

## EXPERIMENTAL RESEARCH

### МОДЕЛЬ ИНТОКСИКАЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРОДУКТАМИ ПИРОЛИЗА ПОЛИАКРИЛОНИТРИЛА

М. А. Чайкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

### MODEL INTOXICATION OF LABORATORY ANIMALS BY POLYACRYLONITRILE PIROLYSIS PRODUCTS

М. А. Chaykina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S. M. Kirov Military Medical Academy of the Russian Defense Ministry, Saint Petersburg, Russia

**Резюме.** В современном мире широко используются различные полимерные материалы, например «искусственная шерсть», содержащая в своем составе 85% полиакрилонитрила. При горении полиакрилонитрила в атмосферу выделяется цианистый водород, оксид углерода и другие токсичные соединения. На сегодняшний день в Российской Федерации в качестве антидота при отравлении цианидами доступен только натрия тиосульфат (Государственный реестр лекарственных средств (по состоянию на 12 января 2020)). Однако он не является специфическим при отравлении цианидами. В проведенном экспериментальном исследовании на лабораторных животных (крысах) моделировали статическое ингаляционное воздействие продуктов пиролиза полиакрилонитрила (масса навески — 0,8 грамм, температура пиролиза — 270–350 °С, длительность пиролиза — 3 мин). Регистрировали изменения общего состояния, положение тела в пространстве, ректальную температуру, частоту сердечных сокращений и дыхательных движений животных. Определяли параметры оксигенации и показатели кислотно-основного состояния крови лабораторных животных после интоксикации. Качественное обнаружение цианидов в образцах головного мозга и миокарда осуществляли методом газовой хроматографии. Разработана модель острой тяжелой интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила. В результате анализа газовой смеси в ней были обнаружены: цианистый водород в концентрации 80–120 ppm, оксид углерода — 900–1000 ppm. Показано, что интоксикация лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила приводит к изменениям ( $p < 0,05$ ) показателей витальных функций, снижению артериовенозной разницы по кислороду ( $p = 0,03$ ), развитию декомпенсированного метаболического ацидоза. Методом газохроматографического анализа в тканях головного мозга и миокарда обнаружен пик цианидов со временем удержания 3,78 мин (1 рис., 2 табл., библиография: 7 ист.).

**Ключевые слова:** интоксикация, крыса, оксид углерода, пиролиз, полиакрилонитрил, цианистый водород, экспериментальная модель.

Статья поступила в редакцию 13.03.2020 г.

**Summary.** In the modern world, various polymeric materials are widely used, for example, “artificial wool” which containing 85% polyacrylonitrile. When polyacrylonitrile is burned, for example in a fire, hydrogen cyanide, carbon monoxide and other toxic compounds are released into the atmosphere. To date, in the Russian Federation, only sodium thiosulfate is available as an antidote for cyanide poisoning (State Register of Medicines (as of 12 January 2020)). However, this antidote is not specific for cyanide poisoning. In the conducted experimental study on laboratory animals (rats), the static inhalation effect of polyacrylonitrile pyrolysis products was simulated (weight of the sample was 0.8 grams, pyrolysis temperature was 270–350 °C, and the duration of the pyrolysis was 3 min). Registered changes in general condition, body position in space, rectal temperature, heart rate, respiratory rate of animals. The oxygenation parameters and indicators of the acid-base state of the blood of laboratory animals after intoxication were determined. Qualitative detection of cyanides in samples of the brain and myocardium was carried out by gas chromatography. A model of acute severe intoxication of laboratory animals with the products of polyacrylonitrile pyrolysis was developed. As a result of the analysis of the gas-air mixture, it was found in it: hydrogen cyanide at a concentration of 80–120 ppm, carbon monoxide — 900–1000 ppm. It was shown that intoxication of laboratory animals with polyacrylonitrile pyrolysis products leads to changes ( $p < 0.05$ ) in vital signs, a decrease in oxygen arteriovenous difference ( $p = 0.03$ ), and the development of decompensated metabolic acidosis. By gas chromatographic analysis, a peak of cyanides with a retention time of 3.78 min was detected in the tissues of the brain and myocardium (1 figure, 2 tables, bibliography: 7 refs).

**Key words:** carbon monoxide, experimental model, hydrogen cyanide, intoxication, pyrolysis, polyacrylonitrile, rat

Article received 13.03.2020.

## ВВЕДЕНИЕ

С учетом высокой частоты возникновения пожаров, как в Российской Федерации, так и во всем мире, риск интоксикации оказавшихся в их зоне людей продуктами пиролиза различных полимерных материалов с каждым годом возрастает. Более 80% пострадавших на пожарах погибают в результате отравлений продуктами горения. При горении азотсодержащих материалов в атмосферу выделяется цианистый водород.

Полиакрилонитрил  $([-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CN})-]_n)$  — линейный полимер акрилонитрила белого цвета. При нагревании полиакрилонитрила на воздухе происходят термохимические изменения полимера, сопровождающиеся поглощением  $\text{O}_2$  и выделением  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NH}_3$  (при температурах около  $220^\circ\text{C}$ ), при температурах свыше  $270^\circ\text{C}$  происходит выделение цианистого водорода [1, 2].

Средства этиотропной терапии отравления цианидами, рекомендованные всемирной организацией здравоохранения в рамках Международной программы химической безопасности, представлены амилнитритом, тиосульфатом натрия, 4-диметиламинофенолом, этилендиаминтетрауксусной кислотой и гидроксикобаламином. На сегодняшний день в Российской Федерации в качестве антидота доступен только натрия тиосульфат (Государственный реестр лекарственных средств (по состоянию на 12 января 2020 г.)). Однако он не является специфическим при отравлении цианидами [3–5].

Цианиды во время пожара воздействуют вместе с другими токсикантами (монооксид углерода, хлороводород и т. д.), следовательно, монотерапия антидотом будет недостаточно эффективна. Исходя из этого, можно предположить, что целесообразно разрабатывать комплексный подход для лечения отравления продуктами пиролиза азотсодержащих полимерных материалов. Для реализации этой цели необходимы экспериментальные модели интоксикации лабораторных животных этими продуктами.

## ЦЕЛЬ

Разработать экспериментальную модель интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на лабораторных животных (крысах). Формиро-

вали две их группы: контрольную и опытную. При проведении исследования выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [6].

В качестве материала для пиролиза использовали навеску полиакрилонитрильного волокна «искусственная шерсть», содержащего в своем составе 85% полиакрилонитрила. Термическое разложение полимера осуществляли в камере для пиролиза при температуре  $270\text{--}350^\circ\text{C}$  в течение 3 мин. Образовавшиеся продукты термодеструкции, содержащие цианистый водород (далее продукты пиролиза), путем естественной конвекции поступали в ингаляционную камеру объемом 100 л, в которую помещали животных опытной группы. Содержание цианистого водорода в ингаляционной камере определяли с помощью газоанализатора PortaSens II (ATI, USA), оксида углерода и кислорода — при помощи газоанализатора ДАХ-М (Аналит-Прибор, Россия). Экспозиция токсикантов составляла 15 мин, после чего животных извлекали из камеры, и они дышали атмосферным воздухом. Животные контрольной группы дышали атмосферным воздухом в ингаляционной камере в течение 15 мин.

Наблюдение за животными осуществляли до, непосредственно во время интоксикации и в течение 15 мин после воздействия. Регистрировали изменения общего состояния, положение тела в пространстве, ректальную температуру, частоту сердечных сокращений (ЧСС) и частоту дыхательных движений (ЧДД). Содержание карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных определяли спектрофотометрическим методом непосредственно после окончания интоксикации.

Через 10 мин после воздействия из брюшной аорты в месте бифуркации забирали артериальную кровь и определяли индекс оксигенации ( $\text{IO} = \text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), артериовенозную разницу ( $\text{Pa-v}$ ) и показатели кислотно-основного состояния при помощи прибора iSTAT (i-STAT Corporation, USA). Качественное обнаружение цианидов в образцах головного мозга и миокарда, полученных через 15 мин после интоксикации, осуществляли методом газовой хроматографии.

Статистический анализ результатов экспериментальных исследований проводили при помощи программы Statistica 5.0, Statistica 10.0. К сравнению полученных данных, распределенных по закону отличному от нормального, применяли непараметрические критерии — U-критерий Манна-Уитни для несвязанных выборок; критерий Уилкоксона — для связанных. Данные в тексте представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей —

## EXPERIMENTAL RESEARCH

Ме [Qн; Qв]. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В предварительной серии экспериментов методом пробит-анализа по Финни было установлено, что масса навески материала (содержащего 85% полиакрилонитрила), продукты пиролиза которого (в ингаляционной камере объемом 100 л) приводят к гибели 50% лабораторных животных в течение 24 ч после воздействия, составляет  $0,81 \pm 0,15$  г. В дальнейших экспериментах использовали навеску материала массой 0,8 г.

При увеличении температуры в камере для пиролиза более  $270^\circ\text{C}$  в ингаляционную камеру начинал поступать белый дым. В результате анализа газовой смеси в ней были обнаружены: цианистый водород в концентрации 80–120 ppm, оксид углерода — 900–1000 ppm, содержание кислорода в ингаляционной камере при одновременном нахождении в ней 6 животных в течение 15 мин снижалось не более чем на 0,5 об. %.

При воздействии продуктов пиролиза, полученных в заданных условиях, суточная летальность животных составила  $33 \pm 17\%$ . Их гибель регистрировали непосредственно при нахождении живот-

ных в ингаляционной камере и в течение 15 мин после окончания интоксикации.

После поступления дыма в ингаляционную камеру признаков их раздражающего действия у лабораторных животных не отмечали. Через 4,5 [4,2; 5,1] мин прослеживали увеличение двигательной активности животных с последующей атаксией через 7,5 [7,1; 8,1] мин. Далее у животных отмечали появление мышечных подергиваний, переходящих в клонико-тонические судороги (на 8,4 [7,8; 9,3] мин). Содержание карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных непосредственно после окончания воздействия составило 52,5 [49; 57] %.

Динамика изменения показателей витальных функций и параметров оксигенации животных приведена в таблице 1. В течение первых 5 мин после воздействия у крыс фиксировали выраженную брадикардию и брадипноэ, по сравнению с фоновыми значениями ( $p = 0,02$ ), снижение ректальной температуры ( $p = 0,04$  по сравнению с фоном). Полное восстановление показателей витальных функций у выживших животных к фоновым значениям происходило через 6 ч после окончания интоксикации.

При анализе параметров оксигенации было выявлено, что парциальное давление кислорода в артериальной крови не отличалось от контрольных значений. Однако отмечали увеличение парциаль-

Таблица 1

Изменение показателей витальных функций животных и параметров оксигенации до и после интоксикации продуктами пиролиза полиакрилонитрила

Группа	Время регистрации	ЧСС, раз/мин	ЧДД, раз/мин	Ректальная температура, °C	ИО	Ра-в, мм рт. ст.
Контроль	5 мин после ингаляции (n = 6)	424,8 [425; 446]	105,3 [100; 116]	32,2 [31,8; 33,2]	455 [352; 528]	65 [56; 91]
Опыт	Фон (n = 9)	460 [450; 470]	116 [110; 118]	33,1 [31,8; 34,1]	–	–
	5 мин после ингаляции (n = 6)	251 [151; 357]*	35 [24; 47,5]*	31,1 [30,5; 31,6]*	394,5 [285; 504]	37 [35; 39]

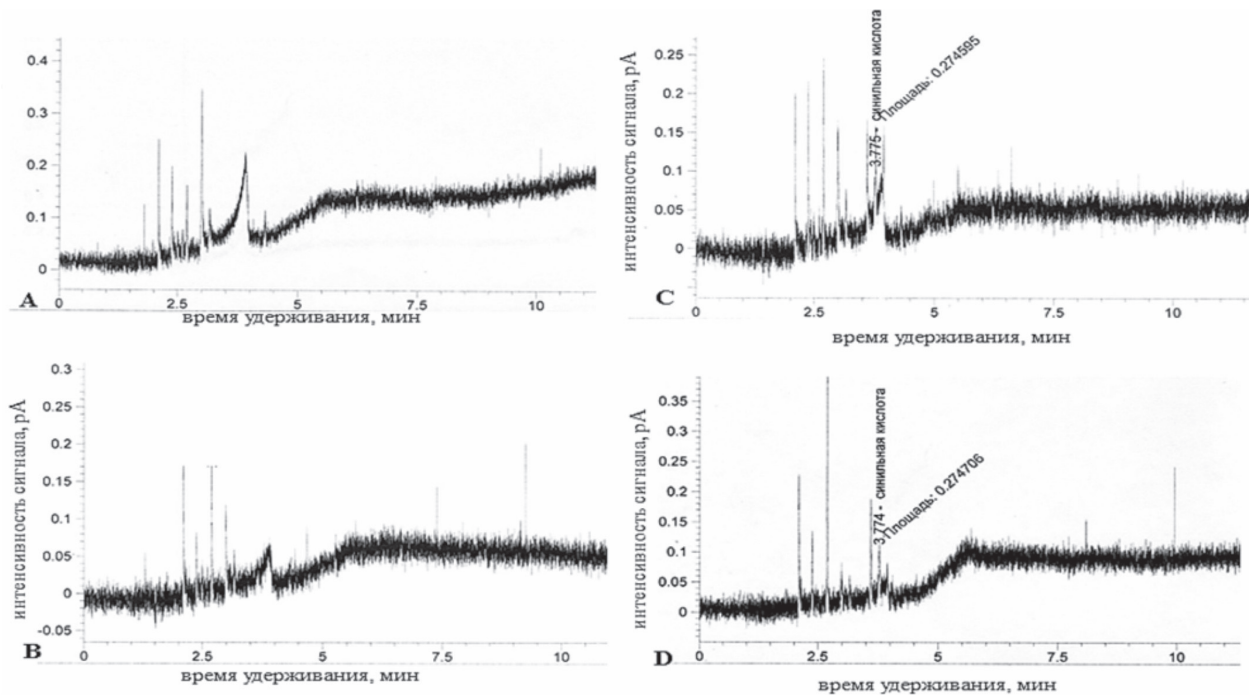
Примечание. \* — различия значимы по сравнению с фоновыми значениями при  $p < 0,05$ .

Таблица 2

Изменение параметров кислотно-основного состояния животных после интоксикации продуктами пиролиза полиакрилонитрила

Группа	pH	pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	BE <sub>ef</sub> , ммоль/л	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л
Контроль (n = 6)	7,42 [7,38; 7,46]	42,8 [36,9; 52,4]	3,6 [1; 6]	27,8 [24,8; 31,1]
Опыт (n = 6)	7,26 [7,17; 7,3]*	32,7 [30; 38,5]	-12 [-17; -7]*	14,9 [11,1; 18,8]*

Примечание. \* — различия значимы по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .



**Рис. 1.** Хроматограмма проб головного мозга (А) и сердца (В) животных контрольной группы; головного мозга (С) и сердца (D) животных, подвергшихся интоксикации

ного давления кислорода в венозной крови и артериовенозной разницы у животных, подвергшихся интоксикации по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,03$ ).

Динамика изменения показателей кислотно-основного состояния отражена в табл. 2. Отмечали значимое снижение pH в артериальной крови, которое сопровождалось снижением ( $p = 0,04$ ) дефицита оснований (BEest) и концентрации стандартного бикарбоната ( $\text{HCO}_3^-$ ), при этом парциальное давление  $\text{CO}_2$  в артериальной крови не изменялось ( $p > 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о развитии у лабораторных животных декомпенсированного метаболического ацидоза.

При проведении газового хроматографического исследования биопроб головного мозга и сердечной мышцы крыс, полученных через 15 мин после окончания воздействия, обнаруживали пик цианидов со временем удержания 3,78 мин.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В проведенном экспериментальном исследовании было показано, что при термической деструкции полиакрилонитрильных волокон (содержащих 85% полиакрилонитрила) образуются цианистый водород и оксид углерода. При проведении статической ингаляционной интоксикации продуктами пиролиза у лабораторных животных регистрирова-

ли признаки отравления веществами общедовитого действия.

Цианистый водород легко проникает через гематический барьер. Так как HCN хорошо растворим в воде, то после попадания в системный кровоток он превращается в синильную кислоту. Синильная кислота — слабая кислота, что способствует ее быстрой диссоциации в крови до протона и циан-иона [7]. Наряду с нарушением функционирования дыхательной цепи и накоплением неметаболизируемых продуктов компенсаторно активирующегося гликолиза, этот фактор способствует значимому снижению pH, что прослежено в проведенном исследовании (табл. 2), и развитию метаболического ацидоза. Попадая в ткани, циан-ион связывается с трехвалентным железом цитохром-оксидазы, что приводит к нарушению окислительного фосфорилирования и проявлению энергодефицита. Выраженный энергодефицит в этих тканях приводит к нарушению витальных функций, что сопровождалось формированием брадикардии и тахипноэ и снижением ректальной температуры (табл. 1). Наблюдаемое развитие брадикардии и тахипноэ в начальный период интоксикации может быть сопряжено с влиянием цианидов на рецепторы каротидного синуса. Прослеженное угнетение дыхания при значимом брадикардии у животных может свидетельствовать о глубоком поражении центральной нервной системы, более восприимчивой к токсическому действию цианидов, или об изменениях

терминальной фазы с угнетением обеих витальных функций. Данный патологический каскад событий, вероятно, обуславливает летальные исходы у животных, в том числе непосредственно во время ингаляционного воздействия продуктов пиролиза полиакрилонитрила [7].

Содержание в крови лабораторных животных карбоксигемоглобина (52,5 [49; 57] %) соответствует средней степени тяжести интоксикации CO. Вместе с тем, клинические проявления интоксикации и высокая летальность свидетельствуют о взаимном отягощении сочетанного гипоксического действия оксида углерода и цианистого водорода в составе продуктов пиролиза.

Важно отметить, что сатурация кислорода и ИО не отличались ( $p > 0,05$ ) от наблюдаемых у животных контрольной группы. Это свидетельствует о том, что в данной модели у лабораторных животных функции аэрогематического барьера не нарушены. Однако отмечали увеличение артериовенозной разницы ( $p = 0,03$ ) после интоксикации, по сравнению с контрольными животными. Это свидетельствует о нарушении утилизации кислорода в тканях,

вследствие блокирования электрон-транспортной дыхательной цепи циан-ионом. Данный факт был подтвержден обнаружением пика цианидов при проведении газового хроматографического исследования биопроб головного мозга и сердечной мышцы крыс (рис. 1).

Таким образом, патологические изменения были обусловлены, в первую очередь, кислородтранспортной функцией крови, вследствие образования карбоксигемоглобина, и нарушении функций дыхательной цепи в тканях, вследствие ингибирования циан-ионом цитохромоксидазы.

В результате проведенного исследования была разработана экспериментальная модель, в которой ингаляционное воздействие продуктов пиролиза полиакрилонитрильных волокон, содержащих цианистый водород и оксид углерода, приводило к тяжелой степени интоксикации лабораторных животных. Данная модель может быть использована для поиска средств этиотропной и патогенетической терапии отравления продуктами горения азотсодержащих полимерных материалов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Basharin V. A., Grebenyuk A. N., Markizov N. F., Tolkach P. G.* Chemicals as a damaging factor for fires. *Military-Medical Journal*. 2015; 336 (1): 22–8. Russian (*Башарин В. А., Гребенюк А. Н., Маркизов Н. Ф., Толкач П. Г.* Химические вещества как поражающий фактор пожаров. *Воен.-мед. журн.* 2015; 336 (1): 22–8).
2. *Wilkie C. A., Morgan A. B.* Fire retardancy of polymeric materials. USA: CRC Press; 2012. 767.
3. *Balandin N. V., Kovtun V. Yu., Gladkikh V. D., Melikhova M. V.* Pharmacokinetics of the oral dosage form of a potential treatment-and-prophylactic antidote of cyanides based on a mixed cobalt salt of mercaptoacetic and pyruvic acids. *Scientific progress at the turn of the millennium-2014. Materials of the X scientific scientific-practical conference*. Prague: Publishing House «Education and science»; 2014: 24–8. Russian (*Баландин Н. В., Ковтун В. Ю., Гладких В. Д., Мелихова М. В.* Особенности фармакокинетики пероральной лекарственной формы потенциального лечебно-профилактического антидота цианидов на основе смешанной кобальтовой соли меркаптоуксусной и пировиноградной кислот. *Научный прогресс на рубеже тысячелетий-2014. Материалы X Международной научно-практической конференции*. Прага: Publishing House «Education and science»; 2014: 24–8).
4. *Bhattacharya R.* Antidotes to cyanide poisoning: Present status. *Indian. J. Pharmacol.* 2000; 32: 94–101.
5. *Uyba V. V., Nazarov V. B., Gladkikh V. D.* Conceptual approaches to the development of the antidote system of the Russian Federation. Moscow: Kommentariy Publisher. 2013. 300. Russian (*Уйба В. В., Назаров В. Б., Гладких В. Д.* Концептуальные подходы к развитию системы антидотного обеспечения Российской Федерации. М.: Комментарий. 2013. 300).
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union for the protection of animals used for scientific purposes. Saint Petersburg: Rus-LASA «NP association of specialists in working with laboratory animals» Publisher. 2012. 48. Russian (*Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях*. СПб.: Rus-LASA «НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными». 2012. 48).
7. *Gladkikh V. D., Balandin N. V., Vershinina G. V.* Toxicology of cyanides: clinic, diagnosis, treatment. Moscow; 2019. 251. Russian (*Гладких В. Д., Баландин Н. В., Вершинина Г. В.* Токсикология цианидов: клиника, диагностика, лечение. Москва; 2019. 251).

### УВЕДОМЛЕНИЕ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов применительно к публикации данной статьи. Вся работа выполнена одним автором.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

**Чайкина Маргарита Алексеевна** — курсант 6 курса 2 факультета, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, конт. тел.: +7(911)7745393, e-mail: margaritachaikina@gmail.com

### ACKNOWLEDGMENT

The author declares no conflict of interest in relation to the publication of this article. All work is done by one author.

### INFORMATION ABOUT AUTHOR

**Chaykina Margarita A.** — 6<sup>th</sup> year cadet of the 2<sup>nd</sup> faculty, S. M. Kirov Military Medical Academy of the Russian Defense Ministry, bld. 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044, cont. phone: +7(911)7745393, e-mail: margaritachaikina@gmail.com