

ОБГРУНТУВАННЯ ГРАНИЧНО ДОПУСТИМОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЦІАНОКОБАЛАМІНУ В ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ

Б.П. Кузьмін, д.мед.н., Т.С. Зазуляк, к.біол.н.,

О.І. Грушка, О.І. Галушка

Національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

РЕЗЮМЕ. В експериментах на лабораторних тваринах (щур, миші, морські свинки, кролі) проведена токсикологічна оцінка з обґрунтуванням гранично допустимої концентрації в повітрі робочої зони ціанкобаламіну (вітаміну В₁₂). Встановлено, що препарат за критерієм гострої токсичності відноситься до малонебезпечних сполук, володіє алергенним ефектом, слабкою кумулятивною активністю, незначною подразнюючою дією на шкіру і слизові оболонки. Гонадотоксичної властивості не виявлено. ГДК в повітрі робочої зони складає 0,05 мг/м³.

Ключові слова: концентрація ціанкобаламіну, робоча зона, гостра токсичність, подразнююча дія, гонадотоксичність.

РЕЗЮМЕ. В експериментах на лабораторних животних (крысы, мыши, морские свинки, кролики) проведена токсикологическая оценка с обоснованием предельно допустимой концентрации в воздухе рабочей зоны цианкобаламина (витамина В₁₂). Установлено, что препарат по критерию острой токсичности относится к малоопасным соединениям, обладает аллергенным эффектом, слабой кумулятивной активностью, незначительным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки. Гонадотоксические свойства не выявлены. ПДК в воздухе рабочей зоны составляет 0,05 мг/м³.

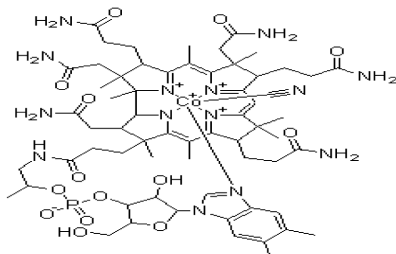
Ключевые слова: концентрация цианкобаламина, рабочая зона, острая токсичность, раздражающее действие, гонадотоксичность.

SUMMARY. The toxicological estimation with a substantiation of maximum permissible concentration in air of a working zone of cyanocobalamine (vitamin B₁₂) has been performed in experiments on laboratory animals (rats, mice, porpoises, rabbits). It is established that the preparation by criterion of sharp toxicity concerns to substance with low degree of danger, possesses allergenic effect, weak cumulative activity, insignificant irritating action on a skin and mucous membranes. Gonadotoksic properties are not revealed. Maximum concentration limit in air of a working zone makes 0,05 mg/m³.

Key words: cyanocobalamine, working zone, allergenic effect, irritating action, gonadotoksic.

Ціанкобаламін (вітамін В₁₂) — похідне корину. Кристалічний порошок червоного або темно-червоного кольору без запаху. Молекулярна маса 1355,55. Емпірична формула C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P

Структурна формула:



Розчинність у воді 12 г/л (25°C). Розчиняється в нижчих спиртах (напр. етанолі) та аліфатичних кислотах, фенолі; не розчиняється в інших органічних розчинниках (ацетоні, хлороформі, діетиловому ефірі тощо). Величина рН 6,0 (при концентрації 1 г/л при 20°C).

Масова частка основної речовини не менше 96 % і не більше 102 % в перерахунку на суху речовину. Домішки: хлориди, сульфати, сліди важких металів (кобальту). В повітря робочої зони надходить у вигляді аерозолу дезінтеграції. Гранулометричний склад субстанції: фракції, %: 250 мкм — 1,22±5 %, 125 мкм — 58,60±5 %, 63 мкм — 37,08±5 %, 45 мкм — 3,10±5 %.

Процеси виготовлення лікарсь-

кої форми ціанкобаламіну на АТ "Галичфарм" (м. Львів) і ДП "Львівдіалік" ДАК "Укрмедпром" (м. Львів) супроводжуються потраплянням препарату в повітря робочої зони в концентраціях від 0,03 до 0,27 мг/м³. Гранично допустиму концентрацію (ГДК) ціанкобаламіну в повітрі робочої зони не розроблено.

Об'єкти і методи дослідження. Дослідження проведені у відповідності з "Методическими рекомендаціями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны" [5] та методичними вказівками "Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць" [8].

Вивчення токсичних властивостей ціанкобаламіну в гострих дослідах проводилось на білих щурах, білих мишах, кроликах, мурчаках.

Середньосмертельні дози (DL₅₀) визначали при пероральному та внутрішньоочеревинному введенні та розраховували за методом Litchfield, Wilcoxon [2] та Van der Waerden [13].

Місцево-подразнювальну та шкірно-резорбтивну дію ціанкобаламіну вивчали "пробірочним методом" шляхом занурювання 2/3 хвоста білих щурів у водний розчин пре-

парату згідно з "Методическими рекомендаціями по оценке воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование ПДУ загрязнения кожи" [7]. Ступінь токсичної дії ціанкобаламіну на організм тварин встановлювали за наступними показниками: загальний стан тварин, вміст гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів у крові, лейкоцитарна формула, активність АЛАТ, АсАТ (в сироватці крові), вміст сечовини (в сироватці крові), сульфгідрильних груп (в сироватці крові), циркулюючих імунотоксичних комплексів (в сироватці крові), поведінкові реакції, СПП, морфологічні зміни у внутрішніх органах тощо.

Вивчення місцевого впливу ціанкобаламіну на слизові оболонки проводили на кролях шляхом внесення 50 мг препарату в кон'юнктивальний мішок ока. Оцінку пошкоджуючої дії здійснювали за методом А. Majda і К. Chrusaielska [12].

Кумулятивну активність ціанкобаламіну вивчали за методом Lim et al [11].

Вивчення алергенної дії проводили на мурчаках згідно з методичними вказівками [4].

Хронічну інгаляційну дію ціанкобаламіну вивчали на білих безпородних щурах шляхом інтраназального введення в концентраціях

1,0 мг/м³ та 0,1 мг/м³ (5 раз на тиждень, упродовж 4 місяців).

В якості відалених наслідків дії проводили дослідження гонадотоксичного ефекту згідно з методичними рекомендаціями [3].

Інтерпретуючи дані токсикологічних досліджень, їх співвідносили з показниками та показниками норми лабораторних тварин [9].

Результати та їх обговорення

Одноразове внутрішньошлункове введення ціанокобаламіну білим щурам у дозах від 1000 мг/кг до 5000 мг/кг загибелі тварин не викликало. При дробному введенні ціанокобаламіну в дозі 10000 мг/кг у білих щурів спостерігалось короткочасне збудження, після чого рухова активність знижувалась, спостерігалась підвищена реакція на зовнішні подразники, тварини залягали на живіт, дихання глибоке, спастичне. Загибелі не зареєстровано за весь період спостереження (14 діб). Стан тварин нормалізувався на другу добу. Клінічна картина гострого отруєння у білих мишей була аналогічною як у білих щурів.

При внутрішньоочеревинному введенні ціанокобаламіну білим щурам-самкам у дозах від 3000 мг/кг до 5000 мг/кг спостерігалась загибель тварин упродовж другої та третьої доби. Стан тварин, що вижили, нормалізувався на 5-6 добу. Середньооефективний час загибелі тварин (ET₅₀₍₁₎) для білих щурів дорівнює 56,8 години. DL₅₀ в/ч для білих щурів-самок — 3480 мг/кг (6 клас небезпеки /відносно небезпечні речовини/ за К.К. Сидоровим [10]), для білих щурів-самців — 2800 мг/кг, для білих мишей самок — 2100 мг/кг.

20-кратне занурювання хвостів білих щурів у насичений водний розчин препарату (час експозиції 4 години, 5 разів на тиждень) не викликало загибелі тварин. Помітних змін у зовнішньому вигляді тварин та їх поведінці упродовж експерименту не спостерігалось. На хвостах з'являлась пігментація шкіри, через 4-5 діб — сухість.

Після 10- та 20-кратного занурювання хвостів білих щурів у насичений водний розчин ціанокобаламіну відмічено достовірні зміни з боку системи крові та нервової системи. Вміст гемоглобіну в крові збільшувався на 14,0-14,4 %, еритроцитів — на 20,1-25,7 %, кількість лімфоцитів — на 17,7 %, протромбіновий індекс —

на 28,2-44,7 %. У той же час зменшувався кольоровий показник крові на 4,2-10,1 %, середній вміст гемоглобіну в еритроцитах — на 10 %, протромбіновий час — на 23,8-34,8 %, сумарно-пороговий показник — на 20,4-23,0 %. Вміст сульфгідрильних груп у крові збільшувався на 13,6-31,3 %.

Внесення 50 мг ціанокобаламіну до кон'юнктивального мішка ока кроля викликало слабо виражену подразливу дію: 2-3 бали за класифікацією А. Mayda і К. Chrusaielska (серозні виділення — 1-2 бали, гіперемія — 1 бал). Відновлення офальмологічного статусу спостерігалось на 2-3 добу без проведення медикаментозного лікування.

Однократну інгаляційну дію вивчали шляхом інтратрахеального введення ціанокобаламіну мурчакам в кількості 50 мг. Після введення речовини у тварин з'являлась адинамія, порушення ритму дихання. Загибелі тварин за весь період спостереження не було.

Розрахована середньосмертельна концентрація (CL₅₀) ціанокобаламіну для білих щурів дорівнює 37479 мг/м³.

Для визначення порогу гострої інгаляційної дії вивчали вплив ціанокобаламіну на організм білих щурів при інтраназальному надходженні у дозах, що відповідали концентраціям 1500 мг/м³, 300 мг/м³ та 60 мг/м³.

Встановлено, що однократний інгаляційний вплив ціанокобаламіну не викликав загибелі піддослідних тварин та клінічних симптомів інтоксикації за виключенням незначного зниження рухової активності впродовж 5-6 годин від початку експерименту.

У піддослідних тварин, яких піддавали впливу препарату в концентрації 1500 мг/м³, на 2 добу статистично достовірно зменшувався кольоровий показник крові на 7 %, середній вміст еритроцитів — на 6,6 %, вміст сульфгідрильних груп у сироватці крові збільшувався на 73,1 %. Крім того, спостерігалась тенденція до збільшення протромбінового індексу та зменшення протромбінового часу. Зміни решти досліджуваних показників були не достовірні.

Концентрації 300 мг/м³ та 60 мг/м³ не викликали достовірних змін значень усіх досліджуваних показників.

В якості порогової концентрації ціанокобаламіну (Lim_{ac}) при однократному інгаляційному впливові була прийнята концентрація 1500 мг/м³.

Для визначення кумулятивної активності ціанокобаламіну, речовину вводили білим щурам у вигляді водного розчину в дозах від 0,1 DL₅₀ (1000 мг/кг) до 1,12 DL₅₀, збільшуючи дозу в 1,5 раза кожні 4 доби.

Дослідження показали, що упродовж всього експерименту ціанокобаламін не викликав загибелі піддослідних тварин. У клінічній картині інтоксикації після 12-15 введення спостерігався збуджений стан, надалі — незначне пригнічення рухової активності. Коефіцієнт кумуляції перевищує 12,8 і свідчить про слабку кумулятивну активність ціанокобаламіну.

Сенсибілізацію мурчаків проводили за методом О.Г. Алексеевої, А.І. Петкевич [6] шляхом внутрішньошкірного введення 200 мкг (в 0,02 мл) ціанокобаламіну в зовнішню поверхню вуха. Контрольним тваринам вводили по 0,02 мл розчинника. Тестування проводили шляхом здійснення внутрішньошкірної проби, реакції РСЛЛ, визначення ряду неспецифічних показників крові.

Для визначення специфічності дії ціанокобаламіну на алергенну перебудову організму був проведений додатковий експеримент з інтраназальним введенням препарату мурчакам упродовж 1 місяця (5 разів на тиждень) в дозах, що відповідали концентраціям 10,0 мг/м³ та 1,0 мг/м³.

Після закінчення експерименту проводились кон'юнктивальні проби, дослідження інтегральних та специфічних показників крові.

Отримані результати свідчать про алергенну перебудову організму під впливом ціанокобаламіну. Поріг алергенної дії встановлений на рівні 1,0 мг/м³.

З метою визначення порогу хронічної інгаляційної дії вивчали вплив ціанокобаламіну при інтраназальному введенні в організм білих щурів у дозах, що відповідали концентраціям 1,0 мг/м³ та 0,1 мг/м³ (5 раз на тиждень, упродовж 4 місяців).

Характер біологічної дії ціанокобаламіну в хронічному експерименті полягав у впливові на систему крові. У піддослідних тварин, яких піддавали дії препарату в концентрації 1,0 мг/м³, спостерігалась тенденція до збільшення кількості еозинофілів у пери-

феричній крові, причому їх кількість, починаючи з 2 місяця експерименту, статистично достовірно збільшувалась на 26,9-50,8 % у порівнянні з контрольною групою. На 3 місяці відмічено статистично достовірне зменшення показника гематокриту (на 8 %). Крім того, спостерігалась тенденція до збільшення протромбінового індексу та зменшення протромбінового часу (статистично достовірні зміни на 2-4 місяцях відповідно на 12,4-40,1 % та 11-31,5 % у порівнянні з контролем). Окрім того відбувалось достовірне збільшення (на 10,9-44,8 %) вмісту сульфгідрильних груп у сироватці крові на 3-4 місяця експерименту, на 27,1-54,7 % — кількість циркулюючих імунних комплексів. Зміни решти досліджуваних показників були недостовірні.

У піддослідних тварин, яких піддавали дії препарату в концентрації 0,1 мг/м³, мала місце тенденція до збільшення протромбінового індексу та зменшення протромбінового часу (статистично достовірні зміни на 4 місяці відповідно на 13,7% та 12,1 % у порівнянні з контролем). Статистично достовірно збільшувалась (на 36,6 %) вміст сульфгідрильних груп у сироватці крові та на 39,5 % кількість циркулюючих імунних комплексів на 4 місяці експерименту. Зміни решти досліджуваних показників були недостовірні.

У відновному періоді (14 діб) у 2-х експериментальних групах за всіма досліджуваними показниками не

відмічались статистично достовірні зміни.

В якості порогової концентрації ціанокобаламіну (Lim_{ch}) при хронічному інгаляційному впливові була прийнята концентрація 0,1 мг/м³.

Гонадотоксичну дію ціанокобаламіну вивчали шляхом підшкірного введення препарату білим безпородним шурам у дозах 0,2 мг/кг, 0,008 мг/кг та 0,0008 мг/кг упродовж 72 діб. По закінченні експерименту проводили макроскопічні дослідження сім'яників (зовнішній огляд, вага, розміри), а також морфологічні показники сім'яродного епітелію (індекс сперматогенезу, сумарну кількість нормальних сперматогоній, кількість канальців зі злуцним епітелієм) та функціональний стан сперматозоїдів (час рухливості сперматозоїдів, кількість мертвих та патологічних форм сперматозоїдів, концентрацію сперматозоїдів, стан окисно-відновлювальних процесів у сперматозоїдах).

За результатами експерименту встановлено, що ціанокобаламін не має гонадотоксичної дії.

Для обґрунтування гранично допустимої концентрації був розрахований за методикою К.К Сидорова [10] коефіцієнт запасу. Загальна сума становила 22 бали (Lim_{ac} 1500,0 мг/м³ — 2 бали, Lim_{ch} 0,1 мг/м³ — 8 балів, Zch 15000,0 — 8 балів, КВР 1,6-4 бали), що відповідає коефіцієнту запасу 9.

Враховуючи параметри токсичності, експериментально встановле-

но поріг хронічної інгаляційної дії, значний обсяг річного виробництва препарату (більше 100 кг) ГДК ціанокобаламіну в повітрі робочої зони рекомендовано на рівні 0,05 мг/м³, аерозоль, I клас безпеки, з позначкою "потребує спеціального захисту шкіри та очей".

Висновки:

1. Ціанокобаламін (вітамін В₁₂) за критерієм гострої пероральної токсичності відноситься до 4 класу безпеки згідно з ГОСТ 12.1.007-76. Виразених розбіжностей у варіабельності видової та статевої чутливості тварин до препарату не виявлено. Володіє резорбтивно-токсичним ефектом і спричиняє слабку місцево-подразливу дію на шкіру та слизові оболонки. Кумулятивні властивості слабо виражені. Поріг гострої інгаляційної дії за загальнотоксичним ефектом знаходиться на рівні 1500 мг/м³, поріг хронічної інгаляційної дії становить 0,1 мг/м³. Володіє алергенними властивостями. Гонадотоксичний ефект відсутній.
2. На підставі експериментальних даних і проведених розрахунків гранично допустима концентрація ціанокобаламіну (вітаміну В₁₂) в повітрі робочої зони рекомендована на рівні 0,05 мг/м³, аерозоль, I клас безпеки, з позначкою "потребує спеціального захисту шкіри та очей".

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева, О.Г. Принципы нормирования химических аллергенов / О.Г. Алексеева, Н.И. Шумская // Принципы предельных допустимых концентраций. — М.: Медицина, 1970. — С.111-120.
2. Бельский М.П. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.П. Бельский. — Л., 1963. — 149 с.
3. МР Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования" [утв. МЗ СССР 10.07.1977, №1741-77]. — М., 1977. — 20 с.
4. МР Постановка исследований по гигиеническому нормированию промышленных аллергенов в воздухе рабочей зоны. [утв. МЗ СССР 23.01.1980, № 2121-80]. — Рига, 1980. — 22 с.
5. МУ к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны. [утв. МЗ СССР 01.08.1979, № 2163-80]. — М., 1980. — 20 с.
6. МУ по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны. [утв. МЗ СССР от 04.11.1985, № 4000-85]. — М., 1985. — 34 с.
7. МУ Оценка воздействия вредных химических веществ на кожные покровы и обоснование ПДУ загрязнения кожи" [утв. МЗ СССР 01.11.1979, № 2102-79]. — М., 1980. — 22 с.
8. МВ по обґрунтуванню гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць. [затв. МОЗ України 21.10.2005, № 544]. — К., 2005. — 19 с.
9. Трахтенберг И.М. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, О.В. Шефтель, Ф.А. Оникиенко. — М.: Медицина, 1978. — 176 с.
10. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. — Л. Медицина, 1973. — Вып. 13. — с. 47-51.
11. Lim R.K. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim, K.G. Rink, H.G. Glass, E.A. Soaje-Echague // Arch. Intern. Pharm. Ther. — 1961. — V. 130. — P. 336-352.
12. Maida A. Medicine Pracy / A. Maida., K. Chrusaielska — 1965. — Vol. XXXIV. — P. 321-396.
13. Van der Waerder B.Z. Wirksamkeit und Konzentrations. Bestimmung durch tierversuche/ B.Z. Van der Waerder// Arch exp Path. — 1940. — Bd. — 195. — S. 389-412.

Надійшла до редакції 16.06.2010