

СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Г. В. АРОНОВА

**О ЗАВИСИМОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ
И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
СИЛИКОЗА ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ КРЕМНЕЗЕМА**

(03093 — Биохимия)

Автореферат

*диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук*

СВЕРДЛОВСК 1969

СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Г. В. АРОНОВА

О ЗАВИСИМОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ
И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
СИЛИКОЗА ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ КРЕМНЕЗЕМА

(03093 — Биохимия)

Автореферат

*диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук*



СВЕРДЛОВСК 1969

Работа выполнена в Свердловском научно-исследовательском институте гигиены труда и профзаболеваний (директор института — доктор медицинских наук **Б. Т. Величковский**).

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук **Б. Т. Величковский**.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук профессор **А. М. Генкин**.
Кандидат медицинских наук доцент **М. Ф. Лемясев**.

Автореферат разослан «16» XI 1969 г.

Защита диссертации состоится «16» XI 1969 г.
на заседании медико-биологического ученого совета Свердловского государственного медицинского института.

Адрес: Свердловск, 14, Репина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке медицинского института.

Адрес: ул. Ермакова, 7.

Ученый секретарь совета доцент **А. П. Боярский**.

На основании клинических, секционных и экспериментальных данных уже давно установлено, что пыли, содержащие свободную двуокись кремния (кремнезем), обладают наибольшей, по сравнению с другими веществами, способностью вызывать развитие грубоволокнистой соединительной ткани в легких. Это обстоятельство отражено в санитарном законодательстве, определяющем для минеральных пылей тем меньшие предельно-допустимые концентрации их в воздухе рабочих помещений, чем выше в них содержание кремнезема.

Однако, причины особой фиброгенности двуокси кремния до сего времени не выяснены. Своеобразие современного состояния учения о патогенезе силикоза заключается в том, что обойдя вопрос о физико-химических свойствах кремнезема, обуславливающих особенности его действия на организм, центр дискуссии переместился на последующие биологические этапы развития заболевания. В этом плане в последние годы были получены новые фундаментальные факты. В частности было установлено, что внутриклеточное положение пыли (фагоцитоз) является необходимым и обязательным звеном возникновения силикотического фиброза, что в развитии силикоза существенная роль принадлежит иммунологическим механизмам и т. д. Указанный скачок не ликвидировал, тем не менее, необходимости изучения причин особой фиброгенности кремнезема, так как именно этот вопрос, образующий связующее звено между свойствами пылевого фактора и механизмом развития фиброзных изменений в легких является необходимым как для более полного понимания патогенеза заболевания, так и для изыскания новых, более точных критериев гигиенической оценки промышленных печей.

Анализ литературных данных позволяет прийти к заключению, что особое повреждающее действие кремнезема на клетки связано со свойствами поверхности его твердых пылевых частиц.

Обширные исследования причин фиброгенности кремнезема выполнены отечественными авторами. В частности, Б. Т. Величковский еще в 1962 году высказал мысль о связи фиброгенности свободной двуокси кремния с гидроксилами гидратированной поверхности пылевых частиц. Эти представления были ши-

роко развиты в монографии Б. Т. Величковского и Б. А. Качельсона в 1964 году, где авторы критически рассмотрели имевшиеся к тому времени в литературе сведения по данному вопросу, а также попытались более основательно и всесторонне сформулировать гипотезу о силанольных группах гидратированной поверхности кремнезема как о причине его фиброгенности. Однако высказанные ими взгляды в основном базировались на анализе современных представлений о структуре и свойствах поверхности кремнезема и, естественно, нуждались в экспериментальной проверке.

Следует отметить, что с того времени прямых экспериментальных данных, подтверждающих роль силанольных групп в патогенезе силикоза, в литературе не появилось. Так, Шарбонье и Колле (Charbonnier, Collet, 1960) пытались доказать значение силанольных групп в патогенезе силикоза, исходя из того, что при интратрахеальном введении пыли новой кристаллической модификации кремнезема — коэсита, обладающей удельным весом 3,01 (то есть на 14% больше плотности кварца) в легких животных не наблюдалось развития силикотического фиброза. Авторы полагали, что биологическая инертность коэсита объясняется его полной нерастворимостью, в связи с чем на его поверхности не имеется силанольных групп. Однако, последующие исследования Томаса (Thomas, 1965) Бригера и Гросса (Brieger, Gross, 1967) не подтвердили этих данных. В их опытах коэсит вызывал узелковый силикотический фиброз, хотя и менее выраженный, чем вызванный кварцевой пылью. Было установлено, что коэсит обладает растворимостью, соизмеримой с растворимостью кварца. Харингтон (Harrington, 1963), Томас (1965) и др. в качестве доказательства связи фиброгенности кремнезема с силанольными группами его поверхности ссылаются на ингибиторный эффект ингаляций алюминиевой пыли при экспериментальном силикозе. Однако, хорошо известная противоречивость результатов применения алюминиевой пудры и, главное, полное отсутствие доказательств связи ее действия с влиянием на силанольные группы поверхности кремнезема делают подобную аргументацию мало убедительной.

В то время, когда уже проведена значительная часть нашей работы, нам стали известны исследования Клостеркёттера (Klosterkötter, 1965) и Штрекера (Strecker, 1961) о влиянии на фиброгенность кремнезема химического модифицирования его поверхности. В своих экспериментальных исследованиях мы также использовали указанный прием. Однако, в отличие от

нас, немецкие авторы проводили свои работы не с целью изучения механизма биологического действия кремнезема, а для характеристики биологической агрессивности одной из разновидностей аэросила, модифицированной диметилдихлорсиланом с технологическими целями. Аэросилы представляют собой чрезвычайно высокодисперсные порошки чистого кремнезема, получаемые специально как технический продукт и используемые в промышленности в качестве наполнителя резин, ступитителя лаков и красок и т. д. В связи с прикладными задачами своих исследований ни Клостеркеттер, ни Штрекер не анализировали физико-химический механизм и полноту замещения силанольных групп инертными радикалами на поверхности изученных ими образцов аэросила. Главное же, исходный образец аэросила в связи с высокой растворимостью сам по себе обладает мало выраженными фиброгенными свойствами. Поэтому влияние химического модифицирования поверхности в опытах с ним выступает чрезвычайно неотчетливо. В работе немецкого исследователя Штобера (Stöber, 1965) была сделана прямая попытка изучить влияние модифицирования поверхности кремнезема триметилхлорсиланом на его биологическую агрессивность. Однако, в качестве теста использовалось не развитие фиброзного процесса, а гемолитическая активность кварцевой пыли.

С целью экспериментальной проверки роли физико-химических свойств поверхности кремнезема в патогенезе силикоза были предприняты настоящие исследования.

Нами были изучены следующие вопросы:

1. Зависимость степени фиброгенности кремнезема от механизма образования и свойств поверхности пылевых частиц.
2. Влияние химического замещения гидроксидов силанольных групп поверхности кварцевой пыли на ее способность вызывать развитие силикотического склероза в легких.
3. Роль «свободных» и «связанных» силанольных групп в механизме повреждающего действия кремнезема на ткани.
4. Значение группировок, способных к образованию водородной связи во взаимодействиях поверхности кварцевой пыли с белками.
5. Влияние на фиброгенность кварцевой пыли различных группировок, привитых на ее поверхности, способных к образованию водородной связи.
6. Зависимость фиброгенности твердых пылевых частиц, не содержащих атомов кремния, от наличия на их поверхности химически — активных центров, способных к образованию водо-

родных связей: гидроксильных, карбоксильных и амино-групп.

Экспериментальные исследования были проведены на 1104 белых крысах. Пыль вводилась, главным образом, интратрахеально бескровным способом и, частично, подкожно по 50 мг в 1 мл физиологического раствора или разведенной крысиной сыворотки. О степени развития фиброзных изменений судили на основании гистоморфологических и биохимических исследований. Содержание суммарных липидов в высушенных тканях определяли путем экстракции эфиром в аппарате Сокслета; содержание суммарного оксипролина — по методу Нейман и Логан (Neuman, Logan, 1956) в модификации Хвапила (Chvapil 1960); мукопротендов — по Веймер и Мошин (Weimer, Moshin 1957). Исследовался также вес сырых и сухих легких и лимфатических узлов и содержание в легочной ткани пыли — по Стаси и Кинг (Stacy, King, 1954).

Все исследования проводили параллельно у подопытных и контрольных животных.

Химическое модифицирование поверхности кварцевой пыли проводили на базе лаборатории адсорбции химфака МГУ им. М. В. Ломоносова под руководством проф. А. В. Киселева и канд. хим. наук И. Ю. Бабкина, а также в лаборатории элементоорганических соединений Института химии Уральского филиала АН СССР под руководством и при участии канд. хим. наук М. А. Булатова, которым мы приносим искреннюю благодарность.

О связи фиброгенности кремнезема с физико-химическими свойствами его поверхности

Отечественные и зарубежные авторы показали, что с повышением дисперсности силикозогенность кварцевой пыли растет только до известного предела (1—2 микрона), а затем неуклонно снижается. Указанное снижение силикозогенности высокодисперсной кварцевой пыли не может быть объяснено повышением скорости ее элиминации из легких в результате растворения и выноса по лимфогенным путям, так как для высокодисперсного аморфного конденсата двуокиси кремния, где эти причины действительно имеют решающее значение «критическая» дисперсность, превышение которой влечет за собой снижение степени фиброгенности пылей, равняется приблизительно 0,05 микрон, то есть находится на полтора порядка величин ниже по сравнению с кварцевой пылью (Б. Т. Величковский, 1968).

Физико-химическими исследованиями показано, что механическое разрушение кварца приводит к необратимым пластическим сдвигам молекулярных слоев кристаллической решетки, которые на поверхности пылинки теряют свою первоначальную структуру и соответственно исходные свойства. С продолжительностью перемалывания эти изменения нарастают (Г. С. Ходаков, Э. Р. Плудис, 1958; Г. С. Ходаков, А. А. Ребиндер, 1960, 1961; П. П. Будников, А. М. Гистлинг, 1961; Л. И. Эдельман, Г. С. Ходаков, 1967 и др.).

Таким образом, высокодисперсная кварцевая пыль, полученная путем механического измельчения минерала состоит из частиц с измененными физико-химическими свойствами поверхности.

Нами исследовалась фиброгенность двух образцов высокодисперсной кварцевой пыли, один из которых был получен путем перемалывания горного хрусталя, а второй путем измельчения того же куска минерала принципиально иным методом — химической коррозией по Г. С. Ходакову (1962). Удельная поверхность первого образца равнялась $26,7 \text{ м}^2/\text{гр}$, второго — $26,0 \text{ м}^2/\text{гр}$. Таким образом, кварцевые пыли отличались между собой только способом измельчения. Однако, именно поэтому молотый образец, как показали данные рентгеноструктурного анализа, обладал на 30% меньшим количеством кристаллической фазы, то есть состоял из частиц с аморфизированным пограничным слоем, а частицы второго полностью сохраняли кристаллическое строение поверхности.

В качестве эталона сравнения степени фиброгенности изучаемых пылей в эксперименте использовались дополнительно пыль конденсированной двуокиси кремния, образующаяся при плавке технически чистого кремния и отличающаяся высокой фиброгенностью, и силикагель, известный своей высокой растворимостью и низкой фиброгенностью. Обе дополнительные пыли имели удельную поверхность, близкую к таковой кварцевых образцов (32 и $24 \text{ м}^2/\text{гр}$ соответственно). Средний эквивалентный диаметр частиц кварцевых пылей был одинаков и равнялся $0,09$ микрон, для частиц конденсата двуокиси кремния он был равен $0,09$, а силикагеля — $0,12$ микрон.

Результаты исследования показали, что молотый кварц обладал невысокой фиброгенностью, практически такой же, как пыль силикагеля, в то время как фиброгенность химически диспергированного образца была резко повышенной и совпадала с таковой пыли конденсированной двуокиси кремния.

Данные прироста оксипролина на единицу оставшейся в легких пыли особенно четко показали разницу в степени фиброгенности кварцевых образцов. Так, если 1 мг молотого кварца вызывал прирост оксипролина, равный, через 6 месяцев после запыления, 164 мкг, то для кварца, химически диспергированного этот показатель достигал 318 мкг.

Несмотря на то, что растворимость молотого кварца была выше, чем химически диспергированного, обе пыли выводились из организма практически одинаково и крайне медленно, так что через 6 месяцев после начала эксперимента в легких подопытных животных количество молотого кварца равнялось 33,4 мг, а химически диспергированного — 37,7 мг. Поэтому меньшая фиброгенность молотого кварца зависела не от большей скорости его выведения, а от изменений поверхности частиц.

Таким образом, уменьшение фиброгенности высокодисперсных фракций пыли кварца объясняется повышением степени пластической деформации кристаллической решетки минерала в процессе его измельчения и соответственно изменением физико-химических свойств поверхности пылевых частиц.

Роль силанольных групп на поверхности пылевых частиц в фиброгенном действии кремнезема

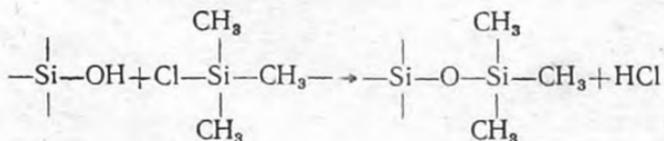
Для решения основной задачи, стоявшей перед нами, выяснения роли силанольных групп в повреждающем действии кремнезема на ткань, необходимо было прямое вмешательство в межмолекулярные взаимодействия на его поверхности. В настоящее время не только в физико-химических исследованиях, но и в производственных целях широко используются методы изменения свойств поверхности кремнезема, основанные на химическом замещении силанольных групп (А. В. Киселев, 1959; 1960; И. Ю. Бабкин, 1962; А. А. Чуйко с соавторами, 1963, 1965; В. А. Тертых с соавторами, 1965, 1966; И. Е. Неймарк с соавторами, 1960, 1961).

С целью удаления силанольных групп нами был использован метод химического модифицирования поверхности кремнезема органохлорсиланами — веществами, имеющими большое химическое родство к соединениям кремния. В процессе такого химического модифицирования гидроксилы силанольных групп поверхности кремнезема замещаются на органические радикалы. Этот метод оказался наиболее приемлемым, так как стой-

кость подобного химического замещения силанольных групп вполне достаточна для изучения модифицированных пылей в биологическом эксперименте.

Исследования проводились на кварцевой пыли, полученной путем размола того же горного хрусталя до дисперсности, наиболее типичной для производственных пылей: 82% частиц размером 1—2 микрона.

Химическое модифицирование поверхности пыли проводили одним из органохлорсиланов — триметилхлорсиланом. В результате гидроксилы силанольных групп поверхности кварца оказались замещенными на химически инертные метильные радикалы — CH_3 . Реакция протекала по схеме:



Степень замещения силанольных групп определялась по содержанию в образцах углерода и зависела от условий, в которых проводилась реакция модифицирования (И. Ю. Бабкин, 1963; А. П. Терентьев, Б. М. Лускина, 1959).

Модифицированные образцы различались величиной органического покрова на поверхности частиц. Поверхность одного из них была модифицирована наполовину — 52%, второго на две трети — 74%, а третий был покрыт толстым слоем органических радикалов (198%). Это давало возможность в биологическом эксперименте изучить зависимость между степенью изменения фиброгенности пыли и величиной органического покрытия частиц.

Сравнительно-экспериментальное исследование фиброгенности полученных образцов было проведено в трех сериях экспериментов на белых лабораторных крысах разного пола (1-я и 2-я серии — на самках, 3-я — на самцах). Продолжительность экспериментов в 1-й и 2-й сериях равнялась 6 месяцам, в 3-й серии — 10 месяцам.

Динамика изменений как количественных, так и качественных показателей во всех трех сериях экспериментов полностью совпадала между собой. В результате замены силанольных групп на метильные радикалы поверхность кварцевой пыли не приобрела токсических свойств, в чем была возможность убе-

Показатели интенсивности пневмоконнонических процессов в легких
Р—достоверность разницы между

Срок ислед.	Характерист. введенной кварц. пыли	Весовые характеристики (мг)					
		сырых	легких р	сухих	р	лимфоузлов	р
1 серия							
6 мес.	Исходный	1350±102	0,0001	274 ± 19	0,0001	339,6±38	0,007
	Модифиц. на 74%	647,6±37	0,027	134±14	0,223	72,6±8	1,0
	Модифиц. на 198%	690±33	0,005	142±10	0,004	59,9±7	0,624
	Контроль	497,9±22	—	107,7±6	—	72,0±6	—
2 серия							
6 мес.	Исходный	5933±857,0	0,003	1210±178	0,0001	681±69	0,0001
	Модифиц. на 52%	4137±306	0,003	855±71	0,0001	305±31	0,0001
	Модифиц. на 198%	3727±168	0,001	764±46	0,0001	320±45	0,002
	Контроль	2215±351	—	412,4±35	—	78,5±6	—
3 серия							
10 мес.	Исходный	5068±258	0,0001	1180±26	0,0001	696,9±73	0,0001
	Модифиц. на 52%	4351±365	0,0001	885±85	0,0001	411,0±76	0,0001
	Модифиц. на 198%	4168±502	0,0001	850±99	0,0001	244,6±27	0,0001
	Контроль	2167±128	—	423±30	—	35,3±7	—

диться на примере образца с многослойным органическим покрытием (198%).

Таким образом, химически инертный метильный радикал оказался также и биологически инертным. Вместе с тем результаты исследований показали, что все модифицированные образцы обладали резко сниженной фиброгенностью. Разница между модифицированными образцами и пылью исходного кварца была в высокой степени достоверна, а между собой все модифицированные пыли по степени фиброгенности не имели статистически достоверной разницы. Так, через 6 месяцев после запыления содержание оксипролина в легких животных с кварцем, модифицированным на 74%, равнялось 1700 мкг (р=0,0001), а с кварцем, модифицированным на 198%—1590 мкг

Таблица 1

животных, запыленных исследуемыми образцами кварца ($M \pm m$) контрольной и опытными группами.

С о д е р ж а н и е						
оксипрол. (мкг)	p	липидов (мг)	p	мукопрот. (мкг)	p	пыли (мг)
экспериментов						
3288 ± 254	0,001	40,8 ± 5	0,008	—	—	15,5
1700 ± 120	0,153	21,5 ± 1	0,0001	—	—	7,3
1590 ± 78	0,178	14,7 ± 2	0,158	—	—	5,7
1353 ± 89	—	8,4 ± 1	—	—	—	—
экспериментов						
17080 ± 2110	0,0001	319,1 ± 30	0,0001	2333 ± 422	0,016	32,8
10290 ± 519	0,0001	211,8 ± 19	0,0001	1239 ± 228	0,061	24,7
9508 ± 442	0,0001	172,4 ± 10	0,0001	1076 ± 159	0,065	20,1
5182 ± 626	—	79,8 ± 4	—	515 ± 96	—	—
экспериментов						
23236 ± 1310	0,0001	174,0 ± 15	0,0001	3304 ± 488	0,0001	19,8
13392 ± 1480	0,003	106,7 ± 11	0,0001	2722 ± 257	0,0001	11,5
12208 ± 1950	0,017	116,4 ± 16	0,0001	2756 ± 431	0,0001	13,4
6638 ± 478	—	51,5 ± 3	—*	1147 ± 205	—	—

($p=0,0001$) при 3288 мкг у животных с пылью исходного кварца (1-я серия экспериментов). Во второй серии экспериментов в этот же срок содержание оксипролина в легких животных, запыленных образцом, модифицированным на 198%—9508 мкг ($p=0,0001$) при 17080 мкг у животных с исходным кварцем. С увеличением времени контакта пыли со средами организма разница между исходным кварцем и модифицированными образцами выявляется еще более четко. Так, в 3-й серии экспериментов через 10 месяцев после запыления у животных с кварцем, модифицированным на 52% этот показатель равнялся ($p=0,001$) 13392 мкг, с кварцем, модифицированным на 198%—12208 мкг ($p=0,001$) при 23292 мкг у животных с исходным кварцем. Указанная зависимость подтверждалась также динамикой измене-

ний и всех остальных показателей: веса легких и лимфатических узлов, содержания липидов и мукопротеидов (таблица № 1).

Прирост оксипролина на 1 мг пыли в легких животных к концу наблюдения во всех трех сериях экспериментов под влиянием модифицированных образцов был в среднем в два раза ниже, чем под влиянием пыли исходного кварца.

Иными словами, данные экспериментов указывают на то, что с разрушением поверхностных силанольных групп фиброгенность кварцевой пыли резко понижается. Поскольку модифицирование поверхности на 74% и даже на 198% не влечет за собой дополнительного ощутимого снижения фиброгенности по сравнению с пылью, модифицированной на 52%, можно заключить, что для падения фиброгенности достаточно блокировать только часть силанольных групп: около половины.

Роль «свободных» и «связанных» силанольных групп в повреждающем действии кремнезема на ткань

Силанольные группы поверхности кремнезема по своей химической активности равнозначны. Те из них, которые отстоят друг от друга на расстоянии, не превышающем 3 ангстрем, образуют взаимную водородную связь и в водной среде совместно вступают во взаимодействие с молекулой воды. Они носят название «связанных» силанольных групп. Силанольные группы, удаленные друг от друга более, чем на 3 ангстрема, не образуют взаимной водородной связи и способны самостоятельно удерживать на себе молекулу воды. Эти наиболее реакционно-активные центры носят название «свободных» силанольных групп (А. В. Киселев, 1957, 1966, 1967; С. П. Жданов, 1958; В. Я. Давыдов с соавторами, 1964; Фрипиат, Еттерховен, Fripiat, Uytterhoeven, 1962).

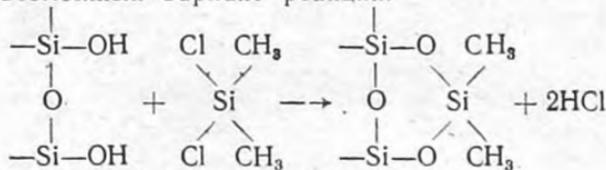
Если биологическая активность силанольных групп на поверхности пыли также не одинакова, то очевидно достаточно блокировать те, которые способны наиболее активно вступать во взаимодействие с биосубстратом, чтобы практически полностью подавить фиброгенные свойства пыли.

Однако, снижение силикозогенности частично модифицированной кварцевой пыли может зависеть и от другой причины. Создаваемые молекулами триметилхлорсилана на поверхности модифицированной пыли «зонтики» метильных радикалов могут экранировать поверхность и препятствовать сближению ее с белковыми и другими макромолекулами организма.

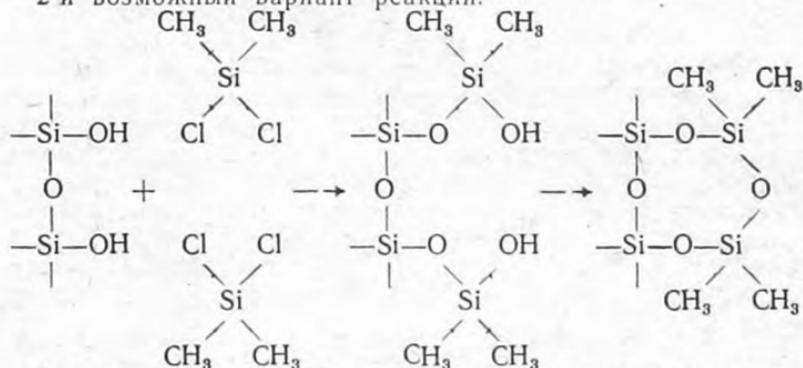
Чтобы проверить, какое из этих предположений является

более правильным, было проведено исследование фиброгенности кварцевой пыли, модифицированной не только триметилхлорсиланом (ТМХС), но и диметилдихлорсиланом (ДМДХС) и метилтрихлорсиланом (МТХС).

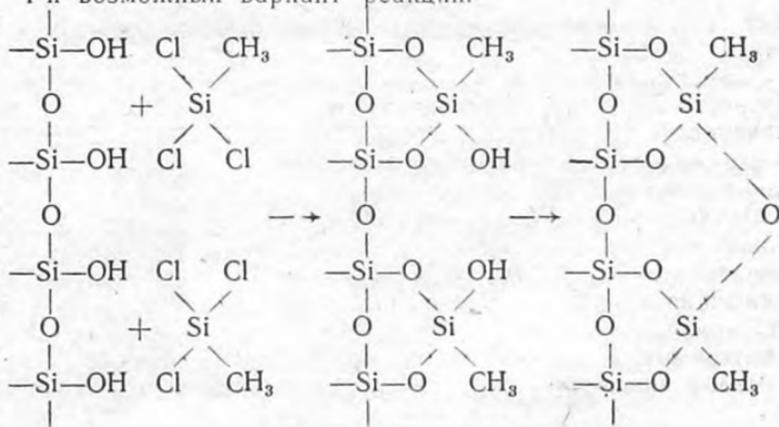
Модификация диметилдихлорсиланом проходила по схеме:
1-й возможный вариант реакции.



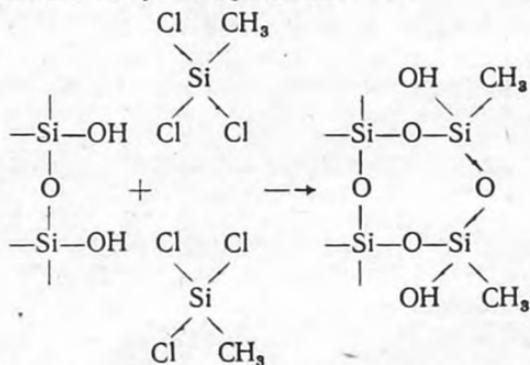
2-й возможный вариант реакции.



Модификация метилтрихлорсиланом проходила по схеме:
1-й возможный вариант реакции.



2-й возможный вариант реакции.



Молекулы ДМДХС обладают более слабым экранирующим эффектом, а молекулы МТХС не обладают им совсем. Помимо этого в силу своей химической природы оба эти модификатора, в отличие от ТМХС способны взаимодействовать не только со свободными силанольными группами, а также, как видно из приведенных выше схем реакций, и со связанными (И. Б. Слиякова и И. Е. Неймарк, 1962; Н. А. Кротова, Л. П. Морозова, 1962; В. Я. Давыдов с соавторами, 1964; А. В. Киселев с соавторами, 1966; В. А. Тертых, 1966 и др.).

Результаты эксперимента показали, что все модифицированные образцы кварца обладали в равной степени резко сниженной фиброгенностью (табл. 2).

Таблица 2

Интенсивность пневмокониотических изменений под влиянием пылей, модифицированных различными хлорсиланами через 10 месяцев после введения

Наименование модификатора	Степень модифиц. %	Вес легких (мг)		Содержание оксипролин. (мкг) р	Содержание липидов (мг) р	
		сырых р	сухих р		р	р
ТМХС	58	3191 0,019	612 0,005	7629 0,001	69,6 0,01	
ДМДХС	100	3351 0,044	635 0,0001	7224 0,001	64,5 0,016	
МТХС	37	3465 0,021	651 0,013	6890 0,0001	69,8 0,016	
Исходная кварцевая пыль	—	4203 —	865 —	11563 —	101 —	
Контроль	—	2078 —	411 —	4700 —	48,7 —	

P — достоверность разницы между группой с исходной кварцевой пылью, с одной стороны и «модифицированными» группами — с другой.

Разница между контрольной и опытными группами была высокодостоверной.

Учитывая, что образец, модифицированный на 37% МТХС, не обладающий экранирующей способностью, и образец, модифицированный на 58% ТМХС, обладающим максимальной экранирующей способностью, не имели практически никакой разницы в степени фиброгенности, экранирование модифицированной поверхности пыли не является причиной снижения силикогенности кварца.

Так как химическое замещение возрастающего количества силанольных групп на поверхности пылевых частиц не влечет за собой дополнительного ощутимого снижения силикотического действия кварцевой пыли (что наблюдалось нами и в предыдущем эксперименте), следует признать, что на поверхности кварца имеются определенные фиброгенно-активные центры.

Поскольку на всех образцах, модифицированных любым из хлорсиланов, в первую очередь замещаются наиболее реакционно-способные «свободные» силанольные группы, не вызывает сомнения, что фиброгенно-активными точками поверхности кварца являются свободные силанольные группы.

Значение группировок, способных к образованию водородной связи, во взаимодействии поверхности кварцевой пыли с белками

В состав белковой молекулы входят аминные и карбоксильные группы, способные к образованию водородных связей. Указанные связи имеют большое биологическое значение, так как ими определяется вторичная структура белковой молекулы (Л. Паулинг, 1947).

Силанольные группы поверхности кремнезема также способны к образованию водородных связей, поэтому специфическое биологическое действие его может быть обусловлено указанным типом взаимодействия поверхности твердых пылевых частиц с белками организма. С этой точки зрения представляло интерес исследование адсорбции белков на поверхности исходных и модифицированных кварцевых пылей.

В эксперименте использовались ранее изучавшиеся нами образцы с привитыми на поверхности инертными метильными радикалами (CH_3), а также пыли кварца с привитыми функци-

онально-активными группировками NH_2 , COOH и OH , которые с атомом кремния в кристаллической решетке минерала были связаны опосредовано через углеродный мостик:



Образцы с активным органическим покровом были получены путем химического модифицирования пыли горного хрусталя с удельной поверхностью $0,5 \text{ м}^2/\text{гр}$ производными хлорсиланов: метил — γ — ацетоксипропилдихлорсиланом и β — цианэтилтрихлорсиланом. Степень модифицирования поверхности всех вновь полученных образцов была одинаковой и равнялась 30%.

Величина адсорбционной способности ранее изучавшихся нами образцов с метильным покровом зависела от степени химического замещения поверхности. Белка адсорбировалось тем больше, чем меньшим оказывался органический покров на поверхности частиц. Так, если на исходной немодифицированной кварцевой пыли с удельной поверхностью $0,5 \text{ м}^2/\text{гр}$ адсорбировалось 4,2 мг белка, то на максимально модифицированном образце с той же удельной поверхностью — лишь 0,8 мг. Полученные данные позволяют заключить, что взаимодействие белковой молекулы с поверхностью кварцевой пыли происходит не только в результате неспецифической физической адсорбции за счет Ван-дер-Ваальсовых сил, но и вследствие специфической хемосорбции за счет водородных связей силанольных групп. Это положение подтверждается данными, полученными при изучении адсорбции белков на модифицированных образцах кварцевой пыли с привитыми гидроксилами, связанными с атомами кремния кристаллической решетки через цепочку углеродных атомов. В условиях прошедшего модифицирования на этих образцах общее количество гидроксильных групп на единице поверхности до модифицирования и после практически оставалось неизменным. Результаты исследования показали, что количество адсорбированного белка на них также не менялось, то есть было такое же, как на исходном кварце (4,5 мг). Одновременно, на образцах с аминированным и карбоксильным покровом белка адсорбировалось даже больше, чем на пыли исходного кварца. Максимальное количество адсорбированного белка было на кварце с карбоксильным покровом (7,3 мг).

Таким образом, результаты изучения адсорбционной способности всех модифицированных образцов кварца позволили прийти к выводу, что величина адсорбции белка на кремнеземе

определяется, главным образом, количеством активных функциональных групп на его поверхности, способных к образованию водородных связей, и в меньшей степени зависит от химического строения указанных групп и характера связи их с атомом кремния в кристаллической решетке минерала.

Влияние на фиброгенность кремнезема различных активных группировок, способных к образованию водородной связи, привитых на поверхность пылевых частиц

Как было показано выше, модифицированные образцы с привитыми метильными радикалами обладают резко сниженной фиброгенностью, что коррелирует с их пониженной способностью адсорбировать белки. Образцы пыли с гидроксильными и карбоксильным покровом, а также аминогруппами по величине адсорбции белка не уступают исходному кварцу. Естественно возникает вопрос: каково влияние таких групп, привитых на поверхность кварцевой пыли, на ее фиброгенность? Были проведены экспериментальные исследования с четырьмя образцами модифицированной кварцевой пыли. Три из них были на 30% покрыты гидроксильными, карбоксильными или амингруппами, связанными с поверхностью пылевых частиц через углеродный мостик; четвертый образец представлял собой исходную кварцевую пыль. Результаты исследований позволили выявить связь между степенью фиброгенности модифицированных образцов и величиной хемосорбированного на поверхность белка (табл. 3). Так, на образце с карбоксильным покровом количество адсорбированного белка превышало таковое на исходном кварце, одновременно эта пыль вызывала больший прирост оксипролина, чем исходный образец. Образец, на поверхности которого силанольные группы были замещены гидроксилами, не связанными непосредственно с атомом кремния, как по количеству адсорбированного на поверхности белка, так и по величине прироста оксипролина на единицу пыли не отличался от исходного кварца. И только на образце с привитыми амино-группами, обладающем высокой адсорбционной способностью в отношении нативных белков фиброгенность оказалась значительно сниженной.

Падение фиброгенности на образце с аминированным покровом явилось результатом нейтрализации привитых аминогрупп основного характера соседними с ним гидроксилами, обладающими слабо кислыми свойствами. Полученные результа-

ты показывают во-первых, что в механизме повреждающего действия кремнезема определенную роль играет его способность адсорбировать белок, во-вторых, что фиброгенная активность не является специфическим свойством силанольных групп, им обладает и ряд других функционально-активных группировок, механизм повреждающего действия которых также связан с хемосорбцией белков за счет водородных связей.

Таблица 3

Зависимость между фиброгенными и адсорбционными свойствами модифицированных образцов кварцевой пыли

Привитая группировка	Степень модификации в %	Кол-во адс. белка в мг/100 мг пыли	Прирост оксипролина на 1 мг пыли, в % от исходного
—	—	4,2	100
—CH ₃	58	3,7	42
—CH ₃	100	0,8	52,5
—OH	30	4,5	94,5
—COOH	30	7,3	115
—NH ₂	30	5,4	66,3

О фиброгенности пылевых частиц, не содержащих кремнезема, но имеющих на поверхности группировки, способные к образованию водородных связей

Чтобы убедиться в том, что фиброгенность пылевых частиц обусловлена наличием на их поверхности функционально-активных группировок, обладающих способностью к образованию водородных связей, были проведены экспериментальные исследования с ионообменными смолами. Исследованию подверглись три вида ионитов: катионит марки КБ-4П2 с карбоксильными ионогенными группами, анионит марки АН-2ФГ с ионогенными аминогруппами и высокополимеризованный поливиниловый спирт с гидроксильными группировками на поверхности. Удельная поверхность пыли поливинилового спирта равнялась 4,4 м²/гр, анионита и катионита 0,9 и 1,0 соответственно. Смолы вводились животным в виде взвеси в физиологическом растворе интратрахеально и подкожно. Результаты как качественных, так и количественных исследований показали, что все три смолы обладают ярко выраженной фиброгенностью, в случае катионита КБ-4П2 даже достоверно более высокой, чем кварцевая пыль

той же дисперсности. Содержание оксипролина в последний срок исследований (через 5 месяцев после запыления) равнялось для исходного кварца 6460 мкг, поливинилового спирта — 5950 мкг ($p=0,507$), анионита АН-2ФГ — 6110 ($p=0,632$) мкг, катионита КБ-4П2 — 8160 мкг ($p=0,047$).

Таким образом, полученные данные подтвердили фиброгенность ионитов. Как было указано Б. Т. Величковским (1968) именно те свойства свободной двуокиси кремния, которые сближают ее с жесткими полиэлектролитами, являются «ответственными» за фибропластические изменения, развивающиеся в живой ткани под влиянием кремнезема.

Фиброгенность промышленных пылей обусловлена совокупностью физико-химических свойств поверхности пылевых частиц, позволяющих расценивать их как твердые (жесткие) полиэлектролиты.

Выводы

1. Фиброгенность кремнезема связана с физико-химическими свойствами поверхности твердых пылевых частиц, на что, в частности, указывает понижение биологической активности высокодисперсных фракций кварцевой пыли, обусловленное выраженной пластической деформацией пограничного слоя кристаллической решетки минерала в процессе его механического измельчения.

2. Результаты экспериментальных исследований показали, что стойкое химическое замещение силанольных групп кварцевой пыли на метильные радикалы резко подавляет ее способность вызывать развитие пылевого склероза. Это позволяет считать, что именно они являются теми функциональными центрами поверхности кремнезема, с которыми связаны его фиброгенные свойства.

3. По химической активности и биологическому значению силанольные группы поверхности свободной двуокиси кремния не равнозначны. Одна и та же степень подавления фиброгенности кварцевой пыли наблюдается при модифицировании ее триметилхлорсиланом в условиях замещения только свободных силанольных групп и при модифицировании другими хлорсиланами, блокирующими как свободные, так и связанные силанольные группы. Поэтому основную роль в повреждающем действии твердых пылевых частиц кремнезема на клетки играют «свободные» силанольные группы.

4. Взаимодействие белковой молекулы с поверхностью пылевых частиц свободной двуокиси кремния происходит не только в результате неспецифической физической адсорбции за счет Ван-дер-Ваальсовых сил, но и вследствие специфической хемосорбции за счет водородных связей с силанольными группами. Не исключена возможность, что в условиях тканевой среды сорбция белков может происходить и за счет электростатических взаимодействий. Количество адсорбирующегося на твердых пылевых частицах белка тем больше, чем больше на них функционально-активных групп, способных к образованию водородной связи, независимо от того, связаны ли последние непосредственно с атомом кремния в кристаллической решетке кремнезема или опосредованно, через углеродный мостик.

5. Фиброгенной активностью обладают не только силанольные группы кремнезема, но и ряд других функционально-активных группировок, способных образовывать водородные связи с белками, о чем свидетельствуют выраженные фиброгенные свойства как кварцевой пыли с привитыми на поверхность гидроксильными, карбоксильными и амино-группами, так и ионообменных смол, несущих те же функционально-активные радикалы.

6. Фиброгенность промышленных полей обусловлена совокупностью физико-химических свойств поверхности пылевых частиц, позволяющих расценивать их как твердые (жесткие) полиэлектролиты.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние химического модифицирования поверхности кварца на его фиброгенность. Конференция молодых научных работников 1966 г. (Ин-т гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР). Тезисы докладов, М., 1966, стр. 143—145.
2. Экспериментальные материалы к оценке роли свободных силанольных групп на поверхности кремнезема в развитии силикоза. В сб. Материалы 14 научной сессии и симпозиума по манганотоксикозу, Свердловск, 1966, стр. 37.
3. К вопросу о значении силанольных групп гидратированной поверхности кремнезема в патогенезе силикоза (экспериментальное исследование). Гигиена и санитария, 1967, № 3, стр. 12—18 (совместно с Б. Т. Величковским, Б. А. Кацнельсоном, П. С. Старковым, Л. В. Беззаботновой, Г. В. Белобрагиной).
4. О механизме первичного взаимодействия кремнезема с биосубстратом в свете путей профилактики силикоза. В сб. Борьба с силикозом, Москва, 1967, т. 7, стр. 268—271.
5. К вопросу о связи между степенью модификации поверхности кремнезема и его повреждающим действием. В сб. Профессиональные заболевания пылевой этиологии, Свердловск, 1967, стр. 50—55.
6. Сравнительно-экспериментальное изучение адсорбции белков на поверхности кварцевых пылей, модифицированных различными силанами. Гигиена и санитария, 1968, № 17, стр. 15—19) совместно с Б. Т. Величковским, М. А. Булатовым).
7. К вопросу о связи между характером и степенью модифицирования поверхности кремнезема и его силикозогенностью. Конференция молодых научных работников 1968 г. (Институт гигиены труда и профзаболеваний АМН СССР). Тезисы докладов, М., 1968, стр. 43—44.
8. К вопросу о природе активных центров на поверхности кремнезема, определяющих его фиброгенность. Гигиена труда и профессиональные заболевания, 1969, № 5, стр. 4—8 (совместно с Б. Т. Величковским, М. А. Булатовым, Г. В. Белобрагиной).
9. Сравнительно-экспериментальные исследования зависимости фиброгенности кремнезема от механизма образования и дисперсности частиц. В сб. Борьба с силикозом, т. 8 (принята в печать).
10. О фиброгенных свойствах пыли жестких полиэлектролитов. В сб. Труды всесоюзного симпозиума по патогенезу пневмокониозов, Свердловск, 1968 (принята в печать).
11. О физико-химических свойствах кремнезема, обуславливающих развитие силикоза. Там же (совместно с Б. Т. Величковским, П. С. Старковым, В. А. Зыковой, Г. В. Белобрагиной, М. А. Булатовым, С. А. Ломоносовым, И. П. Носовой).

НС 34584 Подписано к печати 17/X-69 г. Формат бумаги 60×84¹/₁₆
Объем 1,5 п. л. Тираж 200 Заказ 378

Цех № 1 объединения «Полиграфист», г. Свердловск, ул. М.-Сибиряка, 145