

А.В. Мокиенко, к.б.н., Н.Ф. Петренко, к.б.н., А.И. Гоженко, проф., Б.А. Насибуллин проф.

ДИОКСИД ХЛОРА И ПИТЬЕВАЯ ВОДА: К ОБОСНОВАНИЮ БЕЗВРЕДНОСТИ (СООБЩЕНИЕ 1)

Государственное предприятие "Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта МЗ Украины", г. Одесса

В наших предыдущих работах [1,2] мы подробно рассмотрели вопросы безвредности диоксида хлора как средства обеззараживания воды. Это, впрочем, не сняло противоречивости и дискуссионности некоторых аспектов этой сложной проблемы. Если судить по данным доступной нам литературы, основные исследования в этом направлении проведены за рубежом в 80-х годах прошлого столетия. В единственной известной нам отечественной работе [3] приведены результаты хронического (6 мес) токсикологического эксперимента на крысах, получавших питьевую воду с диоксидом хлора в дозах 0,5 мг и 5 мг на 1 кг массы тела (или 10 и 100 мг/дм³). Авторы не обнаружили изменений изучавшихся показателей, за исключением стойкой тенденции к уменьшению прироста веса животных, получавших большую дозу, что позволило им прийти к выводу об отсутствии резорбтивного токсического действия у диоксида хлора.

В острых и хронических (1 год) экспериментах на крысах, мышах и цыплятах 4, которых поили водой с дозами диоксида хлора от 1 до 1000 мг/дм³, констатированы альтерация эритроцитов, снижение уровня эритроцитарного глюкатиона, падение осмотической резистентности эритроцитов; в максимальных дозах — умеренная гемолитическая анемия. В исследованиях на тех же животных с теми же дозами диоксида хлора не отмечено увеличения концентрации метгемоглобина [5, 6, 8]. Однако, применение растровой электронной микроскопией *in vitro* позволило установить изменение морфологии эритроцитов.

Установлено, что уровень глютаминил-цистеинил-глицина в эритроцитах под воздействием диоксида хлора в концентрациях 10 и 100 мг/дм³ после первоначального снижения в последующем при непрерывном (сплошном) экспонировании нормализуется [7]. По мнению авторов, такого рода адаптация является результатом угнетения уровней каталазы эритроцитов. Важность влияния определенных ферментов на адаптацию при хроническом воздействии диоксида хлора отмечена в работах [5, 9].

В работе [7] исследовано включение Н³-тимидина в ядра клеток слизистой оболочки кишечника крысы. При уровнях диоксида хлора 10 мг/дм³ в питьевой воде, потребляемой крысами в течение 3 мес, отмечено значительное увеличение включения Н³-тимидина, свидетельствующее о стимуляции пролиферации кишечного эпителия. В других органах крыс (почках, печени и яичках) констатировано замедление включения Н³-тимидина в ядра клеток при воздействии диоксида хлора в дозах 10 и 100 мг/дм³. По мнению авторов, эти эффекты объясняются влиянием на синтез ДНК. Применительно к яичкам это может означать угнетение сперматогенеза, что гипотетически свидетельствует о токсическом влиянии диоксида хлора и/или его побочных продуктов на репродуктивную функцию.

С нашей точки зрения, существенным недостатком данных исследований является применение в экспериментах доз диоксида хлора, которые в практике питьевой водоподготовки не встречаются. Например, дозы диоксида хлора, исполь-

зуемые для очистки и обеззараживания воды в США, колеблются от 0,07 до 2,0 мг/дм³ [10].

Учитывая вышеизложенное, а также тот факт, что, по нашим данным, токсикологические исследования диоксида хлора как средства обеззараживания воды ни в СССР, ни на постсоветском пространстве за последние 35 лет не осуществлялись, мы сочли необходимым проведение субхронического эксперимента на белых крысах.

Цель работы

Токсиколого-гигиеническое обоснование безвредности диоксида хлора при обеззараживании воды.

Задачи работы включали изучение показателей крови; перекисного гемолиза эритроцитов как критерия осмотической резистентности; некоторых показателей перекисного окисления липидов; общей морфологии селезенки, печени, почек, яичек, щитовидной железы; катехоламинов в эритроцитах; NO-синтазы в тканях селезенки, печени, кишечника, щитовидной железы.

Методы исследования

Токсиколого-гигиеническую оценку влияния диоксида хлора на организм белых крыс проводили в субхроническом (100 дней) эксперименте.

Концентрация диоксида хлора составляла 0,02 ммоль/дм³ или 1,35 мг/дм³. Выбор данной концентрации был определен тем, что параллельно проводились аналогичные исследования для хлорита и хлората как производных диоксида хлора. Объединяющим в этих исследованиях был принцип эквимоларности концентраций изучаемых соединений в потребляемой животными питьевой воде (1,35; 1,35; 1,67 мг/дм³, соответственно).

Материалом настоящей работы послужили данные, полученные при исследовании 20 белых нелинейных крыс-самцов в возрасте 6 месяцев. В соответствии с задачами работы животные были ранжированы на 2 группы. Первая группа, контрольная (10 животных), включала животных, которые в процессе эксперимента потребляли фасованную негазированную питьевую воду "Старый Миргород". Вторая группа (10 животных) — крысы, получавшие такую же воду, содержащую диоксид хлора в постоянной концентрации 1,35 мг/дм³.

С целью оценки влияния диоксида хлора на генеративную функцию животных в отдельную клетку помещали самцов и самок (по 5), которые были ранжированы на те же группы.

Поение крыс осуществляли в условиях вивария, при содержании на стандартной диете с вольным доступом к пище и воде, на протяжении 100 дней. Поение беременных самок и молодых крысят осуществляли в том же режиме. Крысят-самцов по завершении периода лактации отсаживали в отдельные клетки с последующим идентичным взрослым крысам режимом поения и ранжирования (до возраста 3 мес).

По завершении эксперимента животных выводили из опыта декапитацией под эфирным наркозом; у них извлекали фрагменты селезенки, щитовидной железы, кишечника, печени, яичек.

Выведение животных из эксперимента проводили согласно требований международной конвенции по биоэтике.

Исследовали содержание гемоглобина, цветной показатель, число эритроцитов, лимфоцитов, лейкоцитарную формулу, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, активность каталазы, супероксиддисмутазы, перекисный гемолиз эритроцитов [11-14]; изучали общую морфологию селезенки, печени, почек, яичек, щитовидной железы, гистохимически определяли NO-синтазу, катехоламины в эритроцитах [15-18].

Полученный гистологический материал фиксировали в параформальдегиде, проводили через спирты возрастающей концентрации и заливали в целлоидин по общепринятой методике. Из полученных блоков изготавливали гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон с докраской фукселином. Полученные препараты изучали под световым микроскопом фирмы "Leika".

Содержание суммарных катехоламинов на мазках определяли по методу М.Ю. Коломойца [16]. Оценку содержания катехоламинов осуществляли по количеству гранул серебра, отложенных в теле эритроцитов.

Активность NO-синтазы (NO-S) в печени, селезенке, кишечнике, щитовидной железе определяли гистохимически по методу [17] с качественной оценкой [18].

Статистическую обработку результатов исследований выполняли по специальной компьютерной программе Statistic согласно [19].

Результаты и их обсуждение

Установлено отсутствие достоверных различий в изученных показателях крови (гемоглобин, цветной показатель, число эритроцитов, лимфоцитов, лейкоцитарная формула, перекисный гемолиз эритроцитов) и перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид плазмы крови, каталаза и супероксиддисмутаз эритроцитов) как в опытных группах животных, потреблявших питьевую воду, содержащую диоксид хлора в концентрации 1,35 мг/дм³, так и крысят-самцов из потомства самок с аналогичным ранжированием питьевого режима.

Структурные изменения внутренних органов крыс, потреблявших питьевую воду, содержащую диоксид хлора, состояли в следующем.

Селезенка. Секторальная структура не изменена. Перегородки тонкие, из плотно упакованных фиброзных волокон и фиброцитов обычного вида. Фолликулы крупные, герметичный центр небольшой, лимфобласты упакованы с умеренной плотностью, ядра их средних размеров, хроматин в основном глыбчатый, сконцентрирован под оболочкой. Периферическая зона фолликула широкая, клетки упакованы достаточно плотно, ядра их средних размеров, сочные. Синусы частью спазмированы, частью запустевшие. Красная пульпа обычного вида.

Щитовидная железа. Железа сохраняет фолликулярную структуру. При этом фолликулы в просвете не содержат окрашенного секрета. Эпителий фолликулов невысокий, цитоплазма светло окрашена, на ее фоне определяются мелкие темные ядра.

Печень. Дольчатая структура сохранена. Гепатоциты в балках располагаются упорядочено ближе к центральной вене и со смазанной упорядоченностью ближе к периферии. Вокруг центральной вены иногда встречаются скопления гиалина или гепатоцитов. Гепатоциты с крупнозернистой цитоплазмой, большими светлыми ядрами, в которых хроматин расположен ближе к периферии. Встречаются двухядерные клетки.

Яичко. Белочная оболочка плотная, обычного вида. В канальцах мембрана не изменена. Клетки Сертолли плоские. Сперматогонии характеризуются ядрами, в которых хроматин располагается под оболочкой. Расположены они очень плотно, так, что местами формируют два слоя. Сперматозоиды I и II порядка также многочисленны, плотность их расположения выше, чем у контрольных животных. Также плотно располагаются сперматозоиды. В просвете канальцев сернистый секрет.

Содержание суммарных катехоламинов (у.е.) в эритроцитах крыс, потреблявших воду, содержащую диоксид хлора в концентрации 1,35 мг/дм³, составляло $2,30 \pm 0,27$, то есть находилось на уровне нижней границы нормы (2,3 — 3,2). Это свидетельствует об отсутствии выраженного влияния диоксида хлора на тонус симпатико-адреналовой системы.

Гистохимически активность NO-S в ткани селезенки, щитовидной железы, печени, кишечника интактных крыс и крыс, получавших воду, содержащую диоксид хлора, практически не изменялась.

Таким образом, проведенные исследования не выявили нарушений в изучаемых органах, за исключением увеличения плотности распределения сперматогониев и сперматозоидов I и II порядка. Повышенный сперматогенез у крыс, потреблявших воду, содержащую диоксид хлора в изученной концентрации, вероятно, объясняет стимуляцию репродуктивного потенциала в этой группе животных: число пометов составляло три по сравнению с двумя в контрольной и в других группах (потреблявших воду с хлоритами и хлоратами).

В цитируемой нами работе [4] авторы подчеркивают как одно из основных препятствий внедрения питьевой воды вероятное токсическое влияние на репродуктивную функцию. Полученные нами результаты, по крайней мере, для исследованной дозы диоксида хлора, показывают обратный эффект — стимуляцию сперматогенеза.

Содержание суммарных катехоламинов сохраняется на уровне, близком к нижней границе нормы. Диоксид хлора практически не влияет на состояние цикла оксида азота, поскольку активность NO-S в иссле-

дованных тканях при поении крыс водой с диоксидом хлора не менялась по сравнению с контролем.

Не зарегистрировано значимых изменений показателей крови, перекисного окисления липидов, структурно-функциональных изменений внутренних органов, гисто- и цитохимических показателей в потомстве самок, потреблявших воду, содержащую диоксид хлора, что свидетельствует об отсутствии эмбриотоксичности диоксида хлора в изучаемой концентрации.

Проведенные нами параллельно исследования по гигиенической оценке вирулицидного действия диоксида хлора позволили установить надежную инактивацию как вакцинного штамма полиовируса, так и эпидемически значимых аденовируса, энтеровирусов ЕСНО и Коксаки, выделенных из клинического материала, диоксидом хлора в дозах 1-2

мг/дм³. При этом уровни контаминации были идентичны таковым для сточных вод при условии их концентрирования. Это подтверждает правильность утвержденного нами гигиенического регламента дозы диоксида хлора 0,5 мг/дм³, вводимой в резервуар чистой воды, при обеззараживании воды в системах централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения [22].

Выводы

1. Диоксид хлора в концентрации 1,35 мг/дм³ не оказывает отрицательного влияния на организм белых крыс при длительном применении (100 дней).
2. Результаты гистологических, гистохимических и цитохимических исследований не позволяют говорить о наличии изменений в исследованных органах (за исключением повышенного сперматогенеза), а также о каком-либо зна-

чимом влиянии на уровень катехоламинов и активность NO-S.

3. Недостоверность изменений либо идентичность исследованных параметров по сравнению с контролем в первом потомстве самок крыс, потреблявших воду с тем же ранжированием питьевого режима, свидетельствует об отсутствии эбриотоксического эффекта диоксида хлора в изученной концентрации.
4. Полученные данные свидетельствуют о химической безвредности питьевой воды, обеззараженной диоксидом хлора в изученной концентрации, что в сочетании с обеспечением эпидемической безопасности позволяет рекомендовать диоксид хлора к внедрению в практику централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения населенных пунктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петренко Н.Ф., Мокиенко А.В. Диоксид хлора: применение в технологиях водоподготовки. — Одесса: Изд-во "Optimum", 2005. — 486 с.
2. Мокиенко А.В., Петренко Н.Ф., Гоженко А.И. Токсиколого-гигиеническая оценка диоксида хлора как средства обеззараживания воды (обзор литературы и результатов собственных исследований) // Современные проблемы токсикологии. — 2006. — №4. — С. 44-49.
3. Фридлянд С. А., Каган Г. З. Экспериментальные данные к обоснованию остаточных концентраций диоксида хлора в воде // Гигиена и санитария. — 1971. — № 11. — С. 18-21.
4. Couri D., Abdel-Rahman M.S., Bull R.J. Toxicological effects of chlorine dioxide, chlorite and chlorate // Environ. Health. Perspect.-1982. -V. 46. — P.13-17.
5. Heffernan W.P., Guion C., Bull R.J. Oxidative damage to the erythrocyte induced by sodium chlorite, in vivo // J. Environ. Pathol. Toxicol. -1979.-V.2.-P. 1487-1499.
6. Moore G.S., Calabrese E.J. The effects of chlorine dioxide and sodium chlorite on erythrocytes of A/J and C57L/J mice // J. Environ. Pathol. Toxicol. — 1980.-V.4(2-3).-P. 513-524.
7. Abdel-Rahman M.S., Couri D.H., Bull R.J. Toxicity of Chlorine Dioxide in Drinking Water // J. Amer. College of Toxicol.- 1984.- № 3.-P.277-290.
8. Abdel-Rahman M.S., Couri D., Bull R.J. Kinetics of ClO₂ and effect of ClO₂- and ClO₃- in drinking water on blood glutathione and hemolysis in rat and chicken // J. Environ. Pathol. Toxicol. -1980.-V.3.-P. 431-449.
9. Heffernan W.P., Guion C., Bull R. J. Oxidative damage to the erythrocyte induced by sodium chlorite, in vitro // J. Environ. Pathol. Toxicol. -1979.-V.2.-P. 1501-1510.
10. U.S. Environmental Protection Agency. EPA guidance manual: alternative disinfectants and oxidants. EPA 815-R-99-014. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency.- Washington, D.C, 1999.
11. Контрощикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии. — Н. Новгород, 2000. — 24 с.
12. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике.- Одесса: Экология, 2005.- 616 с.
13. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А. Даниловой.- СПб:Питер, 2003.-736 с.
14. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / Под ред. М.А. Базарновой, В.Т. Морозовой.- К.: Выща школа. Головное изд-во, 1988.-318 с.
15. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники.-Л.:Медгиз,1961. — 340 с.
16. Еритроцит при захворюваннях внутрішніх органів: патогенетична роль морфофункціональних змін, діагностичне та прогностичне значення, шляхи корекції / За ред. М.Ю. Коломойця — Чернівці: Буковинська державна медична академія, 1997.-236 с.
17. Коржевский Д.Э. Определение активности НАДФ — диафоразы в головном мозге после фиксации разной длительности // Морфология.-1996.-Т.109, №3.- С. 76-77.
18. Насібуллін Б.А., Ципкаленко В.О., Паланічка О.В. Участь синтазних систем у процесах старіння шкіри // Дерматологія та венерологія.-2002.- №2. — С. 64-68.
19. Гланц С. Медико — биологическая статистика. — М.: "Практика", 1999. — 459 с.
20. Chlorination by-products (CBPs) in drinking water and adverse pregnancy outcomes in Italy / G. Aggazzotti, E. Righi, G. Fantuzzi et al. // J. Water Health. — 2004.-N 2.-P. 233-247
21. Lipiak D., Drouot N. Skutki zdrowotne zastosowania ClO₂ do dezynfekcji wody pitnej // IV Międzynarodowa Konferencja "Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód". — Krakow- Poznan (Poland). — 2000. — P.79-96.
22. Методичні рекомендації МР 2.2.4. — 147- 2007 "Санітарно епідеміологічний нагляд за знезараженням води у системах централізованого господарсько-питного водопостачання діоксидом хлору". Затверджено МОЗ України, Наказ № 430 від 30.07.2007 р.

*А.В. Мокієнко, Н.Ф. Петренко,
А.І. Гоженко, Б.А. Насібуллін*

**ДІОКСИД ХЛОРУ І ПИТНА ВОДА: ДО
ОБГРУНТУВАННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ
(ПОВІДОМЛЕННЯ 1)**

В умовах субхронічного експерименту на білих щурах встановлено, що діоксид хлору в концентрації 1,35 мг/дм³ у воді не викликає значимих змін показників крові, перекісного окислювання ліпідів, а також структурно-функціональних змін внутрішніх органів у дорослих тварин і в потомстві самок, що споживали воду, яка містить діоксид хлору у тій же концентрації, за винятком стимуляції сперматогенезу і активності NO-S у клітинних елементах селезінки. Результати підтверджують коректність існуючого регламенту незаражування води діоксидом хлору.

A.V. Mokienko, N. F. Petrenko, A.I. Gozhenko, B.A. Nasibullin

**CHLORINE DIOXIDE AND POTABLE WATER: TO
A SUBSTANTIATION OF HARMLESSNESS
(THE MESSAGE 1)**

Results of subchronic experiment on laboratory animals (white unbreeding rats) are presented. It is established, that chlorine dioxide in concentration of 1,35 mg/l in water does not cause significant changes of parameters of blood, POL and also structurally - functional changes of internal bodies in adult rats and in posterity rats, consumed the water containing of chlorine dioxide in the same concentration, except for stimulation spermatogenesis and activity NO-S in cellular elements of a spleen. Results confirm a correctness of the existing rules of disinfecting of water by chlorine dioxide.