nose-only» aerosol exposure system used in this work are determined. Recommendations are given for setting the required air flow rates, taking into account the parameters of particle size distribution, temperature and humidity inside the seed block to achieve a given aerosol concentration (dosing regimen).*

So, on the new inhalation system, it was possible to select 3 dosing regimens for the chemicals substances— $2018,76 \pm 4,28 \text{ mg/m}^3$, $806,56 \pm 0,65 \text{ mg/m}^3$ and $510,02 \pm 0,50 \text{ mg/m}^3$, to achieve non-lethal, semi-lethal and lethal concentrations. Detailed results of the toxicological evaluation of the dipyridylium derivative are given for each concentration reached, including the results of automated behavioral tests are described. Using the selected dosing regimens, it was possible to prove the success of the methodological approach to working with herbicides, a derivative of dipyridylium.

Keywords: toxicology, working area air, herbicides, dipyridylium derivatives, «head/nose-only» aerosol exposure system.

Citation: M.A. Poroshin, N.S. Beloedova, V.V. Safandeev. Tse «head/nose-only» aerosol exposure system for laboratory experimental animals on the regulation of a dipyridylium derivative. *Occupational health and human ecology.* 2022; 2:187-204.

Correspondence: Mikhail A. Poroshin, Junior researcher at the Department of Inhalation Toxicology, the Erisman Federal Scientific Centre of Hygiene, e-mail: Mikhail_poroshin@bk.ru

Financing: The study had no financial support.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2022-10214>

В гигиене токсикологические исследования, как правило, направлены на разработку гигиенических нормативов на основе данных токсичности химического вещества (ХВ) при разных путях его поступления. Ингаляционный путь поступления по понятным причинам считается одним из наиболее значимых, поскольку не только атмосферный воздух, но и воздух рабочей зоны не должны оказывать отрицательного воздействия на здоровье населения [1], в т.ч. занятого на производстве. У рабочих хорошо прослеживается связь между характером их трудовой деятельности и влиянием ХВ на организм [2, 3]. Существует широко распространенное мнение о влиянии некоторых гербицидов на возникновение заболеваний, нашедшее отражение в ряде работ [4, 5, 6, 7].

Существуют определенные трудности при оценке ингаляционной токсичности для разработки нормативов в воздухе рабочей зоны. Так, проводить такие исследования на человеке по известным причинам невозможно, поэтому исследования ХВ группы гербицидов проводят на животных. Для экспонирования животных следует создавать условия, при которых исследуемое ХВ будет непрерывно (для крыс в течение 4 часов) поступать в виде требуемой формы и концентрации. Перечисленные для экспонирования животных условия пытались учесть при конструировании ингаляционных камер, начиная с 1950-х гг. [8, 9]. Однако все разработанные камеры до сих пор имеют ряд недостатков, среди которых выделяют: неравномерное поступление аэрозоля исследуемого ХВ в зону дыхания каждого животного, отсутствие непрерывного контроля за гранулометрическим составом и концентрацией поступающего в камеру вещества, выделение внутрь пеналов-ретрейнеров продуктов жизнедеятельности подопытных животных при их экспозиции, перегрев животных, а также слабая герметичность пеналов и самой установки, что увеличивает вероятность попадания исследуемого ХВ в окружающее пространство [10, 11, 12, 13, 14].

Система экспонирования, использованная в данной работе, не имеет указанных недостатков и обладает следующими преимуществами: обеспечивается равномерное поступление аэрозоля в затравочный блок, контроль за концентрацией проводится в режиме «реального времени», продукты жизнедеятельности животных из пеналов-ретрейнеров отводятся благодаря особой конструкции затравочного блока, ХВ в зону дыхания исследователей не попадает благодаря отрицательному давлению в самой системе [14, 15, 16].

Задействованная в данной работе экспозиционная установка является новейшей зарубежной разработкой, по которой литературные данные и рекомендации мало представлены.

Целью стала разработка методического подхода при работе с новой ингаляционной камерой по типу «голова-нос» в эксперименте по нормированию производного дипиридилия в воздухе рабочей зоны. Для этого необходимо было решить следующие *задачи*: комплексно охарактеризовать новую установку по типу «голова-нос»; разработать оптимальный методический подход при различных режимах работы камеры для исследований ингаляционной токсичности; провести исследование ингаляционной токсичности гербицидного аэрозоля производного дипиридилия в соответствии с разработанным оптимальным методическим подходом.

Материалы и методы

Животные и условия содержания. Исследование выполнено на белых крысах линии Wistar из филиала питомника «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные после прибытия из питомника находились в помещении карантина испытательной биологической лаборатории (вивария) в течение 7 суток. После карантина животные в течение 5 суток были акклиматизированы к условиям содержания вивария, где их содержали в полипропиленовых клетках (Италия), обогащенной средой, в соответствии с ГОСТ 33216-2014 [17].

Акклиматизация животных проходила в стандартных условиях вивария под контролем установленных диспетчерской системой параметров (температура $22\pm 2^\circ\text{C}$, влажность 40-60%) с 12-часовым искусственным циклом день/ночь (6.00/18.00) при неограниченном (*ad libitum*) доступе к воде и пище [18]. Поставщик гранулированного стандартизированного корма – ООО «Лабораторкорм» (Москва), вода – из станции водоочистки (Miele, Италия).

В каждой клетке до рассадки находилось шесть животных, после рассадки – по три животных одного пола в совокупности занимавших менее 5% от объема всей клетки.

Исследуемое вещество. Тест-системы были использованы для оценки ингаляционной токсичности водного раствора производного дипиридилия, широко применяемого в качестве гербицида на территории РФ, стран СНГ и ЕС.

Выборка и идентификация животных. Для рандомизации и выравнивания групп животных в настоящем исследовании были приручены (хендлинг), а затем оценены по методике [5] с помощью анализа поведения 32 животных, промаркированных нетоксичным цветным маркером (ID), в автоматизированном тесте «открытое поле» (Columbus

Instruments, США) и «норковом тесте» (Columbus Instruments, США), снабженных автоматическими анализаторами (Opto-Varimex-5 Auto-Track, США).

Исходя из проанализированных данных, для последующей оценки трех концентраций гербицидного аэрозоля, производного дипиридилия, было отобрано 18 животных ($n=9\text{♂}/9\text{♀}$), по три самки и три самца на каждую концентрацию. Все самки были нерожавшими и небеременными. Каждая клетка была промаркирована так, чтобы можно было понять основные детали эксперимента: номер клетки, пол животных и их количество, а также концентрацию использованного в эксперименте раствора.

Биоэтический аспект. Эксперименты выполняли в промежутке с 12 до 16 ч. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с национальными [19, 20] и международными [21, 22, 23] руководствами и положениями протокола, утвержденного комитетом по биоэтике Института гигиены, токсикологии пестицидов и химической безопасности ФНЦГ им. Эрисмана Роспотребнадзора.

Оборудование. Исследования проводили в специализированной сертифицированной и валидированной системе экспонирования по типу «голова-нос» (рис. 1).



Рис. 1. Камера по типу «голова-нос» (TSE Systems, Германия)

Figure 1. «Head-to-nose» camera (TSE Systems, Germany)

Ингаляционный путь введения и подбор доз. Использовали ингаляционный путь введения. Экспериментальные работы были начаты с подбора дозы и создания режима постоянной концентрации аэрозоля. Для этого после разведения аэрозоля до 70% концентрации фиксировали время оседания действующего вещества в емкости (стабильность приготовленного раствора производного дипиридилия). В настоящем исследовании испытывали три концентрации аэрозоля, $2018,76 \pm 4,28$ м, $806,56 \pm 0,65$ и $510,02 \pm 0,50$ мг/м³.

Ингаляционная затравка. Аэрозоль получали при давлении сжатого воздуха в ингаляционных камерах 5,5 бар и дозировании исследуемого раствора производного дипиридилия через инфузомат (TSE Systems, Германия) особо высокой точности. Конусовидные цилиндрические камеры для затравки животных располагались радиально (рис. 1), влажность и температура внутри камер отображались на дисплее в автоматизированной системе и ежеминутно фиксировались в ПО DACO (TSE Systems, Германия).

Генерирование аэрозоля и введение исследуемых концентраций препарата. Необходимой концентрации гербицидного аэрозоля достигали в ходе предварительных испытаний без лабораторных животных. В рамках предварительных испытаний устанавливали расчетный параметр для генерирования аэрозоля (V_{dose}), который в последующем корректировали в зависимости от фактической концентрации, относительно предыдущей попытки до тех пор, пока не будет достигнуто необходимое значение концентрации. Данные о фактической концентрации получали при помощи анализатора CasellaCEL-712 и фиксировали ежеминутно в ПО DACO (TSE Systems, Германия). Параметры гранулометрического состава определяли при помощи каскадного импактора и рассчитывали в ПО PSD (TSE Systems, Германия).

В ингаляционную камеру подавали чистый сухой воздух со скоростью 22, 26 и 27 л/мин, из которых 20 л/мин приходилось на Flow Appl для смешивания с раствором, а оставшиеся 2, 6 или 7 л/мин – на Flow Air для создания равномерного ламинарного потока аэрозоля (режимы № 1, 2 и 3 соответственно). Воздушные потоки, а также температуру в камере в течение четырехчасового воздействия фиксировали ежеминутно в ПО DACO (Германия). Время экспозиции на крысах составило 4 ч. Отбор проб осуществляли при скорости 0,5 л/мин в течение 10 минут.

Симптомы интоксикации животных. Проявления интоксикации фиксировали в различные интервалы: во время экспозиции аэрозоля, на протяжении суток после экспозиции и в течение последующих 14 суток дважды (утром и вечером).

Оценивали следующие проявления: изменения шерсти и кожных покровов, состояние органов зрения и слизистых оболочек, изменения со стороны дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем, моторное и исследовательское поведение. Особое внимание обращали на возможность появления тремора, конвульсий, саливации, диареи, летаргии и комы. Фиксировали появление, прогрессирование и исчезновение симптомов интоксикации.

На первые и четырнадцатые сутки с момента экспозиции гербицидного аэрозоля оценивали изменение поведения в тесте «открытое поле» и «норковом тесте».

Летальность. Все животные находились под наблюдением исследователей в различные интервалы: во время экспозиции аэрозоля, на протяжении суток после экспозиции и в течение последующих 14 суток дважды (утром и вечером). Данные о летальности представлены в таблице 3.

Некропсия и гистопатология. После гибели животных проводили их вскрытие и макроскопическую оценку с фотофиксацией.

Статистическая обработка данных. Полученные количественные данные обрабатывали с помощью F-теста для оценки однородности выборки и t-теста Стьюдента для определения значимости различий в ПО GraphPadPrism (Version 5.0, GraphPadSoftware, США) и Excel (Microsoft Corporation, 2019, США).

Результаты

Концентрация аэрозоля производного дипиридилия. В ходе исследований были подобраны следующие уровни концентрации аэрозоля производного дипиридилия: $2018,76 \pm 4,28$, $806,56 \pm 0,65$ и $510,02 \pm 0,50$ мг/м³, соответствующие трем режимам работы ингаляционной камеры (режимы 1-3). Каждая концентрация аэрозоля стабильно находилась на заданном уровне в течение всего четырехчасового эксперимента (рис. 2).

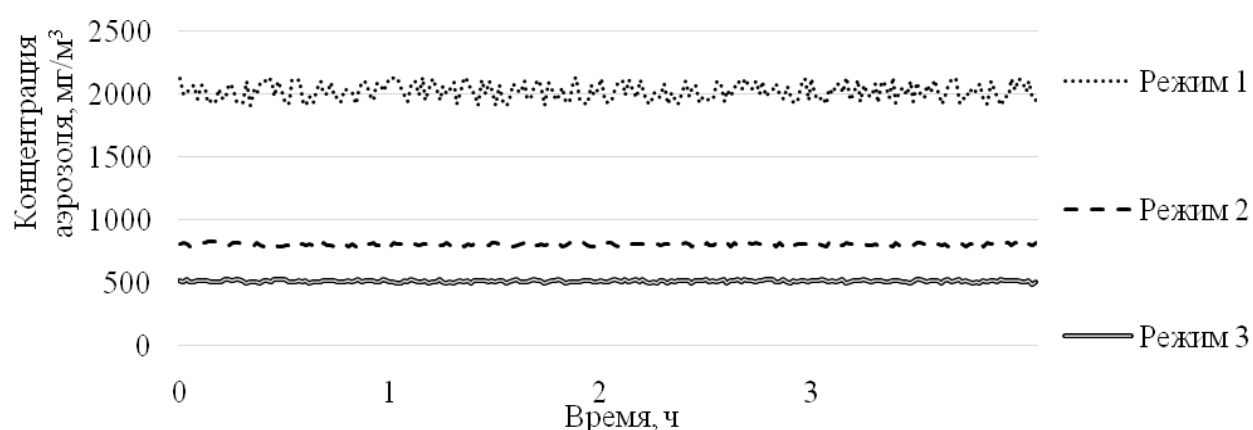


Рис. 2. Динамика концентрации аэрозоля производного дипиридилия

Figure 2. Dynamics of the concentration of an aerosol, a derivative of dipirydylum

Режимы работы. Для каждого режима в таблице (табл. 1) приведены значения скорости потока воздуха, температуры и относительной влажности. Воздушные потоки в ингаляционной камере определяли исходя из значений Flow Appl и Flow Air (л/мин). В течение четырехчасового воздействия для каждого режима были получены нижеобозначенные значения:

Таблица 1

Параметры затравочной камеры

Table 1

Parameters of the seed chamber

Режим работы	Flow Air, л/мин	Flow Appl, л/мин	Влажность, %	Температура, °С
№1	$1,48 \pm 0,03$	$19,93 \pm 0,01$	$84,12 \pm 0,17$	$20,22 \pm 0,01$
№2	$5,57 \pm 0,03$	$19,94 \pm 0,01$	$72,14 \pm 0,27$	$22,21 \pm 0,01$
№3	$7,49 \pm 0,03$	$19,94 \pm 0,02$	$52,14 \pm 0,07$	$20,12 \pm 0,02$

Гранулометрический состав. По результатам отбора проб воздуха во время экспозиций были получены параметры гранулометрического состава. Распределение

медианы аэродинамического диаметра масс частиц (MMAD) для трех режимов работы составило 0,98, 1,10 и 1,10 мкм. Геометрическое стандартное отклонение (GSD) составило 1,63, 3,01 и 1,78 соответственно (табл. 2, рис. 3). При таких размерах частиц мы предполагаем поступление частиц в органы дыхания.

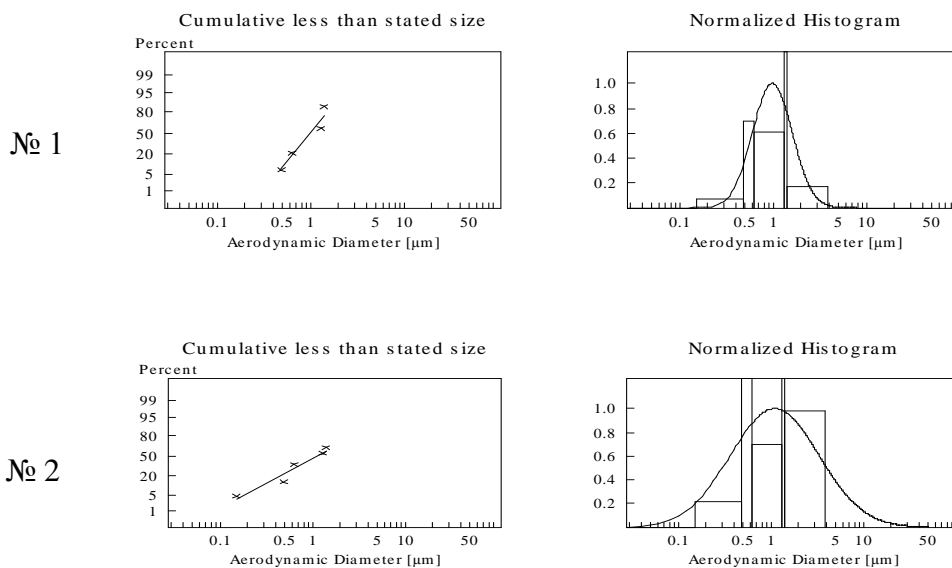
Таблица 2

Гранулометрический состав

Table 2

Particle size distribution

Режим работы	Медиана аэродинамического диаметра частиц (MMAD, мкм)	Геометрическое стандартное отклонение (GSD)
№1	0,98	1,30
№2	1,10	3,01
№3	1,10	1,78



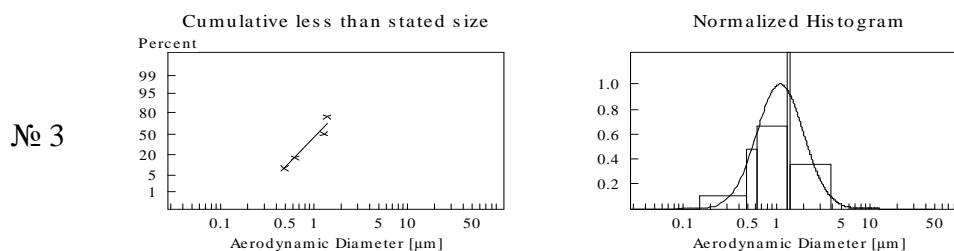


Рис. 3. Распределение частиц аэрозоля

Figure 3. Distribution of aerosol particles

№1, №2, №3 – режимы работы ингаляционной камеры, соответствующие трем разным концентрациям аэрозоля производного дипиридиллия

No. 1, No. 2, No. 3 - modes of operation of the inhalation chamber, corresponding to three different concentrations of aerosol, a derivative of dipirydylium

Симптомы интоксикации. В течение первых суток после экспозиции у всех крыс, получивших аэрозоль в концентрации $2018,76 \pm 4,28$ мг/м³, отмечали свистящее дыхание, вялость и отсутствие аппетита. У одной самки и одного самца, получивших аэрозоль в концентрации $806,56 \pm 0,65$ мг/м³ были отмечены аналогичные симптомы на третьи сутки после экспозиции. Симптомы прогрессировали у животных в обеих группах, вплоть до гибели животных.

У животных, получивших аэрозоль в концентрации $510,02 \pm 0,50$ мг/м³, отмечали только чихание и активное умывание (груминг) сразу после экспозиции гербицидного аэрозоля. Других симптомов интоксикации не наблюдали ни в один из дней исследования.

Автоматизированный анализ поведения. У животных, получивших аэрозоль в концентрации $806,56 \pm 0,65$ мг/м³, были отмечены снижение моторной активности крыс-самок (рис. 4А) на 1-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с днем до экспозиции и крыс-самцов (рис. 4А) на 1-е ($p \leq 0,05$) и 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с днем до экспозиции, принятого за положительный контроль. Исследовательская активность крыс-самок (рис. 4Б) снизилась на 1-е ($p \leq 0,05$) и 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции, крыс-самцов – на 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с днем до экспозиции, принятого за положительный контроль.

У животных, получивших аэрозоль в концентрации $510,02 \pm 0,50$ мг/м³, моторная (рис. 4А) и исследовательская (рис. 4Б) активность крыс-самок снизилась на 1-е ($p \leq 0,05$) и 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с днем до экспозиции. Моторная и исследовательская активность крыс-самцов снизилась на 1-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с днем до экспозиции. При этом моторная активность крыс-самок, получивших аэрозоль в концентрации $510,02 \pm 0,50$ мг/м³, на 1-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции увеличилась по сравнению с самками, получившими аэрозоль в большей концентрации. Моторная активность крыс-самцов, получивших аэрозоль в концентрации $510 \pm 0,50$ мг/м³, увеличилась на 1-е ($p \leq 0,05$) и 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с самцами, получившими аэрозоль в большей концентрации. Следует также отметить, что исследовательская активность крыс-самок, получивших аэрозоль в

концентрации $510,02 \pm 0,50 \text{ мг/м}^3$, на 1-е ($p \leq 0,05$) и 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции увеличилась по сравнению с самками, получившими аэрозоль в большей концентрации. Аналогично исследовательская активность крыс-самцов, получивших аэрозоль в концентрации $510,02 \pm 0,50 \text{ мг/м}^3$, увеличилась на 14-е ($p \leq 0,05$) сутки после экспозиции по сравнению с самцами, получившими аэрозоль в большей концентрации (рис. 4А, Б).

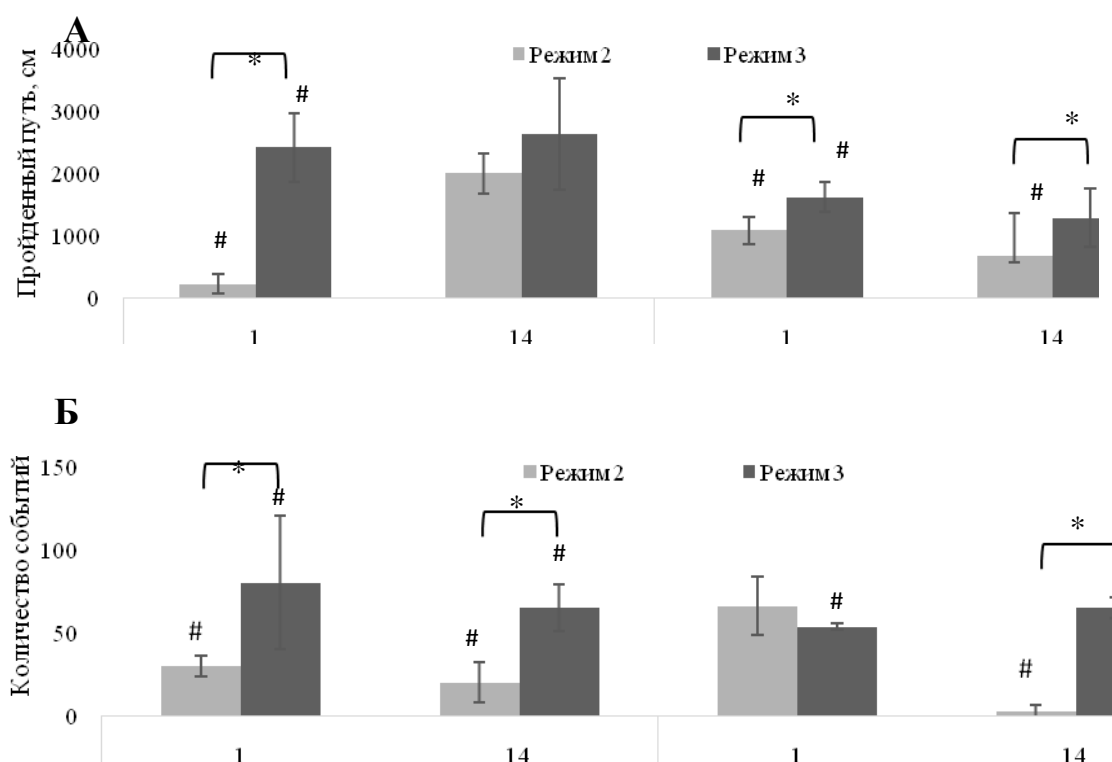


Рис. 4А, Б. Моторный (рис. 4А) и исследовательский (рис. 4Б) компоненты поведения крыс-самок и крыс-самцов на следующие (1) и на 14-е сутки после экспозиции

Пройденный путь измерялся в см, норковый тест – количеством событий за 15 мин.

Режим № 2 – экспозиция аэрозоля в концентрации $806,56 \pm 0,65 \text{ мг/м}^3$.

Режим № 3 – экспозиция аэрозоля в концентрации $510,02 \pm 0,50 \text{ мг/м}^3$

* – $p \leq 0,05$ – значимые различия по отношению к режиму №2.

– $p \leq 0,05$ – значимые различия по отношению ко дню до экспозиции.

Figure 4A, B. Motor (Fig. 4A) and exploratory (Fig. 4B) components of the behavior of female and male rats on the following (1) and 14 days after exposure

The distance traveled was measured in cm, the mink test was the number of events in 15 minutes.

Mode No. 2 - aerosol exposure at a concentration of $806.56 \pm 0.65 \text{ mg/m}^3$.

Mode No. 3 - aerosol exposure at a concentration of $510.02 \pm 0.50 \text{ mg/m}^3$

** - $p \leq 0.05$ - significant differences in relation to mode No. 2.*

- $p \leq 0.05$ - significant differences in relation to the day before exposure.

Летальность. После экспозиции гербицидного аэрозоля в концентрации $2018,76 \pm 4,28$ мг/м³ отмечали гибель всех животных на 3 сутки.

После экспозиции аэрозоля в концентрации $806,56 \pm 0,65$ мг/м³ отмечали гибель двух самок и одного самца на 7 сутки.

После экспозиции аэрозоля в концентрации $510,02 \pm 0,50$ мг/м³ гибель животных не фиксировали (табл. 3).

Таблица 3

Летальность животных

Table 3

Lethality of animals

Режим	Концентрация, мг/м ³	Количество животных	Количество погибших животных			
			В процессе ингаляции и сразу после экспозиции	В период после экспозиции		Всего погибло
				1 сутки	2-14 сутки	
№1	$2018,76 \pm 4,28$	6	0	0	6	6
№2	$806,56 \pm 0,65$	6	0	0	3	3
№3	$510,02 \pm 0,50$	6	0	0	0	0

Обсуждение. Проблема нормирования в воздухе рабочей зоны ХВ, например наиболее часто используемых в сельском хозяйстве гербицидов, в частности производного дипиридилия, остается актуальной по сей день. Сложность нормирования в воздухе рабочей зоны тесно сплетена с проблемой использования ингаляционных камер для экспозиции (или т.н. «затравок») животных.

Наибольшая сложность при работе с камерой по типу «голова-нос» заключается в дозе ХВ: во-первых, ингаляционную дозу определить труднее, чем внутривенную или пероральную; во-вторых, при ингаляционном воздействии сложно соотнести дозу у лабораторных животных с дозой у человека; в-третьих, люди обычно вдыхают ХВ через рот, тогда как большинство лабораторных животных вдыхают в основном через нос. Все это создает серьезные проблемы в методологии и технологии воздействия, которые часто требуют инновационных подходов, включающих изменение и измерение размера частиц ХВ, а также определенных методических подходов к процедурам дозирования.

Другой сложностью являются неадекватно подобранные размеры пеналов-ретрейнеров и их конструкции. Как известно, в остром ингаляционном эксперименте крысы находятся не менее 4 часов. За это время у крысы может возникнуть стресс, поскольку она перегревается и выделяет продукты жизнедеятельности, которые требуется отводить из

ретрейнера. В результате стресса может измениться минутный объем дыхания животного, что повлечет изменение поглощенной дозы ХВ.

Настоящей проблемой является отсутствие методических подходов для работы с новыми камерами, ведь несмотря на то, что существуют хотя и устаревшие, но еще действующие методические указания для оценки острой ингаляционной токсичности, они уже не отвечают современным требованиям и рассчитаны преимущественно для работы с камерами старого образца, которые имеют ряд недостатков. К таким недостаткам относят: неравномерное поступление аэрозоля исследуемого вещества в зону дыхания животного, отсутствие непрерывного контроля за гранулометрическим составом и концентрацией поступающего в камеру вещества, выделение внутрь пеналов-ретрейнеров продуктов жизнедеятельности подопытных животных при их экспозиции, перегрев животных, а также слабую герметичность пеналов и самой установки [10, 11, 12, 13, 14]. Более того, стоит подчеркнуть, что далеко не все современные ингаляционные камеры лишены этих недостатков. Мы попытались сравнить несколько по ключевым параметрам (см. табл. 4).

В данной работе была использована ингаляционная камера современной конструкции по типу «голова-нос» (TSE Systems, Германия). Камера лишена вышеобозначенных недостатков. Так, проблема эффективности, в частности с дозой ХВ, была решена за счет равномерного ламинарного поступления гербицидного аэрозоля из пресепаратора в затравочный блок, а контроль концентрации обеспечивался в режиме реального времени с помощью высокоточного анализатора частиц. Пресепаратор позволял отделить частицы размером более 5 мкм от основного потока аэрозоля. При этом размеры частиц все равно контролировались с помощью каскадного импактора и составляли от 1 до 4 мкм. При экспозиции аэрозолем продукты жизнедеятельности крыс из пеналов-ретрейнеров отводились благодаря их особой конструкции. Проблема безопасности ингаляционной камеры при затравке ХВ была решена с помощью системы отведения отработанной воздушной смеси с 3-ступенчатыми НЕРА-фильтрами, а также благодаря наличию отрицательного давления в самой системе экспонирования.

Таблица 4

Сравнительная характеристика ингаляционных камер

Table 4

Comparative characteristics of inhalation chambers

Параметр	Система ингаляционного воздействия, DSI Вихсо	Система экспонирования («голова-нос»), TSE Systems	Универсальная затравочная камера кафедры гигиены труда Киевского мединститута
Непрерывный контроль за концентрацией аэрозоля	+	+	-
Отвод метаболитов животных	-	+	-
Оценка параметров гранулометрического состава	+	+	-
Конструктивные особенности для защиты исследователя от вдыхания исследуемого ХВ	-	+	-

Все эти факторы благоприятно сказались на результатах эксперимента, а сама процедура экспозиции стала более безопасной. Однако все еще оставалась проблема с методическим подходом.

Считается, что для исследования каждой препаративной формы необходимо подбирать специальные параметры экспозиции. В нашем отделе был разработан оптимальный методический подход, который был использован для исследования водного раствора аэрозоля производного дипиридила.

Исследования водного раствора наиболее показательны для демонстрации работы системы, так как четко прослеживалась зависимость между заданными параметрами и полученными результатами. Так, поток чистого воздуха Flow Air влиял на концентрацию, уменьшая и стабилизируя ее (см. табл. 1 и рис. 3), в то время как поток Flow Appl уменьшал средний аэродинамический диаметр частиц (MMAD) (см. табл. 2 и рис. 2). Кроме того, если свойства исследуемого ХВ таковы, что во время затравки ХВ кристаллизуется в

пресепараторе, препятствуя проникновению аэрозоля к тест-системам, возможно провести корректировку потоков воздуха в режиме реального времени, чтобы нивелировать вышеуказанный эффект.

Также для достижения целевых концентраций необходимо было учитывать, что увеличение концентрации водных растворов аэрозолей повышает влажность внутри затравочного блока. Поэтому при исследовании низких концентраций для достижения установленной влажности внутри системы необходимо растворять ХВ в дистиллированной воде.

Таким образом, для корректного проведения исследования, согласно разработанному методическому подходу, следует начинать эксперимент с калибровки анализаторов концентрации, с последующим подбором скоростей воздушных потоков и дозирования химических веществ, а также контролем влажности и температуры внутри экспозиционного блока.

Использование оптимального методического подхода для оценки ингаляционной токсичности производного дипиридила в остром эксперименте позволило уберечь крыс от стресса и перегревания в процессе четырехчасового экспонирования, а также подобрать 3 режима дозирования химического вещества – $2018 \pm 4,28$, $806 \pm 0,65$ и $510 \pm 0,50$ мг/м³ для достижения нелетальной, полулетальной и летальной концентраций.

Перспективность нового методического подхода заключается в расширении области его применения относительно исследований фармацевтических препаратов, бытовой, лакокрасочной и парфюмерно-косметической продукции [24].

Заключение. Наше исследование показало, что аэрозольная камерная установка по типу «голова-нос» производства TSE Systems для экспонирования лабораторных животных практически лишена недостатков, характерных для других систем. Разработанный при работе на ней методический подход позволил оценить санитарно-токсикологические параметры в остром эксперименте по нормированию производного дипиридила в воздухе рабочей зоны.

Список литературы:

1. Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30.03.1999 №52-ФЗ (последняя редакция). Доступ из справ.-правовой системы Гарант. Текст: электронный (дата обращения: 01.03.2022).
2. Pesticide toxicology. Evaluating safety and risk. Edited by Arlene Blessing, Purdue Pesticide Programs. Purdue university cooperative extension service; 2016. URL: <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/PPP/PPP-40.pdf> (дата обращения: 31.01.2022).
3. Мухачев С.Г., Санчугова А.А., Сафандеев В.В. Экологические проблемы на примере строительства объектов Универсиады-2013. Механизмы обеспечения экологической безопасности: российский и зарубежный опыт: Материалы Международной научно-практической конференции. Казань: Познание; 2013; 94-97.

4. Сафандеев В.В., Колачева А.А., Угрюмов М.В. Оценка метаболизма катехоламинов в периферических органах как показатель их десимпатизации под влиянием нейротоксинов. Доклады Академии наук: Российская академия наук. 2019; 486(1): 118-122. DOI: 10.31857/S0869-56524861118-122.
5. Сафандеев В.В., Угрюмов М.В. Новый подход к оценке степени деградации нигростриатной дофаминергической системы на экспериментальной модели болезни Паркинсона. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова: ООО «ИКЦ «Академкнига». 2019; 69(3): 382-392. DOI: 10.1134/S0044467719030122.
6. МУ. Руководство Р 1.2.3156-13. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека. 2014; 639.
7. Сафандеев В.В. Экологическое воспитание дошкольников: Учебно-методическое пособие: МАСКА. 2015; 250. ISBN 978-5-9906617-2-1.
8. Максимов Г.Г. Промышленная токсикология: учебное пособие для вузов. 2021; 182.
9. Choudri B.S., Charabi Y. Pesticides and herbicides. 2019; 91: 1342-1349. DOI: 10.1002/wer.1227.
10. Прикладная токсикология. 1. 2012;368.
11. Phillips J.E., Zhang Xuxia, Johnston J.A. Dry Powder and Nebulized Aerosol Inhalation of Pharmaceuticals Delivered to Mice Using a Nose-only Exposure System. Journal of Visualized Experiments. 2017; 122:10. DOI:10.3791/55454.
12. Jang Y. Towards a strategic approaches in alternative tests for pesticide safety. Toxicology Research. 2014; 30: 159-68. DOI: 10.5487/TR.2014.30.3.159.
13. Лаборатория прикладной токсикологии и фармакологии. Toxicology.ru URL: http://www.toxicology.ru/razdels/labs_2.phtml (дата обращения: 20.04.2022).
14. Гене Ш.Г., Латука Ф.А. Камера для ингаляционной затравки лабораторных животных жидкими аэрозолями. Патент СССР 1219338/30-15. 14.11.1968.
15. Северо-западный научный центр гигиены и общественного здоровья. S-znc.ru URL: <https://s-znc.ru/uslugi/isyatatelnyj-laboratornyj-centr/vidy-provodimyx-issledovanij/> (дата обращения: 20.04.2022).
16. ФМБЦ имени А.И. Бурназяна ФМБА России. URL: <https://fmbafmbc.ru/scientific-activities/research-unit/department-of-hygiene-toxicology-occupational-pathology-and-display-when-working-with-components-of-/laboratory-of-industrial-toxicology/> (дата обращения: 20.04.2022).
17. ГОСТ 33216-2014. Межгосударственный стандарт. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Доступ из справ.-правовой системы Гарант. Текст: электронный. (дата обращения: 01.03.2022).
18. Сафандеев В.В., Лопатина М.В. Влияние ограниченного и неограниченного употребления корма на массу линейных и нелинейных животных. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2019; 7: 71-75. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201907011.
19. ГОСТ 33044-2014. Межгосударственный стандарт. Принципы надлежащей лабораторной практики. Доступ из справ.-правовой системы Гарант. Текст: электронный. (дата обращения: 01.03.2022).

20. Vera Barrantes. Национальные регистры и перечни химических веществ: преимущества и подходы к созданию. Европейское региональное бюро ВОЗ. 2018; 96.
21. Directive 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the protection of animals used for scientific purposes, of 22 September 2010. URL: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF> (дата обращения: 30.01.2022).
22. OECD series on principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring, № 1, ENV/MC/CHEM (98)17. «Principles on Good Laboratory Practice». URL: [https://one.oecd.org/document/ENV/MC/CHEM\(98\)17/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/MC/CHEM(98)17/en/pdf) (дата обращения: 30.01.2022).
23. OECD (2009), Test № 436: Acute Inhalation Toxicity – Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. URL: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264076037-en.pdf?expires=1643612894&id=id&accname=guest&checksum=ED5DE61CED205C6DAC6A956C2A36F6E1> (дата обращения: 30.01.2022).
24. Краснюк И.И. и др. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм. 2021; 656.

References:

1. Federal Law «On the sanitary and epidemiological well-being of the population» dated March 30, 1999 №52-FZ (latest edition). Access from the legal system Garant. Text: electronic. (date of access: 03/01/2022)
2. Pesticide toxicity. Evaluating safety and risk. Edited by Arlene Blessing, Purdue Pesticide Programs. Purdue university cooperative extension service; 2016. URL: <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/PPP/PPP-40.pdf> (date of access: 01/31/2022).
3. Mukhachev S.G., Sanchugova A.A., Safandeev V.V. Environmental problems on the example of the construction of Universiade-2013 facilities. Mechanisms for ensuring environmental safety: Russian and foreign experience: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Kazan: Cognition. 2013; 94-97.
4. Safandeev V.V., Kolacheva A.A., Ugryumov M.V. J. Surf. Estimation of metabolism of catecholamines in peripheral organs as an indicator of their desympathization under the influence of neurotoxins. Reports of the Academy of Sciences: The Russian Academy of Sciences. 2019; 486 (1): 118-122. DOI: 10.31857/S0869-56524861118-122.
5. Safandeev V.V., Ugryumov M.V. A new approach to assessing the degree of degradation of the nigrostriatal dopaminergic system in an experimental model of Parkinson's disease. Journal of Higher Nervous Activity. I.P. Pavlova: LLC «ECC» Akademykniga». 2019; 69 (3): 382-392. DOI: 10.1134/S0044467719030122.
6. MU. Guideline R 1.2.3156-13. Evaluation of toxicity and danger of chemicals and their mixtures for human health. Moscow publishing house «Federal Center for Hygiene and Epidemiology»; 2014; 639.

7. Safandeev V.V. Ecological education of preschoolers: Educational and methodological manual: MASK. 2015; 250. ISBN 978-5-9906617-2-1.
8. Maksimov G.G. Industrial toxicology: textbook for universities. 2021; 182.
9. Choudry B.S., Charabi Y. Pesticides and herbicides. 2019; 91: 1342–1349. DOI: 10.1002/wer.1227.
10. Applied toxicology. 1. 2012; 368.
11. Phillips J.E., Zhang Xuxia, Johnston J.A. Dry Powder and Nebulized Aerosol Inhalation of Pharmaceuticals Delivered to Mice Using a Nose-only Exposure System. Journal of Visualized Experiments. 2017; 122:10. DOI: 10.3791/55454.
12. Jang Y. Towards a strategic approach in alternative tests for pesticide safety. Toxicology Research. 2014; 30: 159-68. DOI: 10.5487/TR.2014.30.3.159.
13. Laboratory of Applied Toxicology and Pharmacology. Toxicology.ru URL: http://www.toxicology.ru/razdels/labs_2.phtml (date of access: 20.04.2022).
14. Gene Sh.G., Latuka F.A. Chamber for inhalation seeding of laboratory animals with liquid aerosols. USSR patent 1219338/30-15. 11/14/1968.
15. Northwestern Scientific Center for Hygiene and Public Health. S-znc.ru URL: <https://s-znc.ru/uslugi/ispitatelnyj-laboratornyj-centr/vidy-provodimykh-issledovanij/> (date of access: 20.04.2022).
16. FMBC named after A.I. Burnazyan FMBA of Russia. URL: <https://fmbafmbc.ru/scientific-activities/research-unit/department-of-hygiene-toxicology-occupational-pathology-and-display-when-working-with-components-of-laboratory-of-industrial-toxicology/> (date of access: 04/20/2022).
17. GOST 33216-2014. Interstate standard. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. Access from the legal system Garant. Text: electronic. (date of access: 03/01/2022).
18. Safandeev V.V., Lopatina M.V. Influence of limited and unrestricted food intake on the mass of linear and non-linear animals. Veterinary science, zootechnics and biotechnology. 2019; 7: 71-75. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201907011.
19. GOST 33044-2014. Interstate standard. Principles of Good Laboratory Practice. Access from sprav.-legal system Garant. Text: electronic. (date of access: 03/01/2022).
20. Vera Barrantes, et al. National registers and lists of chemicals: advantages and approaches to creation. WHO Regional Office for Europe, 2018; 96.
21. Directive 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the protection of animals used for scientific purposes, of 22 September 2010. URL: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF> (date of access: 01/30/2022).
22. OECD series on principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring, Number 1, ENV/MC/CHEM (98)17. «Principles on Good Laboratory Practice». URL: [https://one.oecd.org/document/ENV/MC/CHEM\(98\)17/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/MC/CHEM(98)17/en/pdf) (date of access: 30.01.2022).
23. OECD (2009), Test №436: Acute Inhalation Toxicity – Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, URL: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264076037-en.pdf?expires>

=1643612894&id=id&accname=guest&checksum=ED5DE61CED205C6DAC6A956C2A36F6E1
(date of access: 01/30/2022).

24. Krasnyuk I.I., et al. Pharmaceutical technology. Technology of dosage forms. 2021; 656.

Поступила/Received: 11.05.2022

Принята в печать/Accepted: 19.05.2022