

НЕФРОТОКСИЧНОСТЬ ХЛОРОФОРМА (БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

Н. Г. Курышева, Л. Л. Копылова
(Новосибирский НИИ гигиены),
Н. И. Цырельников (ИКЭМ СО АМН)

Широкое использование хлороформа (трихлорметана) в народном хозяйстве делает актуальной проблему изучения токсических свойств этого препарата.

В настоящее время имеется ряд исследований, посвященных изучению механизма нефротоксичности хлороформа. По гепатотоксическим свойствам хлороформ заметно уступает четыреххлористому углероду, а по способности вызывать поражение почек у животных нет равного хлороформу среди галогенпроизводных группы метана [1, 2]. В связи с использованием хлороформа в качестве наркотика отмечается его токсическое влияние также на почки человека [3].

Однако, исследования нефротоксических свойств хлороформа проводились в острых опытах с использованием довольно значительных доз. Целью настоящего исследования явилось изучение функции почек при длительном воздействии.

Исследования проводили на белых крысах-самцах, которые подвергались затравке хлороформом в 250-литровых камерах, в концентрациях 10,0; 5,0; 0,35 мг/м³ по 4 часа ежедневно, в течение 4 месяцев. Для определения порога острого действия были испытаны концентрации хлороформа: 2.000; 1.000; 400; 200; 50 мг/м³.

Концентрации хлороформа контролировались газохроматографическим способом. О функции почек судили по содержанию в сыворотке крови мочевины и катионов натрия и калия. Кроме того, почки животных, подвергавшихся длительным затравкам, фиксировались в 12%-ном формалине на фосфатном буфере, заливались в парафин и обрабатывались по общепринятому методу в автомате АТ-4. Морфологическую структуру ткани изучали на срезах, окрашенных гематоксилин-эозином.

Как показали исследования, хлороформ в концентрациях 2.000 мг/м³ при однократном воздействии вызывал нарушение канальцевой функции почек, которое проявлялось в потере катионов натрия и увеличении содержания мочевины в сыворотке крови. Максимум действия проявлялся через 6 и

12 часов после 4-часовой экспозиции и совпадал по времени с максимумом гепатотоксического действия хлороформа, о котором судили по выходу в кровяное русло органоспецифических ферментов. При однократном воздействии явления почечной недостаточности не были стойкими: через 48 часов после экспозиции наблюдалась нормализация этих биохимических показателей.

Хлороформ в концентрации 1.000 мг/м^3 вызывал более значительное увеличение содержания мочевины в сыворотке крови. В данном случае содержание мочевины увеличивалось на 75% по сравнению с 42% в эксперименте с концентрацией 2.000 мг/м^3 . Достоверное увеличение содержания мочевины крови наблюдалось и при воздействии хлороформом в концентрациях 400 и 200 мг/м^3 , но проявлялось оно однократно — через 12 часов после воздействия. Концентрация хлороформа 50 мг/м^3 не оказывала влияния на этот показатель ни в один из исследуемых сроков.

Наши, казалось бы, парадоксальные данные интересно сопоставить с результатами, приведенными в статье Smith et al. [4], где изучался механизм нефротоксичности хлороформа. Функцию почек авторы оценивали, помимо определения содержания мочевины крови, также по способности кортикального слоя почек аккумулировать р-аминогиппуровую кислоту и тетраэтиламмоний при внутрибрюшинном и подкожном введении мышам хлороформа в дозах от 50 до 1.000 мкг . Было установлено, что нарушения почечной функции четко проявляются у мышей-самцов при получении хлороформа уже в дозе 50 мкг . При этом функциональные изменения были подтверждены гистологически. Максимум биохимических и морфологических отклонений имел место у мышей-самцов при дозе 250 мкг , введение больших доз препарата вызывало значительно меньше нарушений функций почек, в то время как гепатотоксические проявления продолжали нарастать.

Значительные проявления нефротоксичности имели место у мышей-самцов уже через 5 часов после введения препарата, причем их появлению предшествовало снижение концентрации небелковых сульфгидрильных групп в почечном кортикальном слое. При этом авторы обращали внимание на отсутствие нефротоксичности у мышей-самок [4].

Ярко выраженная способность хлороформа вызывать нарушения функции почек у крыс-самцов была выявлена нами и при длительном введении этого препарата в concentra-

циях, значительно ниже действующих ПДК в США и других странах.

При хронической интоксикации хлороформом (ежедневные 4-часовые ингаляции) в концентрациях 10,0; 5,0 мг/м³ была обнаружена стойкая азотемия. Так, в группе крыс, подвергавшихся ингаляции хлороформом в дозе 10 мг/м³, повышение содержания мочевины на 31% (по сравнению с контролем) определялось через 2 недели от начала эксперимента и сохранялось на таком же уровне до конца затравок. Хлороформ в концентрации 5 мг/м³ вызывал несколько меньшее (на 15—17%), но также сохранявшееся до конца эксперимента увеличение содержания мочевины крови.

При анализе результатов морфологического исследования почек животных (концентрация 5 мг/м³) обращало внимание изменение гистологических характеристик всех отделов нефрона с преимущественным поражением клубочков. В части клубочков имели место признаки интракапиллярного гломерулонефрита, характеризующиеся резким увеличением тела ядер иногда митотически делящихся клеток. Почти у всех животных этой группы наряду с пролиферативными явлениями обнаруживались признаки дистрофических изменений со стороны эпителиальных клеток капсулы Шумлянского-Боумена, утолщение капиллярных мембран, расширение полости капсулы, очаги отека и кровоизлияний в интерстициальную ткань между извитыми канальцами. У отдельных животных отмечались дистрофические изменения, связанные с уменьшением объема сосудистого клубочка, которое сопровождалось появлением в полости серозного экссудата. Нередко выявлялось также значительное уменьшение и уплотнение массы клубочка с разрастанием соединительнотканной стромы в околоклубочковой интерстициальной ткани с резкой деформацией формы клубочка. В то же время морфологическая картина печеночной ткани животных этой группы не отличалась от таковой контрольных животных.

У крыс, получавших хлороформ в концентрации 10 мг/м³, отмечалось количественное и качественное нарастание вышеупомянутых признаков дистрофического процесса в почечной ткани, свидетельствующих о наличии субхронического и хронического гломерулонефрита.

При воздействии на животных хлороформом в концентрации 0,35 мг/м³ не было выявлено изменений ни со стороны биохимических показателей, ни со стороны морфологической структуры ткани почек, характерных для данного яда.

Следовательно, при длительном воздействии на животных хлороформом в довольно низких концентрациях у экспериментальных животных на первый план выдвигается поражение почек при очень умеренных изменениях в печени при воздействии хлороформом в концентрации 10 мг/м^3 и отсутствии таковых при концентрации 5 мг/м^3 . И. П. Уланова предлагала ПДК хлороформа в рабочей зоне на уровне 5 мг/м^3 . [5].

В настоящее время считается доказанным, что хлороформ метаболизируется монооксигеназной системой почек до CO_2 . В процессе метаболизма образуется электрофильное промежуточное вещество — фосген, который, вступая в реакцию с глутатионом в клетке, ковалентно связывается с макромолекулами и, таким образом, реализует свою токсичность. Также как и в печени, для его метаболизма требуется O_2 , НАДФН-генерирующая система и цитохром P_{450} .

У самок-мышей содержание цитохрома P_{450} в кортикальном слое почек в 6 раз ниже, чем у самцов, вследствие этого почечная ткань самок не способна метаболизировать хлороформ [6]. Именно этим фактом авторы объясняют отсутствие нефротоксичности, вызываемой хлороформом, у самок.

Хотя пути метаболизма в печени и почках сходны, однако своим исследованием Smith a, Hook [7] наглядно показали, что метаболизм хлороформа зависит от различных форм цитохрома P_{450} в печени и почках. В частности, почечный цитохром P_{450} не индуцируется фенобарбиталом, в то время, как в печени метаболизм хлороформа зависит от фенобарбитал-индуцированной формы цитохрома P_{450} . Paul a. Rubinstein [8] показали, что почечные дольки крыс метаболизируют меченый хлороформ до C^{14}O_2 со скоростью примерно в 5—10 раз большей, чем дольки печени, нуждаясь при этом в гораздо большей концентрации O_2 . Сходная ситуация, по мнению Maher [9], происходит в организме, так как почечная кора получает значительно большую порцию потока крови, а следовательно, и O_2 по отношению к массе. Активность цитохрома P_{450} в почках является самой высокой в почечной коре, особенно в проксимальных канальцах [10], т. е. в месте, где происходят наибольшие изменения при воздействии хлороформом. В печени этим местом является центролобулярная часть, которая содержит самое высокое количество индуцированной фенобарбиталом формы цитохрома P_{450} , но, вероятно, получает относительно небольшие концентрации O_2 по сравнению с перипортальной областью [7].

Следовательно, значительные изменения в структуре почечной ткани, наблюдаемые у экспериментальных животных при воздействии хлороформа в довольно низких концентрациях, обусловлены предопределенной генетически высокой способностью почечной ткани крыс-самцов метаболизировать ксенобиотики с образованием активных метаболитов.

В настоящее время известно, что каталитическая активность цитохромов P₄₅₀ человека намного ниже, чем у экспериментальных животных [11], поэтому остается открытым вопрос о том, насколько правомочным является перенос данных с экспериментальных животных на человека в случаях, когда токсичностью обладает метаболит, а не целая молекула вещества. Следовательно, при нормировании необходимо наряду с экспериментальными данными иметь достаточно репрезентативные материалы клинико-гигиенических наблюдений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hathway D. E. Chemical, biochemical and Toxicological Differences Between Carbon Tetrachlorid and Chloroform. // *Arzneim. Forsch. (Drug-Res.)*. 1974. — V. 24. — № 2. — P. 173—176.
2. Nephrotoxicity of Chloroform: Metabolism to Phosgene by the Mouse Kidney. / Branchflower R. V., Nunn D. S., Highet R. J., et al. // *Toxicology a. Appl. Pharmacol.* — 1974. — V. 72. — P. 159—168.
3. Lunt R. L. Delayed chloroform poisoning in obstetric practice. // *BR. Med. J.* — 1953. — № 1. — P. 489—490.
4. Mechanism of Chloroform Nephrotoxicity. 1. Time Course of Chloroform Toxicity in Male and Female Mice. / Smith J. H., Maita K., Sleight S. D., Hook J. B. // *Toxicol. a. Appl. Pharmacol.* — 1983. — V. 70. — P. 467—479.
5. Уланова И. П. Зависимость биологического действия от химической структуры разных классов галойдсодержащих углеводов: Автореф. дис. докт. мед. наук. / Ин-т гигиены труда и проф. заболеваний. — М., 1971. — 50 с.
6. Effect of sex hormone status on Chloroform nephrotoxicity and renal mixed function oxidases, in mice. / Smith J. H., Maita K., Sleight S., Hook J. B. // *Toxicology*. — 1984. — V. 30. — № 4. — P. 305—316.
7. Smith J. H., Hook J. B. Mechanism of Chloroform Nephrotoxicity. III. Renal and Hepatic Microsomal Metabolism of Chloroform in Mice. // *Toxicol. a. Appl. Pharmacol.* — 1984. — V. 73. — P. 511—524.

8. Paul B. B., Rubinstein D. Metabolism of Carbon Tetrachloride and Chloroform by the Rat. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1963. — V. 141. — P. 141—148.

9. Maher J. F., Toxic nephropathy. // *The Kidney.* / B. B. Brenner, a. F. C. Rector, eds. — 1976. — P. 1355—1395.

10. Induction of rabbit renal mixed function oxidases by phenobarbital: cell specific ultrastructural changes in the proximal tubule / Rush J. F., Maita K., Sleight. S. D., Hook J. B. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* — 1983. — V. 172. — P. 430—439.

11. Wang P., Mason P. S., Guengerich F. P. Purification of human liver cytochrome P₄₅₀ and comparison to the enzyme isolation from rat liver. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1980. — V. 199. — P. 206—219.

КОМПЛЕКСНЫЕ ВОПРОСЫ ГИГИЕНЫ И ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ РЕГИОНОВ СИБИРИ

Комплексные вопросы гигиены и охраны здоровья населения отдельных регионов Сибири. — М.: НИИ гигиены им. **Ф. Ф. Эрисмана**, 1988, стр. 120.

Сборник подготовлен по материалам Новосибирского научно-исследовательского института гигиены.

В нем представлены результаты гигиенических, клинических, физиологических исследований, выполненных в 1986—1987 гг. В статьях нашли отражение вопросы гигиены окружающей среды, труда и состояния здоровья населения Кузбасса и Южной Якутии, комплексных мероприятий медицинской и трудовой реабилитации шахтеров. Дана оценка гигиенических условий обучения и труда молодежи, а также предложен ряд методов ускоренного нормирования химических веществ в различных объектах окружающей среды.

Ил. 5, табл. 23, список лит. 121 назв.

Ответственный редактор **Е. М. Горбачев**

Редколлегия: **Д. И. Каганович (редактор),**

А. А. Добринский,

А. Я. Поляков,

И. Г. Лемещенко.