## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.3.6

# Сравнительная оценка изменений в свёртывающей системе крови крыс при воздействии органических соединений бора различной химической структуры

Юшков Г.Г., Игуменьщева В.В., Краснова А.Р.

ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет» (665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Игуменьщева Виктория Валерьевна e-mail: viktoria\_iqumen@mail.ru

#### Резюме

**Обоснование.** Несмотря на имеющиеся сведения о клинических проявлениях острой и хронической интоксикации соединениями бора, среди исследований не обнаружено отчётливых свидетельств изучения влияния соединений бора с различной химической структурой на ключевые факторы свёртывающей системы крови. Данные в полном объёме представлены впервые.

**Цель исследования.** Выявление возможных признаков влияния соединений бора на выбранные показатели состояния гемостаза у лабораторных животных и их особенностей в зависимости от химической структуры соединений.

**Методы.** Использованы современные методы изучения гемостаза. В качестве экспериментально-биологической модели выбраны нелинейные крысы. Однократно через рот в максимально переносимой дозе вводились следующие препараты: изопропилметакарборан, 1,2-ди(оксиметил)ортокарборан, 1,7-ди(оксиметил)метакарборан, триэтиламмонийная соль полиборной кислоты, борная кислота. Исследования проведены на фоне динамического контроля.

Результаты. Получены материалы, свидетельствующие о влиянии соединений бора в условиях данного эксперимента на факторы свёртывающей системы крови. Установлены различия этого влияния в связи с химической структурой соединений, особенно отчётливо проявившиеся после введения метакарборанов. Влияние ортокарборана и триэтиламмонийной соли полиборной кислоты на факторы оказалось менее значительным. Важным фактом является и то, что собственно борная кислота по влиянию на свёртывающую систему крови оказалась менее эффективной, чем другие сравниваемые соединения. Заключение. Подтверждена политропность токсического действия соединений бора разной химической структуры и в т. ч. с включением свёртывающей системы крови, но с существенными особенностями каждого из них в условиях однократного воздействия на организм лабораторных животных в максимально переносимой дозе.

**Ключевые слова:** органические соединения бора, токсикологические исследования, эксперимент, влияние на свёртывающую систему крови

**Для цитирования:** Юшков Г.Г., Игуменьщева В.В., Краснова А.Р. Сравнительная оценка изменений в свёртывающей системе крови крыс при воздействии органических соединений бора различной химической структуры. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(3): 41-45. doi: 10.29413/ABS.2020-5.3.6.

### Comparative Assessment of Changes in the Blood Coagulation System in Rats When Exposed to Organic Boron Compounds of Various Chemical Structures

Yushkov G.G., Igumenshcheva V.V., Krasnova A.R.

Angarsk State Technical University (Tchaikovsky str. 60, Angarsk 665835, Russian Federation)

 $\textbf{Corresponding author:} \ Viktoria \ V. \ lgumenshcheva, e-mail: viktoria\_igumen@mail.ru$ 

#### **Abstract**

**Background.** Despite the available information on the clinical manifestations of acute and chronic intoxication with boron compounds, no clear evidence was found among studies to research the effect of boron compounds with different chemical structures on key factors of the blood coagulation system. The data are presented in full for the first time. **Aim of the study.** Identification of possible signs of the effect of boron compounds on selected indicators of hemostasis in laboratory animals and their characteristics depending on the chemical structure of the compounds. **Methods.** Modern methods of studying hemostasis are used. Nonlinear rats were chosen as the experimental biological model. Once through the mouth, in the maximum tolerated dose, the following drugs were administered: isopropylmethacarborane, 1,2-di(oxymethyl)orthocarborane, 1,7-di(oxymethyl)methacarborane, polyethylammonium triethy-

lammonium salt, boric acid. Research conducted against a background of dynamic control.

**Results.** Materials were obtained that testify to the effect of boron compounds under the conditions of this experiment on factors of the blood coagulation system. The differences in this effect are established in connection with the chemical structure of the compounds, which are especially pronounced after the introduction of methacarboranes. The effect of orthocarborane and the polyethylammonium triethylammonium salt on factors was less significant. An important fact is that boric acid per se, by its effect on the blood coagulation system, turned out to be less effective than other compared compounds.

**Conclusion.** The polytropy of the toxic effect of boron compounds of different chemical structures was confirmed, including with the involvement of the blood coagulation system, but with the essential features of each of them under conditions of a single exposure to laboratory animals in the maximum tolerated dose.

Key words: organic boron compounds, toxicological studies, experiment, effect on blood coagulation system

**For citation:** Yushkov G.G., Igumenshcheva V.V., Krasnova A.R. Comparative Assessment of Changes in the Blood Coagulation System in Rats When Exposed to Organic Boron Compounds of Various Chemical Structures. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(3): 41-45. doi: 10.29413/ABS.2020-5.3.6.

#### **ОБОСНОВАНИЕ**

Несмотря на достаточно подробное описание клинических проявлений интоксикации соединениями бора, появившееся в печати ещё во второй половине прошлого века [1], многие из них до сих пор остаются преимущественно декларативными, а влияние, например, карборанов и солей полиборной кислоты на свёртывающую систему крови осталось не исследованным. В литературе встречаются описания взаимодействия в организме магния, бора и кальция, но не в связи с состоянием свёртывающей системы крови [2]. Данными материалами впервые восполняется пробел в области знаний о влиянии органических соединений бора с различной химической структурой на организм, включая и свёртывающую систему крови, с учётом широты их распространения в хозяйственной деятельности человека. Это позволило сформулировать и цель данной работы: выявление возможных признаков влияния соединений бора на выбранные показатели состояния гемостаза у лабораторных животных и их особенностей в зависимости от химической структуры соединений.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В экспериментах использованы нелинейные лабораторные крысы-самцы, в каждой подопытной и контрольной группе – по 8 половозрелых особей на каждый срок обследования, содержавшихся в специализированном виварии. Для оценки влияния на систему свёртывания крови использованы следующие соединения бора, вводимые через рот атравматичным зондом в желудок однократно в максимально переносимых дозах: изопропилметакарборан (CAS 23868-54), 10000 мг/кг в чистом виде; 1,2-ди(оксиметил)ортакарборан (CAS 19610-37-8), 1500 мг/кг в масляной эмульсии; 1,7-ди(оксиметил) метакарборан (CAБ 23924-78-9), 5000 мг/кг в масляной эмульсии; триэтиламмонийная соль полиборной кислоты (САБ 12404-62-5), 1500 мг/кг в масляной эмульсии; борная кислота (CAS 10043-35-3), 1500 мг/кг в масляной эмульсии.

В качестве оценочных показателей выбраны: система первичного гемостаза – количество тромбоцитов в крови [3]; система вторичного гемостаза – время свёртывания крови методом Моравица [3, 4]; концентрация фибриногена в плазме крови хронометрическим методом Клаусса [3]; содержание кальция в сыворотке крови, определяемое титрованием по методу Де Ваарда [3]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2007 и Biostat. Различия считали статистически значимыми при  $p \le 0,05$ , параметрический критерий [5].

Наблюдение за животными осуществлялось в течение 14 дней с обследованием через 3 часа, на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после введения.

Работы с животными проводились в соответствии с существующими требованиями (Национальный стандарт РФ «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р 53434; утверждён и введён в действие Приказом Федерального агентства по технологическому регулированию и метрологии от 02.12.2009 г. № 544-ст; Приказ Минздрава РФ № 708-Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики»). На проведение работ получено разрешение локального этического комитета (Протокол № 5 от 9.09.2017 г.)

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

В результате проведённых исследований установлено, что все включённые в эксперимент соединения бора в той или иной степени вызывают изменения в количестве тромбоцитов в периферической крови. Особенно это было свойственно обоим метакарборанам, причём с характерной динамикой: если через 3 часа после введения изопропилметакарборана и оксиметилметакарборана количество тромбоцитов резко (более 70 %) возросло, то в первом случае на 1-е, 3-и и 7-е сутки оно так же резко упало (до 38 %) с восстановлением к 14-м суткам; во втором случае уже на 1-е сутки количество тромбоцитов снизилось до контрольного уровня. После введения триэтиламмонийной соли полиборной кислоты количество тромбоцитов в крови через 3 часа тоже резко возросло, но к 1-м суткам обследования вернулось к норме. После введения ортокарборана динамика содержания тромбоцитов в крови была несколько иной: лишь тенденция к увеличению через 3 часа и снижение (до 30 %) на 3-и и 7-е сутки с восстановлением до контрольного уровня к 14-м суткам. После введения борной кислоты существенных изменений в количестве тромбоцитов в крови практически не произошло (табл. 1).

При этом концентрация фибриногена в плазме крови существенно возрастала на 3-и и 7-е сутки лишь после введения изопропилметакарборана, незначительно – после введения оксиметилметакарборана – на 3-и сутки. После введения борной кислоты и триэтиламмонийной соли полиборной кислоты концентрация фибриногена оставалась в пределах колебания контроля (табл. 2).

Содержание кальция в сыворотке крови после введения соединений бора разной химической структуры тоже имело характерные отличия: оно возрастало на 1-е, 3-и и 7-е сутки в результате воздействия изопропилметакарборана; на 1-е и 3-и сутки – после воздействия

Таблица 1

Динамика количества тромбоцитов в периферической крови животных после воздействия соединений бора различной химической структуры (× 109/л)

Table 1  $Dynamics of the platelet count in the peripheral blood of animals after exposure to boron compounds of various chemical structures ($\times 10^9/l)$$ 

Соединения	Срок наблюдения				
	3 часа	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки
Изопропил-метакарборан	387,5 ± 23,4*	180,8 ± 9,3*	387,5 ± 23,4*	180,8 ± 9,3*	387,5 ± 23,4
1,2-ди(оксиметил)ортокарборан	305,0 ± 20,0	223,3 ± 17,9	182,5 ± 9,4*	187,5 ± 12,9*	297,5 ± 27,9
1,7-ди(оксиметил)метакарборан	389,2 ± 21,2*	258,3 ± 15,4	263,3 ± 12,9	228,3 ± 13,9	240,0 ± 11,6
Триэтиламмонийная соль полиборной кислоты	367,5 ± 10,5*	225,8 ± 11,2	271,7 ± 7,9	251,7 ± 11,3	299,2 ± 56,6
Борная кислота	321,7 ± 7,9	213,3 ± 12,5	198,5 ± 9,9	250,8 ± 13,4	227,5 ± 9,3
Контроль	270,0 ± 22,2	221,7 ± 14,4	231,7 ± 19,9	259,2 ± 21,3	226,7 ± 14,6

**Примечание.** \* — различия с контролем статистически значимы при p < 0.05.

Таблица 2

Динамика концентрации фибриногена в плазме крови животных после введения соединений бора различной химической структуры (г/л)

Table 2

Dynamics of the fibrinogen concentration in the blood plasma of animals after introduction of boron compounds of various chemical structures (g/l)

Соединения	Срок наблюдения					
	3 часа	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	
Изопропил-метакарборан	2,8 ± 0,2	3,0 ± 0,16	4,2 ± 0,23*	3,6 ± 0,2*	2,6 ± 0,16	
1,2-ди(оксиметил)ортокарборан	$2,5 \pm 0,14$	$3,7 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,12$	$2.8 \pm 0.09$	$2,7 \pm 0,05$	
1,7-ди(оксиметил)метакарборан	$2,7 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$	3,5 ± 0,09*	$2.8 \pm 0.18$	$2.8 \pm 0.12$	
Триэтиламмонийная соль полиборной кислоты	$2.7 \pm 0.08$	$3.3 \pm 0.07$	3,4 ± 0,11*	$2,9 \pm 0,06$	$2.8 \pm 0.16$	
Борная кислота	$2,6 \pm 0,09$	$3.0 \pm 0.15$	$2.9 \pm 0.09$ *	$2,4 \pm 0,19$	$2.8 \pm 0.17$	
Контроль	$2,5 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,13$	$2,5 \pm 0,14$	$2,6 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$	

**Примечание.** \* — различия с контролем статистически значимы при p < 0.05.

Таблица 3

Динамика содержания кальция в сыворотке крови животных после введения соединений бора различной химической структуры (ммоль/л)

Table 3

Dynamics of calcium in blood serum of animals after administration of boron compounds of different chemical structures (mmol/l)

Соединения	Срок наблюдения				
	3 часа	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки
Изопропил-метакарборан	2,1 ± 0,09	2,98 ± 0,09*	3,3 ± 0,05*	3,3 ± 0,09*	2,14 ± 0,11
1,2-ди(оксиметил)ортокарборан	$2,6 \pm 0,07$	$2,7 \pm 0,08$	$2,6 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,09$	$2,2 \pm 0,1$
1,7-ди(оксиметил)метакарборан	$2,1 \pm 0,12$	$2,5 \pm 0,08$	$3,4 \pm 0,09*$	$2.3 \pm 0.08$	$2,2 \pm 0,1$
Триэтиламмонийная соль полиборной кислоты	$2.8 \pm 0.1$	$2,9 \pm 0,12$	$2,9 \pm 0,14*$	$2,6 \pm 0,09$	$2,1 \pm 0,12$
Борная кислота	$2.8 \pm 0.15$	$2,7 \pm 0,14$	2,9 ± 0,12*	$2,7 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,1$
Контроль	2,4 ± 0,1	2,1 ± 0,19	2,4 ± 0,14	2,4 ± 0,14	2,16 ± 0,14

**Примечание.** \* — различия с контролем статистически значимы при p < 0.05.

Таблица 4

Динамика времени свёртывания крови у животных после введения соединений бора различной химической структуры (с)

Table 4

Blood coagulation time dynamics in animals after administration of boron compounds of various chemical structures (sec.)

Соединения	Срок наблюдения					
	3 часа	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	
Изопропил-метакарборан	204,7 ± 9,9*	321,0 ± 38,5	347,2 ± 26,1*	296,0 ± 13,9	280,3 ± 12,9	
1,2-ди(оксиметил)ортокарборан	208,3 ± 18,8*	277,0 ± 18,3	$321,0 \pm 49,5$	$382,5 \pm 26,9$	264,5 ± 27,1	
1,7-ди(оксиметил)метакарборан	255,7 ± 20,5	377,2 ± 30,1*	364,2 ± 13,6*	335,2 ± 32,1	268,0 ± 15,9	
Триэтиламмонийная соль полиборной кислоты	333,8 ± 38,1	271,0 ± 14,4	316,5 ± 29,6	$355,3 \pm 29,3$	272,8 ± 16,6	
Борная кислота	277,5 ± 9,3	264,7 ± 19,3	281,5 ± 52,2	267,3 ± 10,2	274,2 ± 34,2	
Контроль	274,3 ± 6,9	277,7 ± 8,3	$280,5 \pm 9,5$	$298,5 \pm 7,9$	271,7 ± 4,6	
<b>Примечание.</b> * — различия с контролем статистически значимы при $p < 0,05$ .						

триэтиламмонийной соли полиборной кислоты; на 3-и сутки – после воздействия оксиметиметакарборана и лишь в тенденции; на 1-е сутки – после воздействия ортокарборана. На 3-и сутки повысилось содержание кальция в плазме крови животных, получивших борную кислоту (табл. 3).

Динамика времени свёртывания крови в значительной степени соответствовала динамике предыдущих показателей (табл. 4).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Гемостаз – физиологический процесс свёртывания крови, обусловленный наличием в организме животных и человека соответствующих плазменных и клеточных факторов [6], среди которых к ключевым можно отнести концентрацию фибриногена в плазме крови, содержание кальция в сыворотке крови, количество тромбоцитов в крови и время свёртывания крови. Именно эти факторы и были использованы в качестве оценочных показателей возможных изменений в крайне важной системе защитных реакций организма, поддерживающих нормальное агрегатное состояние крови. В условиях данного эксперимента, выполненного с использованием в качестве экспериментально-биологической модели крыс, получивших в зависимости от группы однократно внутрижелудочно максимально переносимые дозы соединений бора различной химической структуры, установлены характерные изменения выбранных показателей гемостаза. Естественной и первичной реакцией на воздействие стало изменение динамики содержания тромбоцитов в крови подопытных животных: резкое повышение в первые часы после введения соединений как следствие химического стресса и резкое же снижение в последующем в результате развития сопутствующих патологических состояний. Динамика содержания тромбоцитов в крови оказалась достаточно выразительной, даже с учётом известной тромборезистентности у крыс. Вторичной реакцией на воздействие оказались изменения и других показателей гемостаза, позволившие условно разделить по «похожести» испытанные соединения на две группы: борная кислота и триэтиламмонийная соль полиборной кислоты (относительно или хорошо водорастворимые); изопропилметакарборан, оксиметилметакарборан и ортоизомер (не растворимы в воде). Обнаруженные изменения могли быть вызваны целым рядом патологических состояний, таких как токсическая анемия, гепатоз, нарушение регуляторной функции центральной нервной системы и прочие. Эти состояния в той или иной степени развиваются при интоксикации многими соединениями бора. К характерным изменениям можно отнести, например, концентрацию фибриногена в плазме крови, которая в норме отличается сравнительно высоким постоянством. Если же концентрация изменяется, то это можно обозначить как специфику действия введённого в организм химического соединения на систему свёртывания крови, в том числе через нарушение функций гепатоцитов, микросомы и рибосомы которых участвуют в синтезе фибриногена. По тому же пути, по-видимому, происходит и изменение в крови содержания ионизиро-

ванного кальция – одного из факторов гемостаза. Кроме этого, испытанные соединения второй группы, нарушая проницаемость сосудов и оболочек форменных элементов крови, способствуют проникновению тканевых и клеточных тромбопластинов в кровь, что приводит к появлению тромбина в кровяном русле. Полученные материалы являются ещё одним подтверждением политропности токсического действия соединений бора при остром отравлении, в т. ч. и органических, с различной химической структурой и особенностями патогенеза. В то же время они ставят под сомнение устоявшееся представление о том, что причиной развития патологических состояний является борная кислота, образующаяся в организме в результате гидролиза соединений бора, т. к. по влиянию на показатели свёртывающей системы крови она оказалась наименее эффективной. Следует отметить и обратимость обнаруженных изменений в течение срока наблюдения, что является обнадёживающим фактом.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Исследованием избранных факторов свёртывающей системы крови животных при однократном воздействии соединений бора различной химической структуры подтверждена политропность их действия. В то же время обнаружены и различия в характере действия на гемостаз каждого из испытанных соединений, возможно, связанные с различиями в водорастворимости. Исследования гемостаза могут позволить дополнительно оценить тяжесть интоксикации, вариант её клинического проявления и исхода. Роль борной кислоты в развитии интоксикации требует дальнейшего исследования с использованием других оценочных показателей.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1. Балынина Е.С. *Бор и его неорганические соединения*. М.: Внешторгиздат; 1989.
- 2. Nielsen FH, Mullen LM, Gallagher SK. Effect of boron depletion and repletion in blood indicators of calcium in humans fed a magnesium-low diet. *J Trace Elem Experim Med.* 1990; 3: 45-54.
- 3. Долгов В.В., Сварин П.В. *Лабораторная диагностика* нарушений гемостаза. М.: Триада; 2005.
- 4. Ингерлейб М.Б. Анализы: Полный справочник. М.: Эксмо; 2009.
- 5. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1999.
- 6. Воробьев В.Б. *Физиология гемостаза*. М.: Проф-Пресс; 2004.

#### REFERENCES

- 1. Balynina ES. *Boron and its inorganic compounds*. Moscow: Vneshtorgizdat; 1989. (In Russ.)
- 2. Nielsen FH, Mullen LM, Gallagher SK. Effect of boron depletion and repletion in blood indicators of calcium in humans fed a magnesium-low diet. *J Trace Elem Experim Med.* 1990; 3: 45-54.
- 3. Dolgov VV, Svarin PV. *Laboratory diagnosis of hemostatic disorders*. Moscow: Triada; 2005. (In Russ.)
- 4. Ingerleib MB. *Analyses: Ultimate guidelines*. Moscow: EKSMO; 2009. (In Russ.)
- 5. Glanz S. *Biomedical statistics*. Moscow: Praktika; 1999. (In Russ)
- Vorobyev VB. Physiology of hemostasis. Moscow: Prof-Press; 2004. (In Russ.)

#### Сведения об авторах

**Юшков Геннадий Георгиевич** — кандидат медицинских наук, ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», e-mail: prof\_ushkov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0845-8038

**Игуменьщева Виктория Валерьевна** — кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедры «Экология и безопасность деятельности человека», ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», e-mail: viktoria\_igumen@mail.ru, https://orcid.org/0001-8544-4011

**Краснова Анжела Рашитовна** — кандидат биологических наук, доцент кафедры «Экология и безопасность деятельности человека», ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», e-mail: ust-ukir@bk.ru, https://orcid.org/0000-0001-9954-2150

#### Information about the authors

Gennadiy G. Yushkov - Cand. Sc. (Med.), Angarsk State Technical University, e-mail: prof\_ushkov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0845-8038

Victoria V. Igumenshcheva — Cand. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Department of Ecology and Safety of Human Activity, Angarsk State Technical University, e-mail: viktoria\_igumen@ mail.ru, https://orcid.org/0001-8544-4011

Anzhela R. Krasnova — Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Ecology and Safety of Human Activity, Angarsk State Technical University, e-mail: ust-ukir@bk.ru, https://orcid.org/0000-0001-9954-2150

Статья получена: 24.02.2020. Статья принята: 22.05.2020. Статья опубликована: 26.06.2020. Received: 24.02.2020. Accepted: 22.05.2020. Published: 26.06.2020.