


МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 615.47:661.744.224
DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.13

Читать
онлайн 

ОСОБЕННОСТИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИИЗОНОНИЛФТАЛАТА И ЕГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЕ В ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛАХ И ИЗДЕЛИЯХ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

В.А. Грынчак, С.И. Сычик

Научно-практический центр гигиены, Республика Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Академическая, 8

Объектом экспериментальных исследований послужил диизононилфталат, который представляет собой изонониловый эфир фталевой кислоты на основе н-бутена (CAS № 28553-12-0).

Установлены особенности и закономерности токсического действия диизононилфталата на организм экспериментальных животных и научное обоснование регламента допустимого количества его миграции из полимерных материалов и изделий медицинского назначения.

Исследование проведено с применением комплекса токсикологических, физиологических, гематологических, биохимических, иммунологических, цитологических, цитогенетических, морфологических, органолептических, санитарно-химических и статистических методов. Впервые установлены особенности токсического действия диизононилфталата при внутрижелудочном введении белым крысам, которые характеризуются дозозависимыми токсическими эффектами на уровне целостного организма и отдельных его систем и органов с характерным нарушением комплекса функциональных и морфологических показателей, клеточной дифференцировки и увеличением количества клеток с изменением генетического аппарата.

Установлено, что общетоксическое и специфическое повреждающее действие диизононилфталата на эндокринную и репродуктивную системы организма экспериментальных животных проявляется нарушением функций щитовидной железы и гонад, эмбриогенеза и постнатального развития потомства. Выявлены в хроническом эксперименте количественные закономерности и характер проявлений токсического действия диизононилфталата, что позволило определить лимитирующие показатели и биологический маркер, а также установить величину порога вредного действия на организм, обосновать регламент допустимого количества его миграции из полимерных материалов и изделий медицинского назначения. Полученные результаты послужили основой для установления гигиенического норматива диизононилфталата, обеспечивающего гигиеническую оценку и безопасное обращение материалов и изделий медицинского назначения, изготовленных на полимерной основе с его содержанием.

Ключевые слова: диизононилфталат, пластификатор, токсичность, опасность, биологические эффекты, лабораторные животные, гигиенический норматив, медицинские изделия.

Современная политика по обеспечению безопасности от химических веществ направлена на снижение уровня риска для здоровья населения от воздействия опасных химических факторов, что определяет возрастающую значимость первичной профилактики и их гигиенического регламентирования в среде обитания [1, 2]. Особого внимания заслуживает проблема изучения безопасного применения в медицинской практике новых материалов и изделий на полимерной основе [3]. Одним из широко используемых материалов является поливинил-

хлорид (ПВХ), в производстве которого для придания изделиям эластичности и гибкости используются фталатные пластификаторы (ФП) – эфиры фталевой кислоты. В процессе эксплуатации изделий из ПВХ из-за отсутствия ковалентных связей пластификатора с молекулами полимера происходит миграция ФП в контактирующие с ними среды. Особую опасность представляет миграция фталатов из полимерных изделий медицинского назначения (контейнеры для хранения крови, трансфузионные системы, зонды, катетеры и др.), поскольку их пря-

© Грынчак В.А., Сычик С.И., 2020

Грынчак Виталий Александрович – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии (e-mail: grinchakva@gmail.com; тел.: 8 (017) 284-13-82; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4119-1793>).

Сычик Сергей Иванович – кандидат медицинских наук, доцент, директор (e-mail: rspch@rspch.by; тел.: 8 (017) 284-03-87; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-9799>).

тому воздействию подвергается внутренняя среда организма пациента¹ [4–7].

На протяжении многих лет в производстве полимерных изделий использовались низкомолекулярные ФП, среди которых основными являлись диоктилфталат (ДОФ) и дибутилфталат (ДФБ), обладающие высокой миграционной способностью [8, 9]. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют, что указанные фталаты при длительном воздействии вызывают выраженные токсические эффекты, поражая преимущественно репродуктивную и эндокринную системы [10–14]. В подходах к регулированию применения фталатов имеются национальные отличия, в том числе использование оценки риска здоровью, установление допустимых уровней миграции из изделий; при этом в ряде стран введен запрет и/или ограничение использования ДОФ и ДФБ.

Поиск альтернативных ФП с улучшенными технологическими характеристиками и низкой миграционной способностью привел к широкому использованию новых высокомолекулярных пластификаторов, среди которых особое место занимает диизононилфталат (ДИНФ), имеющий два изомера (CAS № 68515-48-0 и № 28553-12-0). Анализ литературных данных показывает, что изомер ДИНФ CAS № 28553-12-0, обладающий более разветвленной углеродной цепью и наиболее широко используемый в настоящее время в производстве ПВХ и изделий из него, не имеет полной токсикологической характеристики, не изучены закономерности его дозозависимого токсического и специфического действия на организм при длительной экспозиции, в том числе на эндокринную и репродуктивную системы, не обоснован безопасный уровень миграции из изделий медицинского назначения.

Цель исследования – установить особенности и закономерности токсического действия диизононилфталата на организм экспериментальных животных и научно обосновать регламент допустимого количества его миграции из полимерных материалов и изделий медицинского назначения.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на основании методических документов² на трех видах лабораторных животных: 106 белых

мышьях массой от 18 до 22 г, 352 рандомбредных белых крысах массой от 180 до 210 г и пяти белых кроликах массой от 4,2 до 4,5 кг.

В острых опытах параметры токсикометрии ДИНФ определяли при внутрижелудочном, внутрибрюшинном, эпикутанном и ингаляционном путях поступления в организм экспериментальных животных. Способность к кумуляции в субхроническом опыте изучали на белых крысах при введении в желудок ДИНФ в дозах от 100,0 до 10 000,0 мг/кг в течение 60 дней. В хроническом эксперименте продолжительностью шесть месяцев ДИНФ вводили внутрижелудочно белым крысам в диапазоне доз от 0,01 до 1000,0 мг/кг.

Исследования выполнены согласно Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123) и Правилам лабораторной практики (GLP). Лабораторных животных выводили из экспериментов, соблюдая требования Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1997).

Влияние ДИНФ на репродуктивную функцию проводили по методу, предложенному А.А. Динерман [15]. При помощи метода сагиттальных срезов, предложенного W. Wilson в модификации А.П. Дыбан [16], изучали наличие аномалий развития внутренних органов эмбрионов белых крыс. Установление раздражающего действия на неповрежденные кожные покровы и слизистые оболочки глаза, сенсibiliзирующее действие проведено в соответствии с инструкцией № 1.1.11–12–35–2004. Для оценки мутагенной активности использовали тест Эймса [17]. Метафазный анализ аберраций хромосом в клетках костного мозга и селезенки изучен на мышьях³. Состояние генетических структур лейкоцитов белых крыс исследовали в субхроническом и хроническом опытах в мазках, приготовленных по методу J.N. Mills [18]. Изучение органолептических и санитарно-химических показателей для определения лимитирующего признака вредности проведено в соответствии с инструкцией⁴.

Статистическая обработка полученных данных проведена общепринятыми методами анализа с ис-

¹ Руководство по разработке композиций на основе поливинилхлорида / под ред. Р.Ф. Гроссмана. – 2-е изд., перераб. – СПб.: Научные основы и технологии, 2009. – 608 с.

² Инструкция 2.1.5.11-10-199-2003. Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования / утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Республики Беларусь 12 декабря 2003 г. № 160 // Сборник санитарных правил и норм по питьевому водоснабжению. – Минск, 2005. – Ч. 2. – С. 120–167; Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ / утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 14 декабря 2004 г. – Минск, 2004. – 43 с.

³ Инструкция 055-1215. Определение мутагенного действия химической продукции (химических веществ и их смесей) / утв. гл. гос. санитар. врачом Республики Беларусь 30 августа 2016 г.; под ред. Е.С. Юркевич [и др.]. – Минск: Науч.-практ. центр гигиены, 2015. – С. 10–15.

⁴ Инструкция 1.1.10-12-41-2006. Гигиеническая оценка изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления / утв. постановлением гл. гос. санитар. врача Республики Беларусь 22 ноября 2006 г. № 155 // Сборник нормативных документов по разделу токсикологии. – Минск, 2007. – Ч. 3. – С. 27–93.

пользованием компьютерных программ MS Excel, Statistica 10. Статистически значимыми различия между контрольными и опытными группами считались при $p < 0,05$.

Полученные экспериментальные данные о токсических свойствах ДИНФ могут использоваться при установлении параметров безопасности по критериям допустимого риска для здоровья.

Результаты и их обсуждение. В острых опытах при внутрижелудочном введении ДИНФ подопытным животным обоего пола в максимальном возможных по объему введения дозах симптомы интоксикации и летальные исходы не зарегистрированы. Аналогичные результаты получены при внутрибрюшинном введении и нанесении ДИНФ на кожу. Потенциальная ингаляционная опасность развития острого отравления из-за низкой летучести соединения в опытах на мышах не установлена. Отсутствие смертельных эффектов в указанных сериях опытов не позволило рассчитать среднесмертельные дозы и концентрации (таблица).

Параметры острой токсичности ДИНФ

Показатель	Вид животных	Величина, мг/кг	Классификационная оценка
Средняя смертельная доза при введении в желудок	Крысы	>5000,0	IV класс опасности, вещества малоопасные ⁵
	Мыши		
Средняя смертельная доза при нанесении на кожу	Крысы	>2500,0	
Средняя смертельная доза при внутрибрюшинном введении	Крысы	>3000,0	
	Мыши		

При однократном эпикутанном воздействии ДИНФ на неповрежденные кожные покровы и слизистые оболочки глаза лабораторных животных раздражающее действие не выявлено. В опытах на модели воспроизведения и выявления гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей сенсибилизирующее действие ДИНФ не обнаружено.

При повторном двухмесячном внутрижелудочном введении белым крысам в дозах 10 000,0, 1000,0 и 100,0 мг/кг ДИНФ не проявлял кумулятивные свойства на уровне смертельных эффектов, но оказывал общетоксическое действие политропного характера. Нарушение состояния нервной системы проявилось изменением у опытных животных двигательной активности в виде снижения показателя «Проход по секторам» при введении дозы 10 000,0 мг/кг в 2,9 раза и возрастанию его при дозе 100,0 мг/кг в 1,8 раза, $p < 0,05$. Анализ показателей периферической крови опытных крыс при воздействии дозы 10 000,0 мг/кг выявил признаки железодефи-

цитной анемии: эритропению, снижение гематокрита, объема эритроцитов, содержания и концентрации гемоглобина в эритроците, которые сопровождались статистически значимым снижением содержания сывороточного железа в 3,0 раза при максимальной дозе и 2,4 раза при десятикратном ее снижении по сравнению с животными контрольной группы.

Нарушения минерального обмена в субхроническом эксперименте при введении ДИНФ крысам в дозах 10 000,0 и 1000,0 мг/кг проявлялись снижением содержания кальция сыворотки крови в 1,2–1,4 раза ($p < 0,05$) за счет усиленной его экскреции с мочой в 5,2–8,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Противоположная картина отмечалась в содержании фосфора – рост уровня в крови на 30,6–33,3 % ($p < 0,05$) при снижении его выведения с мочой в 2,3–9,1 раза при сравнении с контрольными животными ($p < 0,05$); это относилось ко всем испытанным дозам.

На нарушение функционального состояния почек при повторном введении ДИНФ в диапазоне испытываемых доз указывают статистически значимое увеличение у опытных крыс диуреза в 1,9–3,9 раза и снижение содержания мочевой кислоты в 2,5–4,2 раза, мочевины – в 1,5–2,1 раза, креатинина – в 2,0–3,1 раза по отношению к контролю. При воздействии ДИНФ на уровне 10 000,0 мг/кг установлено у опытных животных уменьшение ОКМ почек в 1,2 раза ($p < 0,05$) и усиление экскреции магния с мочой в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Указанные изменения сопровождались структурными нарушениями почек в виде дистрофических и воспалительных процессов.

При статистической обработке результатов анализа ферментативной активности сыворотки крови белых крыс при введении изученных доз ДИНФ выявлено увеличение уровня гамма-глутамилтранспептидазы на 12,5–17,6 % ($p < 0,05$), снижение аспарагиновой аминотрансферазы в 1,5 раза и повышение α -амилазы в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$.

При проведении морфологических исследований печени у опытных крыс обнаружены дистрофические изменения гепатоцитов, признаки межлочечного гепатита и увеличение относительного коэффициента массы (ОКМ) органа в 1,2–1,6 раза ($p < 0,05$) при дозах ДИНФ 10 000,0 и 1000,0 мг/кг. Со стороны селезенки наблюдалась гиперплазия лимфоидных фолликулов белой пульпы, полнокровие и реактивная пролиферация красной пульпы на фоне увеличения ОКМ органа в 1,4 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю. Морфологически выявлены у опытных крыс также признаки гастрита и интерстициального панкреатита.

Анализ показателей гормонального статуса опытных животных при субхроническом пероральном воздействии ДИНФ в диапазоне доз от 10 000,0 до 100,0 мг/кг не выявил статистически значимых

⁵ ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (введ. 01.01.1977). – Минск: БелГИСС, 2008. – 8 с.

изменений. Однако при проведении морфологических и морфометрических исследований у них обнаружено дозозависимое снижение диаметра фолликулов щитовидной железы в 1,3–2,3 раза ($p < 0,05$) с признаками развития диффузного токсического зоба, гиперплазия коркового вещества надпочечников с увеличением толщины коры в 1,3–1,8 раза при $p < 0,05$.

Цитогенетический анализ периферической крови опытных крыс после завершения субхронического эксперимента выявил увеличение количества лейкоцитов с морфологическими признаками некротической гибели, которое в 5,1–6,1 раза превышало контрольные показатели ($p < 0,05$) при воздействующих дозах ДИНФ на уровне 10 000,0 и 1000,0 мг/кг.

На протяжении 180-дневного опыта на белых крысах (одна контрольная и шесть опытных групп) при внутрижелудочном введении ДИНФ в дозах от 0,01 до 1000,0 мг/кг внешние признаки интоксикации и поведенческие нарушения отсутствовали. По окончании эксперимента выявлены проявления токсического действия ДИНФ полисистемного характера, степень выраженности которых зависела от вводимых доз. Так, в диапазоне доз от 1000,0 до 1,0 мг/кг у опытных крыс по сравнению с контролем установлены статистически значимые изменения показателей периферической крови: лейкопения, снижение лимфоцитов – в 1,5–2,0 раза, моноцитов – в 1,3–1,4 раза, гранулоцитов – в 1,5–1,6 раза, уменьшение средней концентрации гемоглобина в эритроцитах на 5,0–5,8 %, среднего объема тромбоцита – на 7,9–13,3 % и тромбоцитоз при дозе 1000,0 мг/кг.

О проявлении нефротоксического действия ДИНФ в дозах от 1000,0 до 0,1 мг/кг свидетельствует установленное у опытных крыс снижение выведения с мочой железа, наличие глюкозурии и морфологические изменения почек в виде дистрофии эпителия проксимальных канальцев с признаками межзубчатого нефрита. Обращает на себя внимание характерная усиленная экскреция магния из организма, содержание которого в моче животных всех опытных групп превышало уровень контроля в 2,0–3,3 раза ($p < 0,05$) при введении всех испытанных доз от 1000,0 до 0,01 мг/кг.

При анализе биохимических показателей сыворотки крови опытных белых крыс при воздействующих дозах ДИНФ от 1000,0 до 10,0 мг/кг выявлено статистически значимое снижение содержания железа в 2,1–5,4 раза, фосфора – в 1,2–1,4 раза и увеличение уровня кальция в 2,0 раза при $p < 0,05$ по сравнению с контрольными животными.

Показателями токсического действия ДИНФ на функцию печени в дозах 1000,0 и 100,0 мг/кг явилось снижение ОКМ органа на 19,1 и 15,8 % ($p < 0,05$), уменьшение в сыворотке крови содержания липопротеинов высокой плотности на 7,1 и 8,3 % ($p < 0,05$) соответственно и рост уровня мочевины в 1,2 раза ($p < 0,05$), признаки интерстициального гепатита и дистрофические изменения гепатоцитов.

Со стороны гормонального статуса белых крыс при воздействии ДИНФ в дозах от 1000,0 до 1,0 мг/кг наиболее выраженные изменения установлены со сто-

роны содержания тироксина и тиреотропного гормона, уровни которых в сыворотке крови возросли в 2,1–3,3 и в 1,8–2,5 раза соответственно по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Увеличение содержания свободного тироксина оказалось статистически значимым только при введении доз от 10,0 мг/кг и более, а свободного трийодтиронина – 1000,0 мг/кг. Патоморфологические нарушения щитовидной железы у опытных лабораторных животных при воздействующих дозах ДИНФ от 1000,0 до 1,0 мг/кг характеризовались увеличением размеров фолликулов и изменением их эпителия, которые отсутствовали при снижении уровней воздействия препарата.

Проявлением антиандрогенной активности ДИНФ в диапазоне доз от 1000,0 до 1,0 мг/кг явилось достоверное снижение в сыворотке крови опытных животных концентрации тестостерона в 2,6–3,9 раза и тенденция к увеличению уровней прогестерона, эстрадиола, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов при $p \geq 0,05$ в сравнении с данными контрольных животных.

Изменений в содержании в сыворотке крови опытных животных кортизола и дегидроэпиандростерона, гормонов коры надпочечников не обнаружено. При морфометрических исследованиях выявлено увеличение у опытных крыс коркового слоя надпочечников в 3,0–3,8 раза ($p < 0,05$) и ОКМ органа при дозе 1000,0 мг/кг в 1,6 раза при $p < 0,05$. Изменений гормонального статуса белых крыс при введении ДИНФ многократно в дозе 0,1 мг/кг не выявлено, что позволяет принять ее в качестве недействующей по специфическому признаку.

Нарушений со стороны неспецифического гуморального иммунитета по содержанию компонентов комплемента (C_3 , C_4) и иммуноглобулинов А, G, М в сыворотке крови белых крыс при введении ДИНФ во всех сериях опытов не установлено.

При морфологических исследованиях слизистой желудка и поджелудочной железы крыс при воздействии ДИНФ в дозах от 1000,0 до 1,0 мг/кг обнаружены признаки реактивной гиперплазии эпителия пищеводной части и формирование хронического гастрита с прогрессирующим увеличением толщины многослойного плоского эпителия слизистой желудка в 1,2–1,4 раза ($p < 0,05$), зарегистрированы проявления интерстициального панкреатита с гиперплазией островков Лангерганса.

При проведении цитогенетического анализа лейкоцитов крови опытных крыс по окончании хронического эксперимента установлена способность ДИНФ в дозах от 1000,0 до 1,0 мг/кг вызывать различные повреждающие эффекты генетических структур в виде усиления процессов клеточной пролиферации с одновременным ростом количества микроядер и клеток с признаками некроза при снижении содержания молодых форм.

Следовательно, результаты комплексных клинико-биохимических, морфологических, морфометрических и цитогенетических исследований свидетельствуют, что в условиях хронического внутриже-

лудочного воздействия дозы ДИНФ от 1000,0 до 0,1 мг/кг являются действующими по общетоксическому влиянию на организм. В качестве величины порога хронического действия может быть принята доза 0,01 мг/кг, лимитирующим показателем которой является нефротоксический эффект по экскреции магния с мочой (биологический маркер). Проявление токсического действия на эндокринную систему выявлено при поступлении ДИНФ в организм экспериментальных животных в дозах, превышающих порог хронического действия в сто раз.

Экспериментальное изучение отдаленных эффектов влияния ДИНФ на организм включало изучение репродуктивной токсичности (эмбриотропное, тератогенное и гонадотропное действие), а также наличие мутагенных и цитотоксических свойств.

Воздействие ДИНФ при внутрижелудочном введении в дозе 10 000,0 мг/кг во время беременности вызвало статистически значимое увеличение в 3,5 раза общей эмбриональной и постимплантационной смертности до 29 %, наличие множественных (сочетанных) пороков развития.

При снижении вводимых доз ДИНФ до 100,0 мг/кг наблюдалось уменьшение числа аномалий развития эмбрионов (микрофтальмия у 4,8 %), которые отсутствовали при дозе 10,0 мг/кг.

При наблюдении за процессом постнатального развития потомства, полученного от самок белых крыс, перенесших интоксикацию ДИНФ в период беременности в дозе 10 000,0 мг/кг, обнаружено увеличение смертности крысят на 22,7 % ($p < 0,05$). Изучение гормонального статуса потомства (самцы) на 60-е сутки опыта при дозах ДИНФ на уровне 1000,0 и 100,0 мг/кг выявило нарушение функционального состояния щитовидной железы и гонад, что проявилось ростом в сыворотке крови уровней общего тироксина в 2,0 и 2,3 раза ($p < 0,05$) и тиреотропного гормона в 2,1 и 2,3 раза ($p < 0,05$), а также снижением концентрации тестостерона в 2,3 и 2,9 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю соответственно. При этом морфофункциональные показатели гонад самцов крыс (ОКМ семенников и придатков, концентрация общая, подвижных и неподвижных сперматозоидов, средняя скорость подвижных сперматозоидов) оставались без существенных изменений [20, 21].

Изучение воздействия на гонады в опытах на половозрелых самцах белых крыс после двухмесячного введения в желудок ДИНФ в дозах от 10 000,0 до 100,0 мг/кг и шестимесячного в дозах от 1000,0 до 0,01 мг/кг нарушений функциональных показателей сперматозоидов не установлено. Однако при морфологическом исследовании семенников через 60 дней воздействия выявлено снижение у опытных крыс сперматогенеза и уменьшение размеров семенных канальцев со снижением послойности и клеточности, при этом сперматогенез завершался стадией сперматоцитов и сперматид. Аналогичные изменения установлены при увеличении периода воздействия ДИНФ в дозах от 1000,0 до 1,0 мг/кг до шести месяцев. При максимально испытанной дозе

препарата количество зрелых сперматозоидов в семенных канальцах опытных крыс снижалось в 5,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Следовательно, экспериментальным путем установлена причинно-следственная связь нарушений репродуктивной функции организма белых крыс при воздействии ДИНФ в зависимости от вводимых доз, причем недействующей дозой препарата является 0,1 мг/кг.

Результаты оценки мутагенной активности ДИНФ в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium TA 98*, *TA 100*, *TA 1535*, *TA 97* и *TA 102* в концентрациях 0,3; 0,6; 1,3; 2,5 и 5,0 мг/мл в вариантах без метаболической активации и с наличием таковой указывают на отсутствие мутагенного действия. При анализе цитогенетических препаратов костного мозга и селезенки спустя 24 ч после однократного внутрибрюшинного введения белым мышам в дозе 2000,0 мг/кг увеличения аберраций хромосом не выявлено. Различий между опытной и контрольной группами животных по числу клеток с признаками апоптоза (интерфазный тип гибели) и числу полиплоидов в костном мозге не установлено. Однако в селезенке опытных белых мышей обнаружено статистически значимое снижение в 5,0 раза количества клеток с признаками апоптоза и увеличение в 4,0 раза числа полиплоидов по сравнению с контрольными данными ($p < 0,05$).

Таким образом, при однократном внутрибрюшинном введении белым мышам ДИНФ не проявлял мутагенных свойств по числу хромосомных аберраций, но приводил к изменению процессов деления, дифференцировки и гибели клеток селезенки. Это может быть обусловлено тем, что цитотоксическому действию ДИНФ в наибольшей степени подвержены активно пролиферирующие клетки организма теплокровных животных, в том числе эмбриональные, что может являться одним из возможных механизмов его эмбриотоксического (тератогенного) действия. Выявленное влияние на репродуктивную и эндокринную системы носит вторичный характер в результате повреждающего действия ДИНФ на организм вследствие формирования структурных и функциональных изменений в клетке.

Показателем безопасности материалов и изделий медицинского назначения на полимерной основе является допустимое количество миграции ДИНФ в модельные среды (дистиллированная вода). Расчет регламента выполнен в соответствии с методическими подходами по обоснованию гигиенических нормативов химических веществ в водной среде с определением лимитирующего критерия вредности по органолептическим, общесанитарным и токсикологическим показателям.

Изучали влияние ДИНФ на регламентированные органолептические и общесанитарные показатели воды при его максимально достижимой концентрации в воде, которая составляет 0,6 мг/дм³. При указанной концентрации влияние ДИНФ на запах, привкус, мутность, цветность, пенообразова-

ние, перманганатную окисляемость, бромлируемость и другие показатели воды не обнаружено, то есть испытанная концентрация является недействующей.

В то же время в хроническом эксперименте на белых крысах, в котором исследовали токсическое действие ДИНФ при внутрижелудочном введении, по лимитирующему показателю нефротоксического действия установлена пороговая доза, равная 0,01 мг/кг.

Максимальная недействующая концентрация, рассчитанная по токсическому критерию вредности с учетом коэффициента запаса – 10, средней массы человека и объема суточного водопотребления, составила 0,02 мг/дм³. Однако определение данной концентрации ДИНФ в модельных средах не представляется возможным (так как чувствительность современного метода его контроля составляет 0,05 мг/дм³)⁶. В связи с этим обоснован и утвержден регламент допустимого количества миграции ДИНФ со значением «Не допускается» (<0,05 мг/дм³), что обеспечивает санитарно-гигиенический контроль и безопасное обращение материалов и изделий медицинского назначения, изготовленных на полимерной основе с его содержанием.

Выводы. В результате проведения комплексных токсиколого-гигиенических исследований дана полная токсикологическая оценка ДИНФ в острых, субхронических и хронических опытах при внутрижелудочном

поступлении в организм экспериментальных животных. Установлен политропный характер общетоксического дозозависимого действия ДИНФ на органно-тканевом уровне и специфическое повреждающее действие на эндокринную и репродуктивную системы экспериментальных животных. В хронических экспериментах выявлены количественные закономерности и характер проявлений токсического действия ДИНФ, определены нефротоксический лимитирующий показатель и биологический маркер порога его ведущего вредного действия на организм. По критерию токсичности обоснован и утвержден регламент допустимого количества миграции ДИНФ из полимерных материалов, обеспечивающий гигиеническую оценку и безопасное обращение материалов и изделий медицинского назначения, изготовленных на полимерной основе с его содержанием.

Полученные особенности и закономерности токсического действия ДИНФ могут использоваться для определения референтных уровней безопасности по критериям допустимого риска для здоровья.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Онищенко Г.Г. Химическая безопасность – важнейшая составляющая санитарно-эпидемиологического благополучия населения // Токсикологический вестник. – 2014. – Т. 124, № 1. – С. 2–6.
2. Основные итоги деятельности республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены»: 2011 г. – 1 полугодие 2016 г. / С.И. Сычик, Л.М. Шевчук, С.Л. Итпаева-Людчик, Н.А. Ивко // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / под ред. С.И. Сычика. – Минск: Научно-практический центр гигиены, 2017. – Т. 26. – С. 290–294.
3. Потенциальный риск для здоровья фталатных пластификаторов поливинилхлорида (современные аспекты) / Г.М. Балан, Т.Ф. Харченко, В.Н. Левицкая, С.С. Исаева, О.А. Харченко, Н.Н. Бубало, Л.И. Порякель // Украинский журнал современных проблем токсикологии. – 2013. – № 1–2. – С. 38–47.
4. The association between biomarker-based exposure estimates for phthalates and demographic factors in a human reference population / J.W. Koo, F. Parham, M.C. Kohn, S.A. Masten, J.W. Brock, L.L. Needham, C.J. Portier // Environmental Health Perspectives. – 2002. – Vol. 110, № 4. – P. 405–410. DOI: 10.1289/ehp.02110405
5. Предлагаемая стратегия, направленная на усиление вовлеченности сектора здравоохранения в осуществление Стратегического подхода: доклад междунар. конф. по регулированию химических веществ о работе ее третьей сессии. – Найроби, Кения: Программа ООН по окружающей среде (ЮНЕП), 2012. – С. 72–85.
6. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals / A.C. Gore, V.A. Chappell, S.E. Fenton, J.A. Flaws, A. Nadal, G.S. Prins, J. Toppari, R.T. Zoeller // Endocrine Reviews. – 2015. – Vol. 36, № 6. – E1–E150. DOI: 10.1210/er.2015-1010
7. Endocrine Disrupting Chemicals-2012: Summary for Decision-Makers / In: Å. Bergman, J.J. Heindel, S. Jobling, K.A. Kidd, R.T. Zoeller eds. – Geneva: World Health Organization, 2013. – 38 p.
8. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the Endocrine Society / R.T. Zoeller, T.R. Brown, L.L. Doan, A.C. Gore, N.E. Skakkebaek, A.M. Soto, T.J. Woodruff, F.S. Vom Saal // Endocrinology. – 2012. – Vol. 153, № 9. – P. 4097–4110. DOI: 10.1210/en.2012-1422
9. Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014. – Geneva: World Health Organization, 2014. – 299 p.
10. The European health report 2012: charting the way to well-being [Электронный ресурс] // World Health Organization. – 2013. – URL: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0004/197113/EHR2012-Eng.pdf (дата обращения: 20.02.2019).
11. Лазарева В.А., Кучугурный В.Е., Бортникова Е.А. Пластификаторы: маркетинговый обзор. – Черкассы: ГП «Черкасский НИИТЭХИМ», 2011. – 478 с.
12. Эпидемиологические, токсикологические и молекулярно-генетические аспекты разрушителей эндокринной системы в проблеме химической безопасности / О.О. Синицына, Ю.А. Рахманин, З.И. Жолдакова, М.Г. Аксенова, А.В. Кириллов, С.Г. Бурд, И.И. Ильюкова // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 3. – С. 197–203.

⁶ ГОСТ Р ИСО 14389-2016. Материалы текстильные. Определение содержания фталатов. Метод с применением тетрагидрофурана (введ. 01.04.2017). – М.: Стандартинформ, 2016. – 16 с.; Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ / утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 14 декабря 2004 г. – Минск, 2004. – 43 с.

13. European Union Risk Assessment Report 1,2-benzenedicarboxylic acid, di-C8-10-branched alkyl esters, C9-rich and di-isononyl phthalate (DINP). Risk assessment. – Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2003. – 302 p.
14. Evaluation of new scientific evidence concerning DINP and DIDP in relation to entry 52 of Annex XVII to REACH Regulation (EC) No 1907/2006: Final review report. – Helsinki: European Chemicals Agency, 2013. – 369 p.
15. Динерман А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития: монография. – М.: Медицина, 1980. – 192 с.
16. Дыбан А.П., Баранов В.С., Акимов И.М. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1970. – Т. 59, № 10. – С. 89–100.
17. Mortelmans K., Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay // Mutation Research. – 2000. – Vol. 455, № 1–2. – P. 29–60. DOI: 10.1016/s0027-5107(00)00064-6
18. Mills J.N. Interpreting blood smears (or What blood smears are trying to tell you!) // Australian veterinary journal. – 1998. – Vol. 76, № 9. – P. 596–600. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1998.tb10235.x
19. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ: сборник статей. – М.: Медицина, 1973. – Вып. 13. – С. 47–51.
20. Грынчак В.А., Сычик С.И. Особенности токсического действия пластификатора диизонилфталата на экспериментальных моделях // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 5. – С. 474–477.
21. Особенности эмбриотоксического действия диизонилфталата в экспериментах на лабораторных животных / В.А. Грынчак, С.И. Сычик, Е.К. Власенко, И.И. Ильюкова, В.Ю. Афонин // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 17, № 4. – С. 72–77.

Грынчак В.А., Сычик С.И. Особенности токсического действия диизонилфталата и его регламентирование в полимерных материалах и изделиях медицинского назначения // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 1. – С. 118–125. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.13

UDC 615.47:661.744.224
DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.13.eng



PECULIARITIES OF TOXIC EFFECTS PRODUCED BY DIISONONYL PHTHALATE AND REGULATION OVER IT IN POLYMER MATERIALS AND MEDICAL PRODUCTS

V.A. Hrynychak, S.I. Sychik

Scientific Practical Centre of Hygiene, 8 Akademicheskaya Str., Minsk, 220012, Belarus

We chose diisononyl phthalate as our experimental research object; this compound is an isononyl ester of phthalic acid based on n-butene (CAS No. 28553-12-0).

Our research goal was to establish peculiarities and regularities related to toxic effects produced by diisononyl phthalate on experimental animals' bodies and give scientific substantiation for fixing its permissible quantities that could migrate from polymer materials and medical products.

We accomplished our research applying a set of toxicological, physiological, hematologic, biochemical, immunologic, cytogenetic, morphological, organoleptic, sanitary-chemical, and statistical techniques. We were the first to establish peculiarities of toxic impacts exerted by diisononyl phthalate after intragastric introduction into white rats. Those impacts were dose-dependent toxic effects produced both on a whole body and specific organs and systems with typical disorders in functional and morphological parameters, cell differentiation, and an increase in number of cells with changes in their genetic apparatus.

We revealed that overall toxic effects as well as specific damaging ones produced by diisononyl phthalate on the endocrine and reproductive systems in experimental animals' bodies became apparent via functional disorders in the thyroid gland and gonads, embryogenesis, and offspring post-natal development. A chronic experiment allowed us to determine quantitative regularities and how toxic effects produced by diisononyl phthalate manifested themselves; so we were able to determine limiting parameters and a biological marker as well as fix a threshold of its hazardous impacts on a body, and substantiate fixing permissible quantities that could migrate from polymer materials and medical products. Our experiment results gave grounds for creating a hygienic standard for diisononyl phthalate that provided hygienic assessment and safe distribution of materials and medical products made of polymers that contained the compound.

Key words: diisononyl phthalate, plasticizer, toxicity, hazard, biological effects, laboratory animals, hygienic standard, medical products.

© Hrynychak V.A., Sychik S.I., 2020

Vitaly A. Hrynychak – Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher, Laboratory for Preventive and Environmental Toxicology (e-mail: grinchakva@gmail.com; tel.: +7 (017) 284-13-82; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4119-1793>).

Sergey I. Sychik – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Director (e-mail: rspch@rspch.by; tel.: +7 (017) 284-03-87; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-9799>).

References

1. Onishchenko G.G. Chemical safety is the most important constituent of the sanitary and epidemiological well-being of population. *Toksikologicheskii vestnik*, 2014, vol. 124, no.1, pp. 2–6 (in Russian).
2. Sychik S.I., Shevchuk L.M., Itpaeva-Lyudchik S.L., Ivko N.A. Osnovnye itogi deyatelnosti respublikanskogo unitarnogo predpriyatiya «Nauchno-prakticheskii tsentr gigieny»: 2011 g. – 1 polugodie 2016 g. [Basic results of activities performed by the Republican Scientific and Practical Center for Hygiene over 2011 – the 1st half of 2016]. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda: sbornik nauchnykh trudov*. In: S.I. Sychik ed. Minsk, Nauchno-prakticheskii tsentr gigieny, 2017, vol. 26, pp. 290–294 (in Russian).
3. Balan G.M., Kharchenko T.F., Levitskaya V.N., Isaeva S.S., Kharchenko O.A., Bubalo N.N., Povyakel' L.I. Potentsial'nyi risk dlya zdorov'ya ftalatnykh plastifikatorov polivilkhlorida (sovremennye aspekty) [Potential health risk caused by phthalate plasticizers based on polyvinyl chloride (contemporary aspects)]. *Ukrainskii zhurnal sovremennykh problem toksikologii*, 2013, no. 1–2, pp. 38–47 (in Russian).
4. Koo J.W., Parham F., Kohn M.C., Masten S.A., Brock J.W., Needham L.L., Portier C.J. The association between biomarker-based exposure estimates for phthalates and demographic factors in a human reference population. *Environmental Health Perspectives*, 2002, vol. 110, no. 4, pp. 405–410. DOI: 10.1289/ehp.02110405
5. Predlagaemaya strategiya, napravlenaya na usilenie vovlechenosti sektora zdravookhraneniya v osushchestvlenie Strategicheskogo podkhoda [A proposed strategy aimed at making public healthcare structures more involved into Strategic approach implementation]. *Doklad Mezhdunarodnoi konferentsii po regulirovaniyu khimicheskikh veshchestv o rabote ee tret'ei sessii*. Nairobi, Keniya: Programma OON po okruzhayushchei srede (UNEP), 2012, pp. 72–85 (in Russian).
6. Gore A.C., Chappell V.A., Fenton S.E., Flaws J.A., Nadal A., Prins G.S., Toppari J., Zoeller R.T. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, 2015, vol. 36, no. 6, pp. E1–E150. DOI: 10.1210/er.2015-1010
7. Endocrine Disrupting Chemicals-2012: Summary for Decision-Makers. In: Å. Bergman, J.J. Heindel, S. Jobling, K.A. Kidd, R.T. Zoeller eds. Geneva, World Health Organization, 2013, 38 p.
8. Zoeller R.T., Brown T.R., Doan L.L., Gore A.C., Skakkebaek N.E., Soto A.M., Woodruff T.J., Vom Saal F.S. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology*, 2012, vol. 153, no. 9, pp. 4097–4110. DOI: 10.1210/en.2012-1422
9. Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014. Geneva, World Health Organization, 2014, 299 p.
10. The European health report 2012: charting the way to well-being. *World Health Organization*, 2013. Available at: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0004/197113/EHR2012-Eng.pdf (20.02.2019).
11. Lazareva V.A., Kuchugurnyi V.E., Bortnikova E.A. Plastifikatory: marketingovyi obzor [Plasticizers: a marketing review]. Cherkassy, GP «Cherkasskii NIITEKhIM» Publ., 2011, 478 p. (in Russian).
12. Sinitsyna O.O., Rakhmanin Yu.A., Zholdakova Z.I., Aksenova M.G., Kirillov A.V., Burd S.G., Il'yukova I.I. Epidemiological, toxicological and molecular-genetic aspects of endocrine disrupting chemicals in the chemical safety problem. *Gigiena i sanitariya*, 2018, vol. 97, no. 3, pp. 197–203 (in Russian).
13. European Union Risk Assessment Report 1,2-benzenedicarboxylic acid, di-C8-10-branched alkyl esters, C9-rich and di-isononyl phthalate (DINP). Risk assessment. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities, 2003, 302 p.
14. Evaluation of new scientific evidence concerning DINP and DIDP in relation to entry 52 of Annex XVII to REACH Regulation (EC) No 1907/2006: Final review report. Helsinki, European Chemicals Agency, 2013, 369 p.
15. Dinerman A.A. Rol' zagryaznitelei okruzhayushchei sredy v narushenii embrional'nogo razvitiya: monografiya [Role played by environmental contaminants in embryonic development disorders: a monograph]. Moscow, Meditsina Publ., 1980, 192 p. (in Russian).
16. Dyban A.P., Baranov V.S., Akimov I.M. Osnovnye metodicheskie podkhody k testirovaniyu teratogennoi aktivnosti khimicheskikh veshchestv [Basic methodical approaches to testing teratogenic effects produced by chemicals]. *Arkhiv anatomii, gistologii i iembriologii*, 1970, vol. 59, no. 10, pp. 89–100 (in Russian).
17. Mortelmans K., Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 2000, vol. 455, no. 1–2, pp. 29–60. DOI: 10.1016/s0027-5107(00)00064-6
18. Mills J.N. Interpreting blood smears (or What blood smears are trying to tell you!). *Australian veterinary journal*, 1998, vol. 76, no. 9, pp. 596–600. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1998.tb10235.x
19. Sidorov K.K. O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya [On classifying toxicity of poisons under parenteral introduction]. *Toksikologiya novykh promyshlennykh khimicheskikh veshchestv: sbornik statei*. Moscow, Meditsina Publ., 1973, vol. 13, pp. 47–51 (in Russian).
20. Grynchak V.A., Sychik S.I. Peculiarities of the toxic effect of diisononyl phthalate plasticizer phthalate on experimental models. *Gigiena i sanitariya*, 2018, vol. 97, no. 5, pp. 474–477 (in Russian).
21. Grynchak V.A., Sychik S.I., Vlasenko E.K., Il'yukova I.I., Afonin V.Yu. The Peculiarities of the Embryotoxic Action of Diisononyl Phthalate in Experiments on Laboratory Animals. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2018, vol. 17, no. 4, pp. 72–77 (in Russian).

Hrynychak V.A., Sychik S.I. Peculiarities of toxic effects produced by diisononyl phthalate and regulation over it in polymer materials and medical products. Health Risk Analysis, 2020, no. 1, pp. 118–125. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.13.eng

Получена: 23.09.2019

Принята: 03.02.2020

Опубликована: 30.03.2020