

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
РЕСПУБЛИКАНСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ  
«НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ»

УДК 615.9:[577.175.1.08:631.811.98]:613.26

**ВЛАСЕНКО**  
**Евгений Константинович**

**ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ  
ГЕКСИЛОВОГО ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
И ОБОСНОВАНИЕ РЕГЛАМЕНТОВ ЕГО БЕЗОПАСНОГО  
ПРОИЗВОДСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

по специальности 14.03.04 – токсикология

Минск, 2017

Работа выполнена в республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены»

**Научный руководитель:** **Сычик Сергей Иванович,**  
кандидат медицинских наук, доцент,  
директор республиканского унитарного  
предприятия «Научно-практический центр  
гигиены»

**Официальные оппоненты:** **Шевляков Виталий Васильевич,**  
доктор медицинских наук, профессор,  
профессор кафедры юридической психологии  
учреждения образования «Минский  
инновационный университет»

**Курченко Владимир Петрович,**  
кандидат биологических наук, доцент,  
заведующий научно-исследовательской  
лабораторией прикладных проблем биологии  
Белорусского государственного университета

**Оппонирующая организация:** Учреждение образования «Гродненский  
государственный медицинский университет»

Защита состоится «20» апреля 2017 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.01.01 при республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены» по адресу: 220012, г. Минск, ул. Академическая, д. 8, e-mail: [rspch@rspch.by](mailto:rspch@rspch.by), факс: (017) 284-03-45, телефон ученого секретаря: (017) 284-13-79.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены».

Автореферат разослан «\_\_\_» марта 2017 года.

Ученый секретарь  
совета по защите диссертаций  
кандидат биологических наук

Т. Д. Гриценко

## **ВВЕДЕНИЕ**

Перспективным направлением интенсификации сельскохозяйственного производства является применение регуляторов роста растений, которые дополняют эффективность использования удобрений и пестицидов. Регуляторами роста являются физиологически активные вещества природного или синтетического происхождения, которые путем воздействия на интенсивность и направленность процессов морфогенеза растений способствуют увеличению продуктивности растениеводства [Н. Н. Мельников, 1995; В. Н. Ракитский, 2013].

Развивая это направление, в Институте биоорганической химии НАН Беларуси создан новый регулятор роста растений на основе гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК) [И. В. Тростянка, 2009], который оказывает эффективное стимулирующее действие на рост и развитие ряда сельскохозяйственных культур, а также повышает устойчивость растений к неблагоприятным условиям культивирования [Е. Б. Яронская, 2011, Е. Л. Недведь, 2012].

Для обеспечения безопасного опытно-промышленного синтеза и применения нового препарата необходимо осуществление его полной токсикологической оценки с обоснованием необходимых регламентов содержания в объектах среды обитания человека. Новизной и отличительной особенностью ГЭ-АЛК от других форм и групп зарегистрированных в государственном реестре средств защиты растений является его принадлежность к химическому классу малоизученных сложных эфиров аминокислот, что требует актуализации не только практической методологии медико-биологических исследований, но и разработки ряда теоретических вопросов, поскольку сведения о биологических свойствах изучаемого соединения в научной литературе представлены эпизодично и крайне недостаточно.

Вышеизложенное свидетельствует об актуальности комплексных токсикологических исследований по оценке степени токсичности и опасности ГЭ-АЛК, установлению токсикодинамики и возможных механизмов вредного действия препарата на организм, обоснованию лимитирующих показателей вредности с целью разработки регламентов его безопасного обращения в объектах среды обитания и в сельскохозяйственной продукции.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Связь работы с крупными научными программами.** Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Токсикологическая характеристика гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты и средства защиты растений на его основе с обоснованием гигиенических нормативов в пищевых продуктах, питьевой воде и объектах окружающей среды» ГП «Инновационные биотехнологии» (№ гос. регистрации 20132512, 2013–2015 гг.).

**Цель работы** – установить особенности и механизмы биологического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты на экспериментальных моделях *in vivo/in vitro* и научно обосновать комплекс регламентов, обеспечивающих его безопасное производство и применение.

**Задачи исследования:**

1. Определить параметры острой токсичности ГЭ-АЛК при различных путях поступления в организм экспериментальных животных, установить местное раздражающее, кумулятивное и кожно-резорбтивное действие.

2. Выявить потенциальную способность ГЭ-АЛК к индукции отдаленных токсических эффектов в опытах *in vivo/in vitro*, определить мембранотропные и цитотоксические свойства, влияние на состояние монооксигеназной системы печени.

3. Установить в хроническом эксперименте при внутрижелудочном введении дозозависимые эффекты токсического действия ГЭ-АЛК на организм лабораторных животных, определить лимитирующие показатели вредного действия и обосновать регламенты его безопасного содержания в объектах среды обитания и продовольственном сырье.

**Объекты исследования:** ГЭ-АЛК, лабораторные животные разных видов, культуры клеток лимфоцитов, эмбриональных фибробластов и аденокарциномы легкого человека, тест-микроорганизмы *Salmonella typhimurium*, субклеточные структуры (мембраны эритроцитов и эндоплазматического ретикулула печени крыс).

**Предмет исследования:** биологические эффекты действия ГЭ-АЛК на клетки, субклеточные структуры и организм лабораторных животных.

**Научная новизна** состоит в том, что впервые:

– дана полная токсикологическая оценка нового регулятора роста растений ГЭ-АЛК при различных режимах, дозах и путях поступления в организм лабораторных животных, позволившая установить параметры его токсикометрии, особенности биологического действия, проявляющиеся кожно-резорбтивными, кумулятивными и раздражающими слизистые оболочки свойствами, умеренной репродуктивной токсичностью без существенных признаков гонадотропного, мутагенного и аллергенного действия на организм;

– установлены ведущие механизмы токсического действия ГЭ-АЛК на организм, опосредованные мембранотропными и цитотоксическими эффектами;

– определены в хроническом эксперименте критерии и лимитирующие показатели вредного действия ГЭ-АЛК, на основании которых разработаны допустимая суточная доза (ДСД) для человека и ряд регламентов содержания препарата в объектах окружающей среды (воздух рабочей зоны и атмосферы, вода, почва), продовольственном сырье и пищевых продуктах (зерно хлебных злаков и рапса, рапсовое и льняное масло).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Новый регулятор роста растений гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты относится к умеренно опасным химическим веществам при внутрижелудочном введении, обладает выраженными кожно-резорбтивными и кумулятивными свойствами, характеризуется умеренной репродуктивной токсичностью, не проявляет существенного мутагенного, сенсибилизирующего, эмбриотропного и тератогенного действия на организм.

2. Ведущими механизмами токсического действия ГЭ-АЛК на организм являются мембранотропные и цитотоксические эффекты, проявляющиеся снижением микровязкости мембраны клетки и уменьшением погруженности белковых молекул в липидный бислой, дестабилизацией состояния мембрано-связанных ферментов и повреждением клеточных мембран, сопровождающиеся характерными накоплением цитохрома P420 в печени и гиперферментемией у подопытных животных.

3. Установленные в хроническом эксперименте дозозависимые эффекты токсического действия ГЭ-АЛК позволили обосновать допустимую суточную дозу для человека и разработать регламенты содержания в среде обитания и продовольственном сырье, обеспечивающие безопасное производство и применение препарата.

**Личный вклад соискателя.** Соискателем самостоятельно проанализирована научная литература по теме диссертационной работы и получены научные результаты, составляющие основу диссертационной работы. Лично проведен анализ, графическая и статистическая обработка полученных данных, подготовлены публикации основных результатов исследований. Выбор темы исследования, постановка цели и задач, планирование экспериментов, теоретическое обсуждение их результатов осуществлялось совместно с научным руководителем. Научные разработки и их внедрение осуществлены автором совместно с коллективом сотрудников республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены». Соавторы совместных исследований указаны в диссертации и публикациях.

**Апробация результатов диссертации.** Основные положения диссертационной работы обсуждены на международной научно-практической конференции «Современные проблемы гигиенической науки и практики, перспективы развития» (Минск, 2014), 14-й и 16-й международных научных конференциях «Сахаровские чтения 2014 (2016) года: экологические проблемы XXI века» (Минск, 2014, 2016), научно-практических конференциях с международным участием «Здоровье и окружающая среда» (Минск, 2014, 2015), республиканской научно-практической конференции, посвященной 50-летию медико-профилактического факультета Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2015), международной практической конференции «Нейрофизиология боли в эксперименте и клинике» (Минск, 2015), международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биотехнологии в

аграрно-промышленном комплексе» (Минск, 2015), 70-й международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации - 2016» (Минск, 2016).

**Опубликованность результатов диссертации.** По теме диссертации опубликованы 22 печатные работы (10 статей в научных журналах, 12 – в сборниках научных трудов и материалах конференций). Общее количество страниц опубликованных материалов 11 авторских листов, из них 6,9 – объем публикаций, соответствующий пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь. Разработаны регламенты в форме 9 гигиенических нормативов, утвержденных и введенных в действие постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы по теме, описания материалов и методов исследования, 3 глав полученных результатов и их обсуждения, заключения, списка литературы и приложений. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста (включая 11 иллюстраций, 52 таблицы, 3 приложения и список литературы – на 53 стр.). Библиографический список включает 194 наименования (96 источников на русском, 76 – на иностранных языках, 22 – публикации соискателя).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В главе 1** представлен аналитический обзор отечественных и зарубежных публикаций по особенностям биологического действия на организм теплокровных животных и человека ряда регуляторов роста растений и методическим аспектам их токсикологической оценки. Показана недостаточность в доступной литературе сведений о токсичности и опасности, в целом о биологических свойствах нового отечественного регулятора роста растений, на основании чего аргументирована актуальность собственного направления токсикологических исследований ГЭ-АЛК, сформулированного в цели и задачах диссертационной работы.

### **Глава 2 «Объекты и методы исследований».**

Гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты (гексиламинолевулинат, гексиловый эфир 5-амино-4-оксопентановой кислоты) гидрохлорид, эмпирическая формула  $C_{11}H_{22}ClNO_3$ , молярная масса 251,75 г/моль, регистрационный № CAS: 140898-91-5. Относится к сложным эфирам аминокислот, представляет собой кристаллический порошок со слабым характерным запахом, температурами плавления 96–98 °С и кипения 313 °С, хорошо растворим в воде, ограниченно растворим в диметилсульфоксиде, хлороформе, низших спиртах.

Экспериментальные исследования проведены на белых мышах, крысах и кроликах, руководствуясь Инструкцией № 1.1.11-12-210-2003 «Токсикологическая гигиеническая оценка регуляторов роста растений» (Минск, 2004), Instruc-

цией № 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» (Минск, 2004) и другими методическими документами.

При проведении токсикологических исследований моделировали острые, подострые и хронические формы отравлений. В острых опытах параметры токсикометрии ГЭ-АЛК определяли при внутрижелудочном, эпикутанном, ингаляционном путях поступления в организм с последующим расчетом среднесмертельных доз методом пробит-анализа (М. Л. Беленький, 1959).

Способность к кумуляции в подострых опытах при повторном внутрижелудочном введении определяли по методам R. K. Lim (1961) и Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича (1964). Характер кожно-резорбтивного действия устанавливали при повторных аппликациях 50 %, 25 % и 5 % водных растворов препарата на кожу белых крыс в 30-дневных опытах. Хронический эксперимент проведен на белых крысах, которым внутрижелудочно на протяжении 6 месяцев вводили ГЭ-АЛК в дозах 110, 30 и 11 мг/кг.

Для оценки токсического действия использовали комплекс методов и методик с изучением морфофункциональных показателей организма (таблица 1).

Таблица 1. – Методы исследования токсических свойств ГЭ-АЛК

Методы	Показатели
Токсикологические	Острая токсичность, раздражающее, ирритативное, кожно-резорбтивное, кумулятивное и сенсибилизирующее действие, репродуктивная токсичность (гонадотоксичность, тератогенность, постнатальное развитие потомства), хроническое токсическое действие, точковые мутации в тесте Эймса (генотоксические свойства).
Физиологические	Масса тела, суммационно-пороговый показатель (СПП), показатели поведения в тесте «открытое поле».
Гематологические	Лейкоциты, лимфоциты, моноциты, гранулоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, тромбоциты, средний объем тромбоцита, рН, рСО <sub>2</sub> , рО <sub>2</sub> , карбоксигемоглобин, оксигемоглобин, буферная бикарбонатная емкость.
Биохимические	Общий белок, альбумин, мочевины, АЛТ, АСТ, холестерин, ЛПВП, ЛПНП, билирубин общий, триглицериды, креатинин, мочевины, α-амилаза, щелочная фосфатаза, глюкоза, магний, фосфор, железо, кальций, ЛДГ, ГГТ, холинэстераза, цитохромы Р450 (K <sub>m</sub> , V <sub>max</sub> ) и Р420, активность Р450-редуктазы.
Иммунологические	Сенсибилизирующая способность в тесте опухания лапы мыши, компоненты комплемента С3, С4, иммуноглобулины А, G, М.
Цитогенетические	Хромосомные aberrации на лимфоцитах человека (мутагенные свойства).
Цитологические	Количество клеток культур эмбриональных фибробластов человека и аденокарциномы А-549 (цитотоксические свойства).
Биофизические	Параметры флуоресценции зонда пирена.
Морфологические	Макроскопическое и микроскопическое исследование внутренних органов (легкие, сердце, печень, селезенка, почки) с морфометрией кожи, желудка и надпочечников.

Контроль морфофункционального состава периферической крови производили с помощью гематологического анализатора Mythic 18 (Швейцария), показатели кислотно-основного состояния крови регистрировали на анализаторе ABL 800 FLEX (Дания), биохимические показатели мочи и сыворотки крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Ascent 200 (Польша).

Влияние ГЭ-АЛК на репродуктивную функцию белых крыс изучали по методу А. А. Динерман (1980), который заключается в постановке эксперимента по выявлению эмбриотоксического и тератогенного действия с учетом состояния потомства в постнатальном периоде. Опыты проведены при однократном внутрижелудочном введении препарата в дозе 3900 мг/кг (1/2 DL<sub>50</sub>) самкам белых крыс в периоды интенсивного органогенеза на 1, 4 и 9 дни беременности и при многократном воздействии на протяжении всего периода беременности в дозе 195 мг/кг (1/40 DL<sub>50</sub>). Учитывали количество живых и мертвых эмбрионов, число желтых тел, регистрировали аномалии развития внутренних органов эмбрионов, длину и массу крысят до 60-дневного возраста.

Изучение гонадотропного действия проводили на самцах белых крыс, которым на протяжении 30 дней вводили препарат в дозах, кратных 1/20 и 1/80 DL<sub>50</sub>, с определением морфофункционального состояния семенников и сперматозоидов.

Для оценки мутагенной активности использовали тест Эймса с метаболической активацией (В. N. Ames, 1975) и цитогенетический метод хромосомных aberrаций на лимфоцитах периферической крови человека (P. S. Moorhead, 1960). Цитотоксические свойства ГЭ-АЛК изучали с использованием перевиваемых культур эмбриональных фибробластов человека (ЭФЧ) и аденокарциномы легкого человека А-549, культивируемых по методике L. Hayflick, P. S. Moorhead (1961).

Для оценки состояния детоксикационной монооксигеназной системы использовали микросомальную фракцию печени белых крыс (Т. А. van der Hoeven, М. J. Coon, 1974), в которой определяли содержание цитохромов P450 и P420 (Т. Omura, 1964), активность P450-редуктазы (J. L. Vermilion, М. J. Coon 1978), кинетические параметры (K<sub>m</sub>, V<sub>max</sub>) реакций окисления 7-этоксикумарина (А. Aitio, 1978) и 7-этоксирезорруфина (М. D. Burke, 1983).

Изучение структурно-функциональных свойств мембран проводили с применением флуоресцентного зонда пирена, вносимого в суспензию теней эритроцитов белых крыс при воздействии ГЭ-АЛК в опытах *in vivo* и *in vitro* (Г. Е. Добрецов, 1980).

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами параметрического (t-критерий Стьюдента с учетом поправки Бонферрони) и непараметрического анализа (U-критерий Манна-Уитни). Различия между контрольными и опытными группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .



**Глава 3 «Токсическое действие гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при однократном и повторном воздействии».** При однократном внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК белым мышам и крысам обоего пола установлены основные количественные параметры токсичности ( $DL_{16}$ ,  $DL_{50}$ ,  $DL_{84}$ ) и опасности (S, R), которые не имеют видовых (коэффициент видовой чувствительности – 2,6) и половых различий и позволяют отнести препарат к умеренно опасным соединениям (таблица 2).

Таблица 2. – Параметры токсичности и потенциальной опасности острого отравления ГЭ-АЛК

Вид животных	Величины летальных доз, мг/кг			Показатели потенциальной опасности острого отравления	
	$DL_{16}$	$DL_{50}$	$DL_{84}$	S	R
Мыши самцы	2540	3000 (2630÷3420)	3540	1,18 (0,99÷1,4)	1,39
Мыши самки	2470	3170 (2710÷3710)	3900	1,26 (1,13÷1,41)	1,58
Крысы самцы	6350	8800 (6560÷11800)	12500	1,41 (0,97÷2,0)	1,97
Крысы самки	4800	7800 (5740÷10600)	12600	1,62 (1,12÷2,35)	2,63

Примечания

1.  $DL_{16}$ ,  $DL_{50}$ ,  $DL_{84}$  – дозы, вызывающие 16%, 50%, 84% летальных исходов.
2. S – функция угла наклона прямой "доза-эффект".
3. R – размах летальных доз.

Порог острого действия  $Lim_{ac}$  ГЭ-АЛК по изменению поведенческой активности белых мышей составлял 73 мг/кг, зона острого действия  $Z_{ac}$ , равная 41, также характеризует ГЭ-АЛК как умеренно опасное соединение.

В условиях моделирования острого ингаляционного отравления при максимально достижимой концентрации ГЭ-АЛК признаки интоксикации и гибель белых мышей отсутствовали, как и при однократном нанесении 50 % раствора на кожу белых крыс в дозе 800 мг/кг. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии опасности острых отравлений при указанных путях воздействия.

При однократной инстилляции 50 мкл 50 % раствора ГЭ-АЛК в нижний конъюнктивальный свод правого глаза кроликов наблюдали обильное слезотечение, умеренное покраснение сосудов конъюнктивы, отек век и блефароспазм, что позволяет отнести его к веществам с выраженным раздражающим действием (3 класс). Признаки раздражающего действия препарата при однократном контакте с неповрежденными кожными покровами белых крыс отсутствовали.

Сенсибилизирующая способность ГЭ-АЛК, изученная в опытах на белых мышях на модели воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа, не выявлена.

При изучении кумулятивных свойств препарата по методу Lim et al. на белых мышях коэффициент кумуляции составил 6,1, что свидетельствует о

развитии процессов адаптации организма к введению нарастающих количеств изучаемого соединения.

При внутрижелудочном введении самцам белых крыс ГЭ-АЛК в течение 30 суток по методу Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича наличие смертельных эффектов на уровне  $1/5 DL_{50}$  позволило рассчитать коэффициент кумуляции, равный 1,6, который характеризует препарат как высококумулятивное соединение (Л. И. Медведь, 1968). Характер изменений клинико-биохимических, физиологических и морфологических показателей при многократном воздействии ГЭ-АЛК в дозах  $1/10$ ,  $1/20$  и  $1/80 DL_{50}$  носит дозовую зависимость и указывает на возможность развития хронической интоксикации.

Наиболее выраженные изменения зарегистрированы при внутрижелудочном введении белым крысам ГЭ-АЛК в течение 30 суток в дозе 880 мг/кг ( $1/10 DL_{50}$ ) в виде статистически значимых сдвигов поведенческой активности, увеличения суммационно-порогового показателя (СПП) на 78 % и относительных коэффициентов массы (ОКМ) внутренних органов – печени, сердца, легких, селезенки, почек и надпочечников. Со стороны гематологических показателей выявлено достоверное по сравнению с контролем снижение концентрации гемоглобина на 13 % и оксигемоглобина на 14 %, количества эритроцитов на 15 %, гематокрита на 12 %. О нарушении кислотно-основного состояния крови свидетельствует достоверное по сравнению с контролем снижение парциального давления кислорода на 24 %, увеличение парциального давления углекислого газа на 14 % и бикарбонатной емкости крови на 13 %. В сыворотке крови белых крыс обнаружено повышение уровня активности гамма-глутамил-транспептидазы (ГГТ) в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ), увеличение содержания общего билирубина в 2,0 раза ( $p < 0,05$ ), компонента комплемента С3 в 1,5 раза и иммуноглобулина G – на 28 % ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю. Наличие гиперферментемий, патофизиологической основой которых является повреждение мембран гепатоцитов, указывает на мембраноповреждающее действие соединения.

Изменения клинико-биохимических показателей при указанной дозе сопровождались дистрофически-некротическими изменениями гепатоцитов, мезангиально-пролиферативным гломерулонефритом и дистрофией эпителия проксимальных канальцев, глыбчатым распадом и очаговым некрозом кардиомиоцитов, гиперпластическими процессами в слизистой желудка и надпочечников.

При субхроническом внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК в дозе 440 мг/кг ( $1/20 DL_{50}$ ) у подопытных крыс наблюдали изменения двигательной активности и увеличение СПП на 60 % ( $p < 0,05$ ). По окончании эксперимента у подопытных животных зарегистрировано увеличение ОКМ сердца, почек и надпочечников ( $p < 0,05$ ), снижение в периферической крови концентрации гемоглобина на 9 % и повышение уровня общего билирубина в 1,6 раза по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Характер выявленных патоморфологических

изменений идентичен таковым при воздействии дозы 880 мг/кг, но менее выражен.

При снижении вводимой дозы ГЭ-АЛК до 110 мг/кг (1/80 DL<sub>50</sub>) выявлено лишь увеличение содержания в сыворотке крови белых крыс общего билирубина в 1,3 раза по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ), при этом морфометрически зарегистрирована гиперплазия слизистой оболочки желудка.

Таким образом, в субхронических опытах установлена максимально переносимая доза 440 мг/кг (1/20 DL<sub>50</sub>) ГЭ-АЛК, которая не приводила к гибели экспериментальных животных, а токсическое действие проявлялось нарушением функционального состояния нервной системы, изменениями морфологической структуры ряда внутренних органов и их ОКМ. Менее выраженные изменения клинико-биохимических показателей интоксикации оказались при воздействии ГЭ-АЛК в дозе 110 мг/кг (1/80 DL<sub>50</sub>), что определило ее в качестве максимальной при проведении хронического эксперимента [5].

Изучение кожно-резорбтивных свойств ГЭ-АЛК в виде 50 % раствора (864 мг/кг) в условиях 30-кратных аппликаций на кожу спины белых крыс не выявило внешних признаков интоксикации и гибели животных. Однако у животных наблюдалось повышение ферментативной активности АЛТ на 21,6 % ( $p < 0,05$ ) и увеличение содержания мочевины на 22 % ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови, снижение рН мочи до 6,0 ( $p < 0,05$ ) по отношению к таковым в контрольной группе. Изучение морфологической структуры внутренних органов выявило дистрофически-некротические изменения гепатоцитов, дистрофию эпителия проксимальных канальцев почек и мезангиально-пролиферативный гломерулонефрит.

Эпикутанное воздействие 25 % раствора ГЭ-АЛК в дозе 341 мг/кг приводило к увеличению активности АЛТ в сыворотке крови белых крыс на 29,6 % ( $p < 0,05$ ) и к дистрофическим изменениям гепатоцитов и эпителия проксимальных канальцев почек. При снижении уровня воздействия ГЭ-АЛК до 75 мг/кг (5 % раствор) изменения биохимических показателей не выявлены, но морфологически у крыс зарегистрирована зернистая дистрофия гепатоцитов.

При морфологических и морфометрических исследованиях кожных покровов белых крыс по окончании аппликаций 50 % раствора ГЭ-АЛК установлены явления реактивной гиперплазии многослойного плоского эпителия с гиперкератозом, выраженный отек дермы (увеличение толщины эпидермиса и дермы в 1,8 раза, эпидермиса – в 2,1 раза,  $p < 0,05$ ) и атрофия сальных желез. При воздействии препарата в виде 25 % и 5 % растворов степень отека кожи снизилась, однако различия с контролем оставались статистически значимыми.

**Глава 4 «Отдаленные эффекты и механизм токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в опытах *in vivo/in vitro*».**

Проведение регламентации нового регулятора роста растений требует определения его влияния на репродуктивную функцию и изучение мутагенного действия.

Однократное внутрижелудочное введение препарата самкам белых крыс в дозе  $1/2 DL_{50}$  (3900 мг/кг) в периоды интенсивного органогенеза вызывало клинические проявления интоксикации, однако гибели эмбрионов и признаков тератогенного действия не обнаружено. Для процессов постнатального развития наиболее критичным оказалось воздействие препарата на 9-й день беременности, о чем свидетельствует отставание физического развития крысят на 13 % по массе и на 5 % по длине тела ( $p < 0,05$ ). Полученные данные указывают на умеренную репродуктивную токсичность ГЭ-АЛК. При многократном воздействии в течение всей беременности в дозе, кратной  $1/40 DL_{50}$  (195 мг/кг), изучаемое соединение не проявляет эмбриотропного и тератогенного действия, не оказывает отрицательного влияния на постнатальное развитие потомства.

В условиях субхронического внутрижелудочного введения самцам белых крыс в дозе 440 мг/кг ( $1/20 DL_{50}$ ) ГЭ-АЛК проявляет слабое гонадотоксическое действие по морфофункциональным показателям гонад, что выразилось увеличением ОКМ семенников на 12 % ( $p < 0,05$ ) и снижением времени движения сперматозоидов в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю. При снижении вводимой дозы до 110 мг/кг указанные изменения отсутствовали.

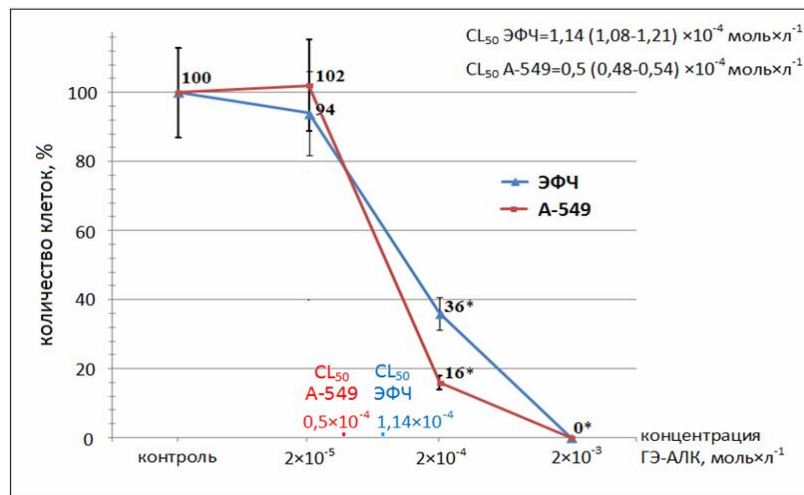
Таким образом, эмбриотропный и гонадотропный эффекты воздействия зарегистрированы только на фоне поступления массивных доз препарата, приводящих к интоксикации родительских организмов, что позволяет рассматривать изменения в показателях репродуктивной системы как признаки проявления общетоксического действия ГЭ-АЛК [4].

Потенциальной мутагенной активности ГЭ-АЛК в концентрациях 1 и 10 мкг/мл в тесте Эймса на штамме *S. typhimurium TA 100* в условиях с метаболической активацией и без нее не установлено, как и в цитогенетическом тесте на периферических лимфоцитах человека *in vitro* при воздействии в дозах 0,05, 0,1 и 0,25 мг/мл [15].

Для выявления механизма токсического действия ГЭ-АЛК изучено состояние детоксикационной монооксигеназной системы печени белых крыс при субхроническом внутрижелудочном введении дозы 440 мг/кг. Установлено достоверное увеличение удельного содержания цитохрома P450 в 1,4 раза и увеличение удельной активности P450-редуктазы в 1,5 раза, при этом максимальная скорость  $V_{max}$  и константа Михаэлиса-Ментен  $K_m$  реакций окисления 7-этоксикумарина и 7-этоксирезорурфина не отличались от контроля. Следует отметить повышение у подопытных животных уровня удельного содержания цитохрома P420 в 3,0 раза по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), что может указывать на способность изучаемого препарата дестабилизировать мембраны эндоплазматического ретикулума [7].

Наиболее удобной моделью для изучения механизмов прямого воздействия химического соединения на клеточном уровне является применение однослойных культур клеток. В качестве простого и информативного критерия цитотоксичности выбран показатель количества клеток в монослое. Результаты

проведенных *in vitro* опытов на культурах ЭФЧ и А-549 показали, что ГЭ-АЛК в концентрации  $2 \times 10^{-3}$  моль $\times$ л $^{-1}$  приводит к дегенерации монослоя с отделением клеток от стекла. В концентрации  $2 \times 10^{-4}$  моль $\times$ л $^{-1}$  препарат подавляет пролиферацию клеток ЭФЧ в 2,8 раза, клеток А-549 в 6,3 раза по сравнению с контролем. В опытах с внесением ГЭ-АЛК в дозе  $2 \times 10^{-5}$  моль $\times$ л $^{-1}$  не наблюдалось существенного влияния препарата на пролиферативную активность исследуемых культур: за время опыта количество клеток ЭФЧ увеличилось в 16 раз, а клеток линии А-549 – в 26 раз по сравнению с исходным состоянием до внесения препарата, что соответствует пределам нормального роста данных линий в условиях *in vitro*. Рассчитанная с применением пробит-анализа величина среднеэффективной концентрации цитотоксического действия  $CL_{50}$  составляет для культуры ЭФЧ  $1,14 \times 10^{-4}$  ( $1,08 \times 10^{-4} \div 1,21 \times 10^{-4}$ ) моль $\times$ л $^{-1}$ , для культуры А-549 –  $0,5 \times 10^{-4}$  ( $0,48 \times 10^{-4} \div 0,54 \times 10^{-4}$ ) моль $\times$ л $^{-1}$  (рисунок 1).



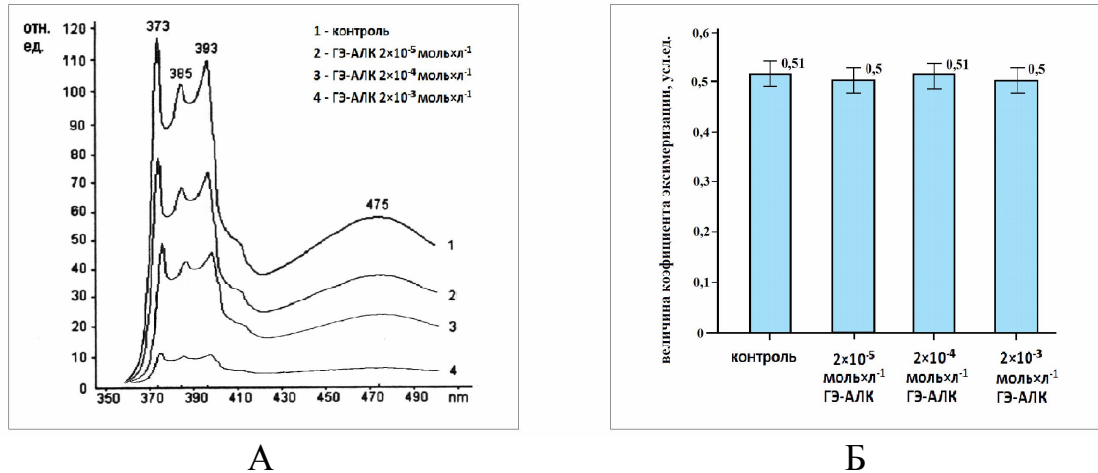
\* – различия статистически достоверны,  $p < 0,05$

**Рисунок 1. – Динамика изменения количества клеток в культурах эмбриональных фибробластов человека (ЭФЧ) и аденокарциномы легкого человека А-549 в присутствии ГЭ-АЛК**

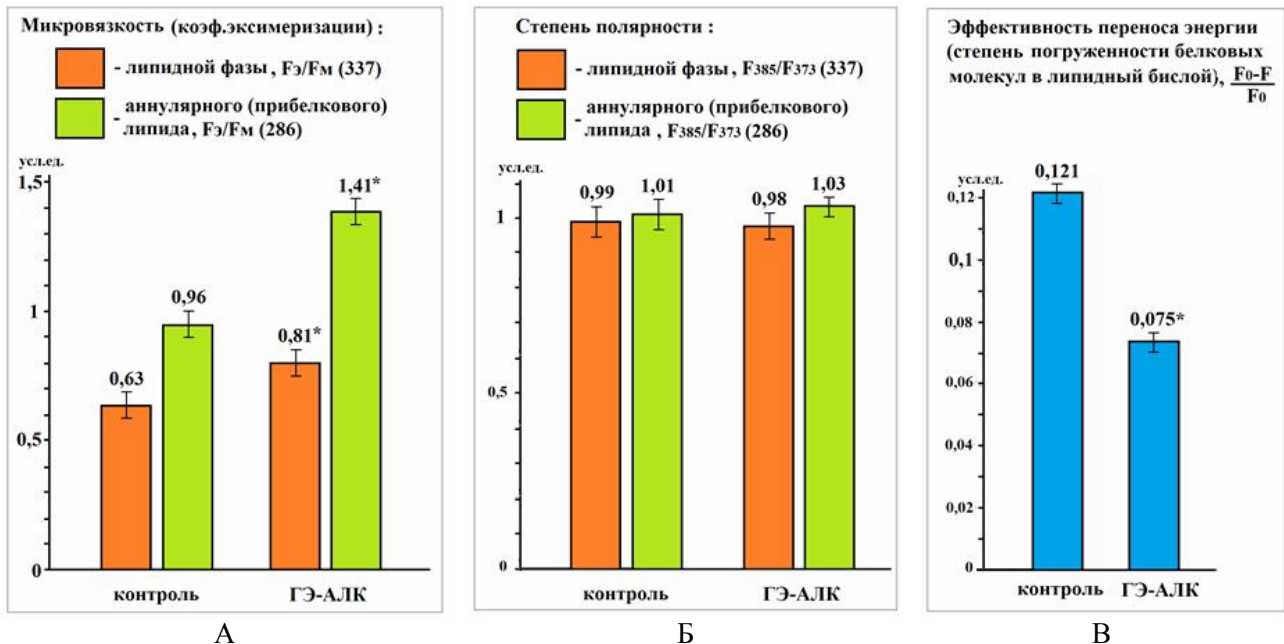
В диапазоне реализации цитотоксического действия изучено влияние изучаемого соединения на структурно-функциональные показатели состояния липидного бислоя *in vitro* при введении флуоресцентного зонда пирена в суспензию теней эритроцитов интактных крыс. Добавление ГЭ-АЛК в концентрациях  $2 \times 10^{-5}$ ,  $2 \times 10^{-4}$ ,  $2 \times 10^{-3}$  моль $\times$ л $^{-1}$  приводило к тушению флуоресценции пирена (рисунок 2.А) без изменения коэффициента эксимеризации – соотношения между эксимерами  $F_{\text{э}}$  при  $\lambda_{\text{эм}}$  475 нм и мономерами  $F_{\text{м}}$  при  $\lambda_{\text{эм}}$  373 нм (рисунок 2.Б), что свидетельствует о деградациии липидного бислоя.

Исследование структурно-функциональных параметров мембран эритроцитов в субхроническом эксперименте *in vivo* на белых крысах указывает на зависимое от воздействия ГЭ-АЛК в дозе 440 мг/кг снижение микровязкости липидного бислоя и аннулярного (прибелкового) липида, о чем свидетельствует увеличение коэффициентов эксимеризации (рисунок 3.А), при этом показатели

их полярности оставались в пределах контрольных значений (рисунок 3.Б). Исследование интенсивности безизлучательного переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков на пирен выявило достоверное снижение данного показателя на 38 % ( $p < 0,05$ ), что указывает на уменьшение погруженности белковых молекул в липидный бислой (рисунок 3.В).



**Рисунок 2. – Флуоресценция пирена в суспензии теней эритроцитов белых крыс при воздействии ГЭ-АЛК *in vitro* (А – спектр флуоресценции, Б – коэффициент эксимеризации пирена,  $F_3/F_m$ )**



\* – различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ );

интенсивность флуоресценции:  $F_3$  – эксимеров пирена,  $F_m$  – мономеров пирена,

$F_0$  – теней эритроцитов,  $F$  – теней эритроцитов в присутствии пирена

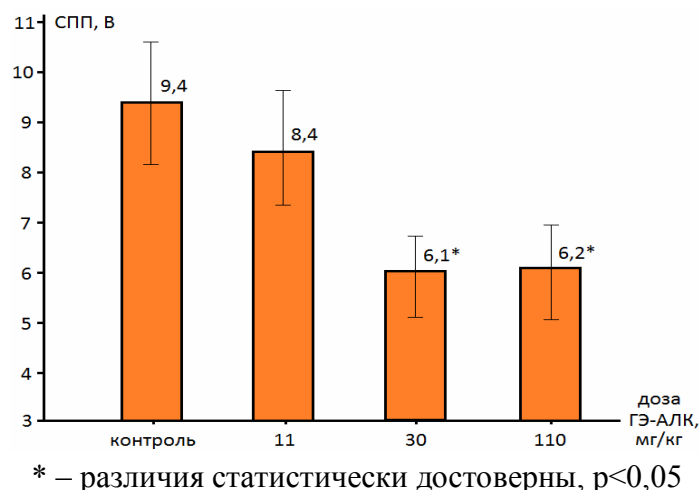
**Рисунок 3. – Структурные параметры мембран эритроцитов при введении белым крысам 440 мг/кг ГЭ-АЛК в субхроническом внутрижелудочном опыте *in vivo* (А – микровязкость, Б – полярность, В – погруженность белков в мембрану)**

Таким образом, токсическое действие ГЭ-АЛК на организм реализуется посредством мембранотропных и цитотоксических эффектов [10].

**Глава 5 «Токсические свойства гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в хроническом эксперименте, обоснование регламентов содержания в объектах среды обитания человека».** Хроническое внутрижелудочное введение белым крысам ГЭ-АЛК в дозах 110, 30 и 11 мг/кг в течение 6 месяцев не вызывало клинических проявлений интоксикации и гибели.

Со стороны нервной системы при дозе 110 мг/кг наблюдали у подопытных животных снижение двигательной активности и величины СПП на 34 % к контролю ( $p < 0,05$ ). О нарушении состояния мочевыводящей системы свидетельствуют достоверное снижение величины показателя водородных ионов мочи (рН 6,2), снижение суточного диуреза в 4,3 раза и клиренса креатинина в 2,6 раза по отношению к контролю. Морфологическое исследование структуры внутренних органов выявило наличие очагового продуктивного миокардита, интерстициального гепатита и дистрофических изменений гепатоцитов, интерстициального нефрита. Морфометрически зарегистрированы гиперпластические изменения надпочечников и слизистой оболочки желудка белых крыс с развитием акантоза и гиперкератоза [21].

При хроническом внутрижелудочном введении белым крысам ГЭ-АЛК в дозе 30 мг/кг на фоне отсутствия сдвигов клинико-биохимических, морфологических и морфометрических показателей обнаружено лишь достоверное снижение СПП на 35 %, что позволило определить данный уровень воздействия в качестве порога хронического действия ( $Lim_{chr}$ ). Таким образом, лимитирующим показателем хронического общетоксического действия ГЭ-АЛК является функциональное состояние нервной системы по изменению СПП (рисунок 4).



**Рисунок 4. – Суммационно-пороговый показатель у белых крыс при хроническом внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК**

Проявления токсического действия препарата отсутствовали при дозе 11 мг/кг (максимально недействующая), что позволило использовать данную величину для расчета допустимой суточной дозы (ДСД) ГЭ-АЛК. Учитывая

высококумулятивные свойства соединения, максимально недействующая доза снижена в 100 раз (коэффициент запаса), что определило величину ДСД на уровне 0,11 мг/кг [16]. Допустимое суточное поступление (ДСП) для человека с учетом ДСД и средней массы 50 кг не должно превышать 5,5 мг/сутки (суммарное количество препарата, поступающее из разных сред).

Прогнозные значения ориентировочно безопасного уровня воздействия (ОБУВ) в воздухе рабочей зоны ГЭ-АЛК рассчитывали по формулам, предложенным для всех групп пестицидов. Результаты анализа полученных значений показали, что наиболее низкое расчетное значение гигиенического норматива – 0,8 мг/м<sup>3</sup>.

ОБУВ ГЭ-АЛК в атмосферном воздухе установлен на уровне 0,01 мг/м<sup>3</sup> по расчетам, учитывающим молекулярную массу, основные параметры токсичности и величину ОБУВ в воздухе рабочей зоны. При данной величине ОБУВ в организм человека с атмосферным воздухом может поступить 0,2 мг ГЭ-АЛК, что составит 3,6 % от ДСП для человека.

Для прогноза ориентировочно допустимого уровня (ОДУ) в воде применяли уравнения, отражающие корреляционные связи между этой величиной, установленными токсикологическими параметрами (DL<sub>50</sub>), нормативами в других объектах окружающей среды (воздух рабочей зоны), физическими константами. Минимальное расчетное значение ОДУ ГЭ-АЛК – вещества, имеющего санитарно-токсикологический признак вредности, составило 0,1 мг/дм<sup>3</sup>.

Ориентировочно допустимая концентрация (ОДК) ГЭ-АЛК в почве рассчитана по величине ДСД и составляет 0,3 мг/кг. Агротехническое применение препарата для предпосевной обработки семян ячменя, рапса, льна-долгунца при рекомендуемых нормах расхода до 3 г/т (до 150 мг/га) не приведет к превышению установленного ОДК в почве.

Так как препарат «Эфаламин» (содержание ГЭ-АЛК не менее 95 %) предназначен для применения при возделывании ярового ячменя, озимого рапса и льна-долгунца, то выполнено расчетное обоснование максимально допустимых уровней остаточных количеств (МДУок) ГЭ-АЛК в зерне хлебных злаков, рапсе (зерно, масло) и льне (масло) [22].

С пищевым рационом в организм человека может поступить до 70 % остаточных количеств средства защиты растений, обнаруживающегося во всех средах. В этом случае расчетное безопасное поступление ГЭ-АЛК, поступающего с пищевыми продуктами, составит 3,85 мг/чел./сутки.

При определении МДУок ГЭ-АЛК в зерне хлебных злаков (0,1 мг/кг) и рапса (0,6 мг/кг), масле рапса и льна (0,6 мг/кг) учитывали нормы среднесуточного потребления пищевых продуктов.

Следовательно, возможное суточное поступление ГЭ-АЛК в организм человека с учетом установленных нормативов для различных сред составит: с пищевыми продуктами – 0,11 мг (2 % от ДСП), с водой – 0,3 мг (5,5 % от ДСП), воздухом – 0,2 мг (3,6 % от ДСП), в сумме 11,1 % от ДСП.



Таким образом, по результатам токсикологической оценки обоснован ряд гигиенических регламентов ГЭ-АЛК в среде обитания человека: ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,8 мг/м<sup>3</sup>, ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м<sup>3</sup>, ОДУ в воде водоемов – 0,1 мг/дм<sup>3</sup>, ОДК в почве – 0,3 мг/кг, ДСД – 0,1 мг/кг, МДУок в зерне хлебных злаков – 0,1 мг/кг, рапс (зерно, масло), лен-долгунец (масло) – 0,6 мг/кг.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальными комплексными токсикологическими исследованиями регулятора роста растений ГЭ-АЛК установлены новые научные данные по параметрам токсикометрии, критериям токсичности и опасности, основным механизмам и закономерностям токсического действия, отдаленным последствиям для организма при разных уровнях, режимах и путях воздействия препарата, на основании которых обоснованы регламенты его безопасного содержания в объектах среды обитания человека, продовольственном сырье и пищевых продуктах.

### Основные научные результаты диссертации

1. Новый регулятор роста растений гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты по установленным параметрам острой токсичности в условиях внутрижелудочного введения белым мышам и крысам обоего пола отнесен к умеренно опасным соединениям, не проявляет половой и видовой резистентности. Порог острого действия  $Lim_{ac}$  по поведенческой активности установлен на уровне 73 мг/кг, величина зоны острого действия  $Z_{ac}$  составляет 41. При ингаляционном и эпикутанном путях поступления в организм опасности острых отравлений не представляет. ГЭ-АЛК не обладает сенсibiliзирующей способностью, раздражающим действием при однократном контакте с кожными покровами и оказывает выраженное местное действие на слизистые оболочки глаз [2, 3, 5, 11, 13, 17, 19].

2. При изучении кумулятивных свойств по методу Lim et al. обнаружена адаптация животных к введению нарастающих количеств ГЭ-АЛК. При субхроническом внутрижелудочном введении препарата на уровне 1/5  $DL_{50}$  по наличию смертельных эффектов коэффициент кумуляции составляет 1,6, что характеризует его как высококумулятивное соединение. Характер изменений клинiко-биохимических, физиологических и морфологических показателей при многократном воздействии ГЭ-АЛК в дозах 1/10, 1/20 и 1/80  $DL_{50}$  носит дозовую зависимость и свидетельствует о преимущественном нарушении функционального состояния нервной системы, печени, почек. Максимально переносимая доза, установленная в субхроническом опыте, составляет 440 мг/кг (1/20  $DL_{50}$ ). При многократном контакте с неповрежденными кожными покровами подопытных животных ГЭ-АЛК в виде 50 %, 25 % и 5 % водных растворов оказывает раздражающее и резорбтивное действие, которое

проявляется отеком эпидермиса и дермы, нарушением морфофункционального состояния печени и почек дозозависимого характера [5–7, 9, 12, 14, 21].

3. Эмбриотропное и тератогенное действие ГЭ-АЛК не выявлено при однократном введении в дозе 3900 мг/кг ( $1/2 DL_{50}$  для самок) в периоды интенсивного органогенеза и при многократном воздействии на протяжении всего периода беременности в дозе 195 мг/кг ( $1/40 DL_{50}$  для самок). Об умеренной репродуктивной токсичности препарата свидетельствует отставание физического развития крысят самок крыс, получавших ГЭ-АЛК в токсичной для материнского организма дозе в период интенсивного органогенеза на 9-й день беременности. Препарат обладает слабым гонадотоксическим действием в условиях субхронического внутрижелудочного введения дозы 440 мг/кг ( $1/20 DL_{50}$  для самцов) по изменению морфофункциональных показателей семенников и сперматозоидов. При снижении величины вводимой дозы до 110 мг/кг указанный эффект отсутствовал [4, 8].

ГЭ-АЛК не проявлял мутагенных свойств в комплексе исследований генетической токсичности, который включал определение точковых мутаций в тесте Эймса и количества хромосомных aberrаций в цитогенетическом тесте на периферических лимфоцитах человека *in vitro* [15, 18].

4. ГЭ-АЛК обладает мембранотропным действием на различных уровнях организации клетки, что проявляется цитотоксическими свойствами и дестабилизацией состояния мембраносвязанных ферментов: при субхроническом внутрижелудочном введении ГЭ-АЛК в дозе 440 мг/кг в опытах на мембранах эритроцитов подопытных животных установлено достоверное снижение микровязкости липидного бислоя, зон липид-белковых контактов и уменьшение погруженности белковых молекул в мембрану, а на дестабилизацию структур мембран эндоплазматического ретикулума указывает накопление цитохрома P420 в печени белых крыс, на повреждение цитоплазматических мембран гепатоцитов – развитие гиперферментемий в сыворотке крови [7, 9, 10, 20].

В эксперименте *in vitro* в диапазоне концентраций  $2 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-3}$  моль  $\times$  л<sup>-1</sup> ГЭ-АЛК вызывает деградацию мембран эритроцитов белых крыс и оказывает цитотоксическое действие на клетки эмбриональных фибробластов человека и линии аденокарциномы А-549. Среднеэффективная концентрация цитотоксического эффекта для культуры эмбриональных фибробластов человека составила  $1,14 \times 10^{-4}$  моль  $\times$  л<sup>-1</sup>, для культуры А-549 –  $0,5 \times 10^{-4}$  моль  $\times$  л<sup>-1</sup> [1, 10].

5. В условиях хронического внутрижелудочного введения ГЭ-АЛК белым крысам в дозах 110, 30 и 11 мг/кг установлены дозозависимые токсические эффекты, среди которых ведущими являлись сдвиги функционального состояния нервной системы. Величина максимально недействующей (подпороговой) дозы составляет 11 мг/кг, при которой все изученные морфофункциональные показатели не отличались от контроля. Полученные результаты с учетом величины коэффициента запаса для высококумулятивных веществ (100)

позволили рассчитать допустимую суточную дозу для человека на уровне 0,1 мг/кг [1, 8, 21].

Обоснован ряд нормативов ГЭ-АЛК в среде обитания человека: ОБУВ в воздухе рабочей зоны – 0,8 мг/м<sup>3</sup>, ОБУВ в атмосферном воздухе – 0,01 мг/м<sup>3</sup>, ОДУ в воде – 0,1 мг/дм<sup>3</sup>, ОДК в почве – 0,3 мг/кг, а также в продовольственном сырье и пищевых продуктах: МДУок в зерне хлебных злаков – 0,1 мг/кг, в зерне рапса, в рапсовом и льняном масле – 0,6 мг/кг [16, 22, 23].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Разработаны и утверждены в установленном порядке 9 гигиенических нормативов содержания ГЭ-АЛК в объектах среды обитания человека, продовольственном сырье и пищевых продуктах (постановление Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 40 от 02.03.2016). Введение их в действие обеспечивает безопасное производство и широкое применение нового отечественного препарата «Эфаламин» (гексильовый эфир 5-аминолевулиновой кислоты) в качестве эффективного регулятора роста растений в сельском хозяйстве.

2. Регулятор роста растений «Эфаламин» (гексильовый эфир 5-аминолевулиновой кислоты) внесен в «Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь». Удостоверение о государственной регистрации № 2916 от 13.04.2016 г., выдано ГУ «Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений» Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

## **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Статьи в научных журналах**

1. Токсикологическая характеристика гексильового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях хронического воздействия на белых крысах и в пролонгированном эксперименте *in vitro* / Е. К. Власенко // Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. – 2014. – Т. 9, ч. 2. – С. 209–217.

2. Токсикологическая оценка гексильового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при различных путях и режимах однократного воздействия / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак // Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. – 2014. – Т. 9, ч. 2. – С. 218–223.

3. Количественная характеристика токсичности гексильового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях однократного внутрижелудочного поступ-

ления / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова // Новости мед.-биол. наук. – 2015. – Т. 11, № 2. – С. 158–162.

4. Особенности влияния гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты на репродуктивные функции белых крыс / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – Т. 14, № 3. – С. 83–89.

5. Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях одно- и многократного внутрижелудочного введения / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак // Токсикол. вестн. – 2015. – № 5. – С. 31–36.

6. Особенности эпикутанного действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова // Анализ риска здоровью. – 2015. – № 1. – С. 49–53.

7. Оценка биохимического статуса белых крыс при воздействии гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в субхроническом эксперименте / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – Т. 14, № 6. – С. 104–111.

8. Власенко, Е. К. Методологические аспекты токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений / Е. К. Власенко, С. И. Сычик // Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. – 2016. – Т. 11, ч. 1. – С. 42–63.

9. Особенности реализации кумулятивных свойств гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты у лабораторных животных / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, О. А. Борис // Новости мед.-биол. наук. – 2016. – Т. 13, № 1. – С. 5–10.

10. Оценка мембранотропных свойств гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в экспериментах *in vitro* / *in vivo* / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова // Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем. – 2016. – Т. 11, ч. 1. – С. 252–257.

#### **Статьи в сборниках научных трудов и материалы конференций**

11. Власенко, Е. К. Особенности биологического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты / Е. К. Власенко, А. И. Игнатович, А. Н. Шилова // Сахаровские чтения 2014 года: экологические проблемы XXI века : материалы 14-й междунар. науч. конф., 29-30 мая 2014 г. / М-во образования Респ. Беларусь [и др.] ; под общ. ред. В. И. Дуная, С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2014. – С. 69–70.

12. Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при повторном воздействии / Е. К. Власенко В. А. Стельмах, А. И. Игнатович, А. М. Войтович, В. А. Степанищева // Здоровье и окружающая

среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Вып. 24, т. 1. – Минск, 2014. – С. 102–106.

13. Сравнительная оценка методов изучения острой внутрижелудочной токсичности при классификации химических веществ / Е. К. Власенко, Е. С. Юркевич, Д. О. Борщевская, И. И. Ильюкова // Современные проблемы гигиенической науки и практики, перспективы развития : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию каф. гигиены и мед. экологии Белорус. мед. акад. последиплом. образования, Минск, 12 июня 2014 г. / Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; ред. кол.: Ю. Е. Демидчик [и др.]. – Минск, 2014. – С. 82–85.

14. Власенко, Е. К. Основные параметры токсикометрии гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях однократного и повторного воздействия / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Грынчак // Республиканская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 50-летию медико-профилактического факультета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» : сб. науч. тр. / редкол. А. В. Сикорский [и др.]. – Минск, 2015. – С. 53–58.

15. Изучение мутагенной активности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в тестах *in vitro* / Е. К. Власенко, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак, А. М. Войтович, О. А. Емельянова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2015. – Вып. 25, т. 2. – С. 79–82.

16. Власенко, Е. К. Научное обоснование ряда гигиенических регламентов содержания гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в объектах среды обитания человека / Е. К. Власенко, В. А. Стельмах, И. И. Ильюкова, Л. М. Кремко, В. А. Грынчак // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2015. – Вып. 25, т. 2. – С. 82–87.

17. Параметры токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при различных путях и режимах воздействия / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, И. И. Ильюкова, В. А. Грынчак // Нейрофизиология боли в эксперименте и клинике : материалы междунар. конф., 16 окт. 2015 г., Минск / Ин-т физиологии НАН Беларуси, Белорус. о-во физиологов. – Минск, 2015. – [Опубл. в журн.] Новости мед.-биол. наук. – 2015. – Т. 12, № 3. – С. 17–18.

18. Показатели мутагенной активности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в тестах *in vitro* / Е. К. Власенко, А. М. Войтович, В. А. Грынчак, Н. В. Дудчик, О. А. Емельянова // Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе : материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 26-27 нояб. 2015 г. / Нац. акад. наук Респ. Беларусь, Ин-т эксперимент. ветеринарии им. С. Н. Вышелесского ; ред. А. П. Лысенко. – Минск, 2015. – С. 290–293.

19. Токсикологическая характеристика гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при различных путях однократного воздействия / Е. К. Власенко, В. А. Стельмах, И. И. Ильюкова, В. А. Грынчак // Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе : материалы междунар. науч.-практ. конф., 26-27 нояб., 2015 г. – Минск, 2015. – С. 298–302.

20. Власенко, Е. К. Мембранотропные свойства гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в экспериментах *in vitro/in vivo* // Е. К. Власенко, А. Г. Сыса / Сахаровские чтения 2016 года: экологические проблемы XXI века : материалы 16-й междунар. науч. конф., 19-20 мая 2016 г. / М-во образования Респ. Беларусь [и др.] ; под ред. С. А. Маскевича, С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2016. – С. 120.

21. Власенко, Е. К. Морфо-функциональные изменения в организме лабораторных животных и обоснование критериев вредности при воздействии гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты / Е. К. Власенко, В. А. Грынчак, М. М. Васильева, С. Н. Рябцева // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 213–217.

22. Власенко, Е. К. Научное обоснование максимально допустимых уровней содержания гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в продовольственном сырье и разработка методики его определения в объектах среды обитания человека / Е. К. Власенко, В. А. Грынчак, А. А. Попель, М. А. Кисель // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 217–221.

### **Гигиенические регламенты**

23. Гигиенические нормативы содержания гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах : доп. в «Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах» (п. 574) : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 02.03.2016 г. № 40, в ред. постановления 27.09.2012 г. № 149. – Минск, 2012. – 80 с.

## РЭЗЮМЭ

Уласенка Яўгеній Канстанцінавіч

### Асаблівасці таксічнага дзеяння гексілавага эфіру 5-аміналевулінавай кіслаты і абгрунтаванне рэгламентаў яго бяспечнай вытворчасці і прымянення

**Ключавыя словы:** гексілавы эфір 5-аміналевулінавай кіслаты, таксічнасць, небяспека, біялагічныя эфекты, гігіенічныя нарматывы.

**Мэта працы:** усталяваць асаблівасці і механізмы біялагічнага дзеяння гексілавага эфіру 5-аміналевулінавай кіслаты на эксперыментальных мадэлях *in vivo/in vitro* і навукова абгрунтаваць комплекс рэгламентаў, якія забяспечваюць яго бяспечную вытворчасць і ўжыванне.

**Метады даследавання:** таксікалагічныя, фізіялагічныя, гематалагічныя, біяхімічныя, імуналагічныя, цытагенетычныя, цыталагічныя, біяфізічныя, марфалагічныя, статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна.** Упершыню выканана поўная таксікалагічная ацэнка новага рэгулятара росту раслін ГЭ-АЛК пры розных рэжымах, дозах і шляхах паступлення ў арганізм лабараторных жывёл, якая дазволіла ўсталяваць параметры яго таксікаметрыі, асаблівасці біялагічнага дзеяння, якія праяўляюцца скурна-рэзорбтыўнымі, кумулятыўнымі і раздражняльнымі слізистыя абалонкі ўласцівасцямі, умеранай рэпрадуктыўнай таксічнасцю без істотных прыкмет ганадатропнага, мутагеннага і алергенага дзеяння на арганізм. Усталяваны вядучыя механізмы таксічнага дзеяння ГЭ-АЛК на арганізм, апасродкаваныя мембранатропнымі і цытатаксічнымі эфектамі. Вызначаныя ў хранічным эксперыменце крытэрыі і абмяжавальныя паказчыкі шкоднага дзеяння ГЭ-АЛК, на падставе якіх распрацаваны дапушчальная сутачная доза (ДСД) для чалавека і шэраг рэгламентаў утрымання прэпарата ў аб'ектах навакольнага асяроддзя (паветра рабочай зоны і атмасферы, вада, глеба), харчовай сыравіне і харчовых прадуктах (хлебнае і рапсавое збожжа, рапсавы і льняны алей).

**Рэкамендацыі па выкарыстанні.** Атрыманыя вынікі паслужылі асновай для ўстанаўлення 9 гігіенічных нарматываў утрымання ГЭ-АЛК і выкарыстаны для дзяржаўнай рэгістрацыі рэгулятара росту раслін «Эфаламін», што забяспечыць бяспеку яго вытворчасці і прымянення ў сельскай гаспадарцы.

**Вобласць ужывання:** Ахова здароўя, сельская гаспадарка і вытворчасць харчавання.

## РЕЗЮМЕ

Власенко Евгений Константинович

### **Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты и обоснование регламентов его безопасного производства и применения**

**Ключевые слова:** гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты, токсичность, опасность, биологические эффекты, гигиенические нормативы.

**Цель работы:** установить особенности и механизмы биологического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты на экспериментальных моделях *in vivo/in vitro* и научно обосновать комплекс регламентов, обеспечивающих его безопасное производство и применение.

**Методы исследования:** токсикологические, физиологические, гематологические, биохимические, иммунологические, цитогенетические, цитологические, биофизические, морфологические, статистические.

**Полученные результаты и их новизна.** Впервые выполнена полная токсикологическая оценка нового регулятора роста растений ГЭ-АЛК при различных режимах, дозах и путях поступления в организм лабораторных животных, позволившая установить параметры его токсикометрии, особенности биологического действия, проявляющиеся кожно-резорбтивными, кумулятивными и раздражающими слизистые оболочки свойствами, умеренной репродуктивной токсичностью без существенных признаков гонадотропного, мутагенного и аллергенного действия на организм. Установлены ведущие механизмы токсического действия ГЭ-АЛК на организм, опосредованные мембранотропными и цитотоксическими эффектами. Определены в хроническом эксперименте критерии и лимитирующие показатели вредного действия ГЭ-АЛК, на основании которых разработаны допустимая суточная доза (ДСД) для человека и ряд регламентов содержания препарата в объектах окружающей среды (воздух рабочей зоны и атмосферы, вода, почва), продовольственном сырье и пищевых продуктах (зерно хлебных злаков и рапса, рапсовое и льняное масло).

**Рекомендации по использованию.** Полученные результаты послужили основой для установления 9 гигиенических нормативов содержания ГЭ-АЛК и использованы для государственной регистрации регулятора роста растений «Эфаламин», что обеспечит безопасность его производства и применения в сельском хозяйстве.

**Область применения:** Здравоохранение, сельское хозяйство и производство продовольствия.



## SUMMARY

Ulasenka Yauhenii Kanstantinavich

### **Toxicity features of 5-aminolevulinic acid hexyl ether and justification of regulations for safe production and use**

**Keywords:** 5-aminolevulinic hexyl ester, toxicity, danger, biological effects, hygienic standards.

**The aim of work:** to determine the characteristics and biological mode of action of 5-aminolevulinic acid hexyl ester *in vivo/in vitro* studies and to justify scientifically the regulation complex ensuring its safe production and use.

**Methods of research:** toxicological, physiological, hematological, biochemical, immunological, cytogenetic, cytological, biophysical, morphological, statistical.

**The obtained results and their novelty.** For the first time the complete toxicological evaluation was carried out for the new H-ALA-based plant growth regulator at various conditions, doses and routes of exposure to laboratory animals. It allowed to set the toxicometry parameters, features of the biological mode of action that is expressed by skin-resorptive, cumulative and irritating properties to the mucous membranes, a moderate reproductive toxicity without significant signs of gonadotropic, mutagenic and allergenic effects on the organism. The leading mechanism of H-ALA toxic action on the organism mediated by membranotropic and cytotoxic effects was established. The criteria and H-ALA limiting harmful effect indicators were determined in the long-term study that were the basis for development of the acceptable daily intake (ADI) and some hygienic regulations of H-ALA in the environment (air of the working area and atmosphere, water, soil), food raw materials and foods (MRL in cereals grain, rape (grain and oil), flax oil).

**Recommendations for use.** The results were the basis for the establishment of 9 hygienic regulations that were used for state registration of the H-ALA based growth plant regulator «Efalamin» that will ensure its safe production and use in agriculture.

**Field of application:** Public Health, Agriculture and Food Production.