

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Уколов А.И., Радилов А.С.

ТОКСИКОМЕТАБОЛОМИКА ГИДРОКСИЛАМИНА

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека»
ФМБА России, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский

В результате оценки острого и хронического влияния гидроксиламина (ГА) на метаболические профили плазмы крови и мочи крыс, был обнаружен, ранее не изученный путь метаболизма гидроксиламина, а именно образование оксимов ($R=NOH$ или изонитрозосоединений) при его конденсации с альдегидами и кетонами в биологических средах. Среди таких оксимов выявлены: оксим глицеральдегида, оксим пировиноградной кислоты, оксим N-формилглицина, оксим глиоксальной кислоты и оксими моносахаридов и нескольких 2-кетокислот. Помимо образования оксимов, пероральное поступление в организм крыс гидроксиламина с питьевой водой приводит к значительному уменьшению концентраций 2-кетокислот: пировиноградной, 2-кетоизовалериановой, 3-метил-2-кетопентановой и 4-метил-2-кетопентановой кислот в моче. При этом концентрации 2-гидрокси кислот, в том числе молочной, оставались неизменными. С помощью разработанной высокочувствительной методики определения гидроксиламина в биобразцах установлено, что гидроксиламин в неметаболизированной форме сохраняется в кровотоке крыс, получавших дозу 22,6 мкг/кг, рассматриваемую как минимально действующую, несмотря на его высокую реакционную способность.

Ключевые слова: гидроксиламин; кровь; моча; хромато-масс-спектрометрия; токсикометабономика.

Для цитирования: Уколов А.И., Радилов А.С. Токсикометабономика гидроксиламина. Медицина экстремальных ситуаций. 2019; 21(1): 184-192.

Для корреспонденции: Уколов Антон Игоревич, канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, г. Санкт-Петербург. E-mail: AntonUkolov@gmail.com

Ukolov A.I., Radilov A.S.

TOXICOMETABOLOMICS OF HYDROXYLAMINE

Scientific Research Institute of Hygiene, Federal Medical and Biological Agency,
Kuzmolovsky, 188663, Russian Federation

As a result of an assessment of the acute and chronic effects of hydroxylamine (HA) on the metabolic profiles of both blood plasma and urine in rats there has revealed a previously unexplored hydroxylamine metabolism pathway, namely the formation of oximes ($R = N OH$ or isonitroso compounds) during its condensation with aldehydes and ketones biological environments. Among such oximes there were revealed: glyceraldehyde oxime, pyruvic acid oxime, N-formylglycine oxime, glyoxalic acid oxime, and oximes of both monosaccharides and several 2-keto acids. In addition to the formation of oximes, oral ingestion of hydroxylamine with drinking water in rats leads to a significant decrease in the concentrations of 2-keto acids: pyruvic acid, 2-ketoisovaleric, 3-methyl-2-keto-pentane and 4-methyl-2-keto-pentanoic acids in urine. The concentrations of 2-hydroxy acids, including lactic, remained unchanged. Using the developed highly sensitive method for the determination of hydroxylamine in biological samples, hydroxylamine in unmetabolized form was established to be retained in the bloodstream of rats treated with a dose of 22.6 $\mu\text{g/kg}$, which is considered to be minimally effective, despite its high reactivity.

Key words: hydroxylamine; blood; urine; chromato-mass spectrometry; toxicometabolica.

For citation: Ukolov A.I., Radilov A.S. Toxicometabolomics hydroxylamine. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy* (Medicine of Extreme Situations, Russian journal) 2019; 21(1): 184-192. (In Russian).

For correspondence: Anton I. Ukolov, MD, Ph.D., leading researcher of the Laboratory for Analytical Toxicology of the Scientific Research Institute of Hygiene, Federal Medical and Biological Agency, Kuzmolovsky, 188663, Russian Federation. E-mail: AntonUkolov@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received: February 5, 2019

Accepted: February 21, 2019

Гидроксиламин (NH_2OH , далее – ГА) является крупнотоннажным химикатом, в основном применяемым для получения полиамида, объем производства которого в РФ составляет более 150 тыс. тонн в год. Наряду с получением полимеров, ГА используется для синтеза некоторых фармацевтических препаратов, а также рассматривается в качестве перспективного ракетного топлива: по сравнению с гидразином, раствор ГА имеет на 20 % больший удельный импульс и меньшую токсичность [1]. ГА, поступая в организм через кожу или респираторный тракт [2], может вызывать различные токсические эффекты, в частности нарушение дыхания, анемию, метгемоглобинемию и спленомегалию [3]. Основным механизмом токсического действия гидроксиламина является образование метгемоглобина [4].

Цель работы – разработка новых высокочувствительных методов биомониторинга ГА, а также исследование путей его биотрансформации в организме. Причем современные тенденции в токсикологии устанавливают такой уровень чувствительности методов биомониторинга, который позволит определять даже нетоксические концентрации химических веществ и выявлять воздействие токсикантов в концентрациях, отражающих их содержание в окружающей среде. Ключевым этапом разработки таких методов является обнаружение и внедрение в практику аналитической токсикологии новых биомаркеров, а наиболее эффективная стратегия должна предполагать поиск потенциальных биомаркеров как среди ксенобиотиков (биомаркеров экспозиции) так и среди эндогенных соединений, составляющих метаболические профили (биомаркеров эффекта) [5].

Для поиска новых биомаркеров ГА нами было применено сочетание методов нецелевого метаболического профилирования и методов определения ксенобиотиков в биологических образцах лабораторных животных, получавших перорально ГА в различных дозах с различной продолжительностью. Методы нецелевого метаболического профилирования плазмы крови и мочи позволили провести исчерпывающий анализ всех измеряемых метаболитов, в том числе неизвестных [6]. Для количественного определения неметаболизируемого ГА на-

ми была разработана методика измерения его массовых концентраций в плазме крови и моче [7]. Применение методики обеспечивает предел обнаружения 30 нг/мл при использовании ГХ-МС, а при использовании ГХ-МС/МС возможно снизить предел обнаружения до 0,1 нг/мл. Чувствительность методики позволила установить, что ГА сохраняется в кровотоке крыс, получавших дозу 22,6 мкг/кг, рассматриваемую как минимально действующую, несмотря на его высокую реакционную способность.

Материал и методы

Гидроксиламин представляет собой прозрачную бесцветную жидкость с достаточно выраженным ароматическим запахом. В остром эксперименте использовали одну группу животных, которым внутрижелудочно вводили по 101,6 мг/кг ГА, что составляет $\frac{1}{2}$ DL_{50} . Отбор проб крови производили декапитацией через 2 ч после затравки и через 24 ч, отбор проб мочи производили в течение 24 ч. В хроническом эксперименте использовали 4 группы животных, которым давали ГА с питьевой водой в течение 30 дней, таким образом 1-я группа получала дозу ГА 565 мкг/кг, 2-я – 113,1 мкг/кг, 3-я – 22,6 мкг/кг, 4-я – контрольная. В каждой группе было по 6 животных.

Нецелевое метаболическое профилирование образцов плазмы крови и мочи крыс проводили с использованием газовой хромато-масс-спектрометрии в соответствии с [5]. Количественное определение ГА проводили в соответствии с [7]. Количественную оценку профилей жирных кислот плазмы крови проводили в соответствии с [8] и [9]. При идентификации соединений использовали подход, включающий совместную интерпретацию хроматографической и масс-спектрометрической информации [10, 11].

Внесение ГА в кровь или мочу *in vitro* выполняли следующим образом: к 1 мл свежей цельной крови человека (или 2 мл мочи) отобранной из кубитальной вены в пробирки с ЭДТА- K_3 прибавили 2,5 мг (в мочу вносили 5 мг) гидроксиламина в виде 100 мкл водного раствора гидрохлорида. В контрольный образец крови вносили 100 мкл дистиллированной воды. Затем образцы инкубировали при 37 °C в течение 2 ч, после чего образцы охладили, и из

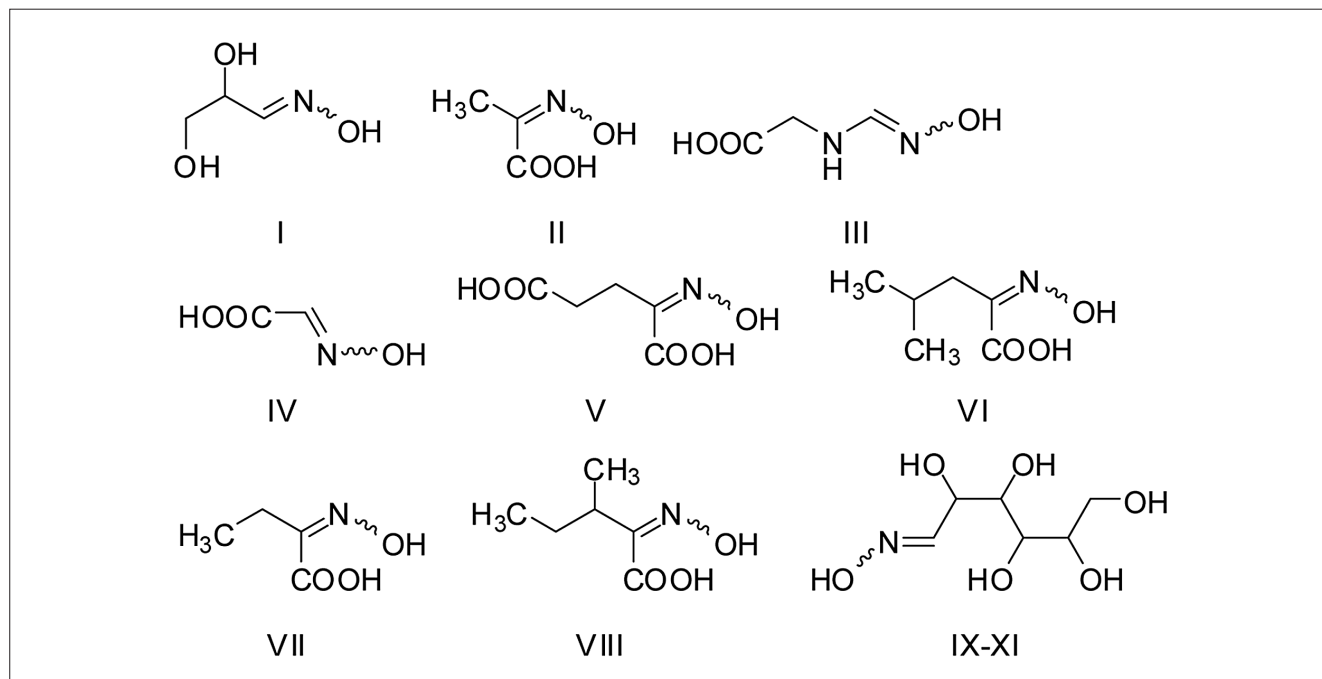


Рис. 1. Структурные формулы идентифицированных метаболитов ГА в крови и моче.

цельной крови отобрали плазму после центрифугирования.

Извлечение метаболитов ГА из плазмы крови проводили следующим образом: к 400 мкл плазмы крови прибавляли ацетонитрил (2×1 мл) и 50 мг NaCl. После встряхивания центрифугировали при 4000 g и отбирали надосадочную жидкость. Полученные экстракты объединяли и упаривали досуха в токе азота. К сухому остатку прибавили БСТФА и анализировали 1 мкл на ГХ-МС. Извлечение из мочи выполняли аналогично, но брали 2 мл мочи и экстрагировали ацетонитрилом (2×2 мл). В качестве внутреннего стандарта были использованы циклогексанол и пальмитиновая кислота-d31.

Условия масс-спектрометрической регистрации метаболитов ГА (рис. 1): I – оксим глицеральдеида m/z 321, $RT^* = 10,990$ и $11,428$ мин (*E* и *Z*-изомеры оксимов); II – оксим пирувиноградной кислоты (пируватоксим), m/z 232, $RT = 8,150$ и $8,442$ мин; III – оксим N-формилглицина m/z 102, $RT = 6,302$ и $6,750$; IV – оксим глиоксалевой кислоты m/z 160, $RT = 9,180$ и $9,222$; V–VII оксимы моносахаридов m/z 319, $RT = 18,708$, $18,790$, $19,332$, $19,451$ и $19,937$.

* RT – время удерживания соединения, мин.

Результаты и обсуждение

ГА является реакционноспособным соединением, вступающим в различные реакции, среди которых окислительно-восстановительные, а также реакции образования оксимов (изонитрозосоединений) с альдегидами и кетонами, широко представленными в крови и моче. Они проявляют способность к образованию комплексов с различными металлами. С точки зрения токсикологии оксимы являются малоизученными соединениями, за исключением оксимов, которые используются в качестве реактиваторов холинэстеразы при отравлениях фосфорорганическими соединениями.

Наиболее крупнотоннажный оксим, производимый в мире, – это оксим циклогексанона, при подостром [12] ($10\text{--}300$ мг/кг) и остром [13] (до 5 г/кг) действии которого на крыс, авторы наблюдали дозозависимое уменьшение количества эритроцитов, концентрации гемоглобина в сочетании с увеличением концентрации ретикулоцитов, увеличение концентрации метгемоглобина, спленомегалию и гепатомегалию. Авторы предполагают, что циклогексаноксим вызывает окислительное поражение эритроцитов и, вследствие этого, гемолитическую ане-

Таблица 1

Результаты выявления биомаркеров экспозиции ГА в плазме крови после внутрижелудочного введения в дозе $\frac{1}{2}$ DL₅₀

Соединение	Концентрация*, нг/мл	
	101,6 мг/кг ($\frac{1}{2}$ DL ₅₀) в/ж	
	2 ч	24 ч
Гидроксиламин	4321 ± 1080	421 ± 131
I – оксим глицеральдегида	476 ± 286	Следы
II – оксим пировиноградной кислоты	259 ± 194	266 ± 173
III – оксим N-формилглицина	106 ± 52*	29 ± 8
IV – оксим глиоксалевой кислоты	46 ± 26	38 ± 28

Примечание. ♦ – указана сумма E- и Z-изомеров; здесь и в табл. 2, 3: * – концентрации обнаруженных метаболитов приведены относительно внутренних стандартов.

Таблица 2

Результаты выявления биомаркеров экспозиции ГА в моче после внутрижелудочного введения в дозе $\frac{1}{2}$ DL₅₀

Соединение	Концентрация*, нг/мл	
	101,6 мг/кг ($\frac{1}{2}$ DL ₅₀) в/ж	
	24 ч	
Гидроксиламин	29 400 ± 7056	
I – оксим глицеральдегида	35 820 ± 19 343	
II – оксим пировиноградной кислоты	97 982 ± 85 244	
V – оксим 2-кетоглутаровой кислоты	473 ± 121	
VI – оксим 2-кетоиокапроновой кислоты	1466 ± 289	
VII – оксим 2-кетомасляной кислоты	390 ± 98	
VIII – оксим 3-метил-2-кетопентановой кислоты	80 ± 24	
IX–XI – оксимы моносахаридов	> 500 000*	

Примечание. • – точное количественное определение затруднительно, однако можно предположить, что суммарное содержание оксимов моносахаридов составляет более 0,5 мг/мл мочи.

мию и увеличение эритропоэза, что во многом роднит оксим и исходный ГА. Можно предположить, что малоизученная токсичность оксимов, являющихся метаболитами ГА, во многом схожа с неметаболизированной формой. Токсикокинетика оксимов изучена недостаточно, тем не менее показано, что циклогексаноксим быстро выводится из крови [14], α-фаза при в/в введении длится всего 1,6 мин, β-фаза – 18,2 мин.

Для предварительной оценки возможных путей химических превращений ГА в крови и моче, а также идентификации возможных аддуктов, нами было проведено внесение ГА в биологические образцы *in vitro* (см. «Материал и методы»). Количество ГА, которое добавлено в мочу и цельную кровь, было избыточным, так как после двухчасового инкубирования в образцах оставался значительный избыток свободного ГА (который был определен методом ГХ-МС в виде триметилсилильного эфира после экстракции).

В соответствии с перечнем выявленных *in vitro* возможных метаболитов был проведен поиск их в образцах крови и мочи, отобранных у крыс после в/ж введения $\frac{1}{2}$ DL₅₀ ГА. Структуры обнаруженных метаболитов приведены на

рис. 1, а приблизительная количественная оценка дана в таблицах 1–3.

В моче, в отличие от крови, выявлены оксимы моносахаридов (соединения VIII–IX). Можно предположить, что значительные количества оксимов моносахаридов, обнаруженные в моче, но не обнаруженные в крови, обусловлены быстрой их экскрецией из кровотока. В пользу этого предположения говорит тот факт, что такие оксимы могут образовываться при взаимодействии ГА с сахарами крови, согласно результатам эксперимента *in vitro*. В моче приблизительная суммарная концентрация этих оксимов составляет более 0,5 мг/мл. Интересно заметить, что и *in vitro*, и *in vivo* соответствующие аддукты образуются только с альдозами, а не кетозами.

Для выявления возможного участия оксимов во II фазе метаболизма и образования аддуктов оксимов с глюкуроновой кислотой [15] проводили сравнение концентрации оксимов в образце мочи до и после ферментативного гидролиза с использованием β-глюкуронидазы. Следова-

Таблица 3

Результаты выявления биомаркеров экспозиции раствором ГА в питьевой воде

Соединение	Концентрация*, нг/мл,					
	введение с питьевой водой					
	плазма крови			моча		
	565 мкг/кг	113,1 мкг/кг	22,6 мкг/кг	565 мкг/кг	113,1 мкг/кг	22,6 мкг/кг
Гидроксиламин	304 ± 155	12 ± 8	8 ± 4	3555 ± 640	106 ± 30	34 ± 18
I – оксим глицеральдегида	10 ± 6	–	–	140 ± 89	10 ± 6	–
II – оксим пировиноградной кислоты	–	–	–	139 ± 74	4 ± 3	Следы

тельно, можно предположить, что глюкурониды оксимов не образуются.

Для выявления наиболее чувствительного биомаркера экспозиции ГА был проведен скрининг аддуктов ГА в крови и моче крыс, получавших ГА с питьевой водой в течение 30 дней. Результаты скрининга и приблизительная количественная оценка приведена в табл. 3.

Наиболее чувствительным биомаркером экспозиции ГА оказалась его неметаболизированная форма и пируватоксим (II), обнаруженный в моче крыс, получавших 22,6 мкг/кг ГА в питьевой воде (самая низкая доза). Моча явилась наиболее подходящей матрицей мониторинга низкоуровневого воздействия. Так, в крови оксим глицеральдегида (I) можно обнаружить только в образцах крови группы крыс, получавших высокую дозу ГА. Соединения III–VII не обнаружены в крови и моче крыс, подвергавшихся хроническому воздействию ГА. Полученные результаты говорят о том, что ГА, несмотря на высокую реакционную способность, тем не менее, присутствует в крови и моче даже при низкоуровневом воздействии. Возможно, наличие ГА в крови даже при низкоуровневом воздействии объясняется тем, что при утилизации повреждённых эритроцитов происходит высвобождение ГА и обратное поступление его в кровяное русло. Это может быть причиной рецидива клинической картины гидроксиламиновой интоксикации спустя 1–2 нед после острого отравления [16].

Учитывая тот факт, что все обнаруженные метаболиты ГА в крови и мочи крыс были также обнаружены в образцах биологических

жидкостей после внесения ГА *in vitro*, можно предположить, что образование этих оксимов не катализируется ферментами. Это позволяет обосновать предложенный список целевых соединений для биомониторинга воздействия ГА на человека.

Исходя из того, что использование методологии, сочетающей методы определения ксенобиотиков и методы метаболического профилирования, позволяет значительно повышать информативность мониторинга, получать новые знания о механизмах действия и выявлять новые биомаркеры химических соединений с ранее неизученным токсическим действием и метаболизмом, было принято решение оценить влияние ГА на метаболические профили биологических образцов лабораторных животных. В результате обнаружено повышение уровня гистамина в крови, увеличение концентрации сфингозина и этаноламина. Несмотря на то, что активность лактатдегидрогеназы не отличалась от данных контрольной группы, выявлено значительное уменьшение концентраций 2-кетокислот: 2-кетоиовалериановой, 3-метил-2-кетопентановой и 4-метил-2-кетопентановой кислот. Результаты профилирования образцов мочи приведены в табл. 4.

Результаты выявления маркеров в плазме крови не приведены, так как в образцах крови, полученных от крыс, подвергавшихся воздействию средней и низкой дозы ГА, не обнаружено статистически значимых отклонений в концентрациях метаболитов. В образцах крыс после острого отравления и хронического в высокой дозе выявлены повышенные концентрации никотиновой, пи-

Таблица 4

**Результаты выявления в моче биомаркеров эффекта раствора ГА
при внутривенном введении крысам-самцам**

Si / Сконтр*				Соединение
101,6 мкг/кг	565 мкг/кг	113,1 мкг/кг	22,6 мкг/кг	
-21,3	-5,1	-3,2	-2,2	3-метил-2-кетопентановая кислота
-10,1	-6,2	-1,8	-**	2-кетонизовалериановая кислота
-8,3	-4,4	—	—	4-метил-2-кетопентановая кислота
-3,9	—	—	—	Пируват
-2,2	-1,5	—	—	N-ацетилсерин
+2,0	+13,1	+4,0	—	Пирофосфорная кислота
+2,7	—	—	—	Сфингозин
+2,8	+10,6	+2,1	—	Никотинамид
+4,2	+26	—	—	Инозитол
+4,5	—	—	—	Этаноламин
+4,8	—	—	—	Гистамин
+4,8	+5,0	+2,3	—	Глицериновая кислота
+6,2	—	—	—	Гидроксибензилпировиноградная кислота
+7,3	+1,2	—	—	Аспарагиновая кислота
+11,1	—	—	—	Гидроксибензилмолочная кислота

Примечание. * – отношение площадей хроматографических пиков i-ой и контрольной групп; "+" – концентрация в группе выше, чем в контрольной в X раз; "-" – концентрация в i-й группе меньше; ** – статистически значимых изменений в концентрации не выявлено.

пектолиновой и глицериновой кислот, инозитола. После острого воздействия через 2 ч выявлено увеличение концентрации дигидроксиацетона, которая нормализуется через 24 ч.

Учитывая, что пируватоксим оказался наиболее чувствительным биомаркером эффекта ГА, нами было проведено количественное определение лактата и пирувата в моче крыс для определения возможного влияния на отношение концентраций лактат/пируват. Концентрации молочной и пировиноградной кислот оценивали методом стандартной добавки (табл. 5).

Концентрация пирувата в моче снижается в среднем почти в 4 раза. Точная кинетика процесса не была определена, и изменение концентрации зафиксировано в моче, которую собирали в течение 24 ч после отравления. В уровнях лактата в моче не выявлено статистически значимых изменений.

В плазме крови при этом выявлено уменьшение концентрации пирувата в 2,5 раза через 2 ч после отравления и превышение нормы

(недостоверное) через 24 ч. Стоит отметить, что оксима пирувата в крови через 2 ч после отравления больше, чем самого пирувата приблизительно в 1,5 раза. Концентрация пируватоксима не изменилась в течение 24 ч, в то время как концентрация пирувата увеличилась практически вдвое больше нормы, к сожалению, вариация значений не позволяет сделать вывод о статистической значимости. Интересно отметить, что если в крови суммарное содержание пирувата и пируватоксима через 2 ч после введения ГА приблизительно соответствует исходному уровню пирувата, что вполне укладывается в простое стехиометрическое соотношение реакции образования оксима, то в моче через 24 ч концентрация пируватоксима в 130 раз превышает концентрацию пирувата. Из этого можно сделать вывод об активной принудительной экскреции пируватоксима из организма.

Концентрация лактата в крови падает почти в 6 раз через 2 ч после отравления и достоверно в 2 раза меньше нормы через 24 ч. Соот-

Таблица 5

Концентрации молочной и пировиноградной кислот в образцах крови и мочи при внутривенном введении раствора ГА крысам-самцам

Концентрация	Лактат, нг/мл	Пируват, нг/мл	Отношение концентраций лактат / пируват
<i>Моча</i>			
Моча (контроль)	826 ± 496	757 ± 606	1,1 ± 0,5
101,6 мг/кг, 24 ч	1011 ± 758	194 ± 147*	5 ± 2*
565 мкг/кг	730 ± 358	440 ± 123	1,7 ± 0,6*
113,1 мкг/кг	690 ± 393	780 ± 577	0,9 ± 0,5
22,6 мкг/кг	713 ± 428	679 ± 509	1,1 ± 0,5
<i>Плазма крови</i>			
Плазма (контроль)	4558 ± 2598	450 ± 270	10 ± 5
101,6 мг/кг, 2 ч	775 ± 620*	184 ± 147*	4 ± 3*
101,6 мг/кг, 24 ч	2300 ± 1725	997 ± 538	2 ± 1*
565 мкг/кг	4660 ± 1212	539 ± 350	8 ± 2
113,1 мкг/кг	6640 ± 5312	609 ± 158	11 ± 6
22,6 мкг/кг	4540 ± 3950	640 ± 557	7 ± 4

Примечание. * – $p < 0,05$.

ветственно, отношение концентраций лактат/пируват в крови в период до 24 ч достоверно снижено. Уменьшение концентрации лактата в крови в связи с метгемоглобинемией описано в [17], авторы отмечают, что более низкие уровни лактата у пациентов, получающих метиленовый синий, позволяют предположить, что метиленовый синий увеличивает тонус сосудов без соответствующего увеличения глобальной тка-

невой перфузии. Концентрации лактата в моче при метгемоглобинемии не описаны.

Наиболее чувствительными биомаркерами эффекта ГА являются концентрации 2-кетокислот в моче. Отношение концентраций 3-метил-2-кетопентановой кислоты и креатинина остается сниженным по сравнению с контрольной группой, даже в при низкоуровневом воздействии 22,6 мкг/кг ГА (рис. 2).

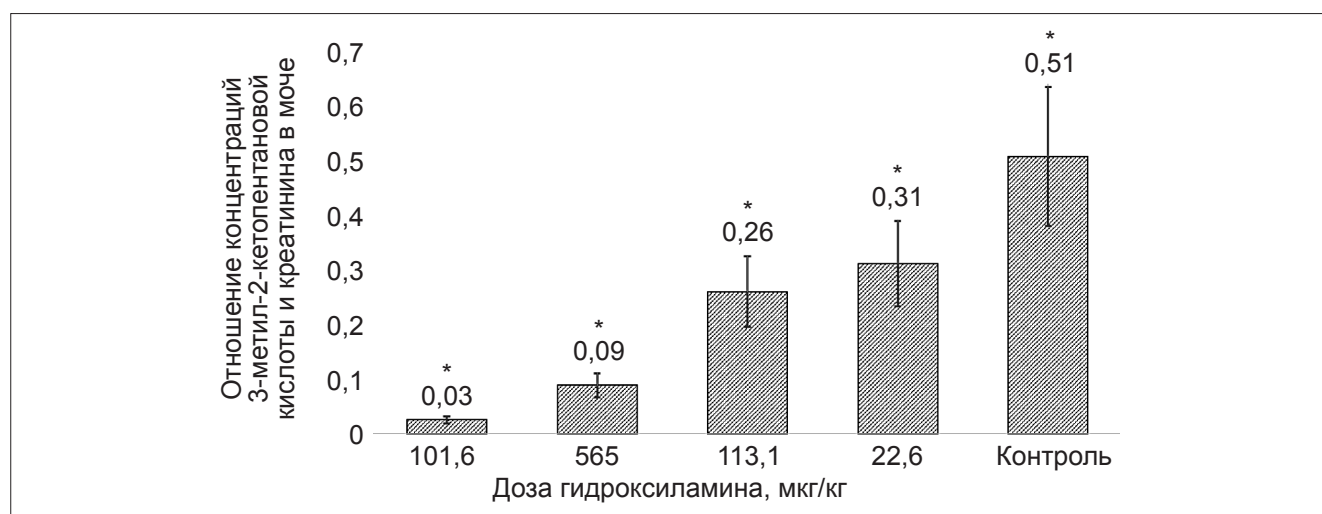


Рис. 2. Отношение концентраций 3-метил-2-кетопентановой кислоты и креатинина в моче крыс, экспонированных различными дозами гидроксиламина.

Таким образом, снижение концентраций пирувата и других 2-кетокислот можно объяснить их химическим связыванием в соответствующие оксимы. При этом активность лактатдегидрогеназы оставалась неизменной во всех группах животных.

Изменения концентрации пирувата и лактата, а также их отношения, имеют статистически значимый характер в образцах, полученных от животных, получавших $\frac{1}{2}$ DL₅₀, а также высокую дозу ГА с питьевой водой.

Заключение

Биомониторинг воздействия гидроксилamina на организм людей, контактирующих с ним, целесообразно проводить с привлечением количественного определения гидроксилamina и оксима пировиноградной кислоты в плазме крови и моче, а также 2-кетоиовалериановой, 3-метил-2-кетопентановой и 4-метил-2-кетопентановой кислот в моче.

Гидроксилamin вызывает уменьшение концентраций 2-кетокислот в моче. Основным путем биотрансформации гидроксилamina в организме является образование оксимов при взаимодействии с глицеральдегидом, пировиноградной и глиоксалево́й кислотами, N-формилглицином и моносахаридами, при этом гидроксилamin сохраняется в кровотоке крыс, несмотря на его высокую реакционную способность.

Учитывая тот факт, что все обнаруженные метаболиты ГА в крови и мочи крыс были нами также обнаружены в образцах биологических жидкостей после внесения ГА *in vitro*, можно предположить, что образование этих оксимов не катализируется ферментами. Это позволяет не вносить изменений в список биомаркеров экспозиции при экстраполяции на человека.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 2-4, 12-15, 17 см. в REFERENCES)

1. Радилов А.С., Дулов С.А., Ерунова Н.В., Земляной А.В., Вивуланец Е.В., Барышева О.В., Ермакова И.Б. Токсикология раствора нитрата гидроксилamina. *Биомедицинский журнал Medline.ru*. 2015; 16: 210-5.

5. Уколов А.И., Кессених Е.Д., Радилов А.С., Гончаров Н.В. Токсикометабономика: поиск маркеров хронического воздействия низких концентраций алифатических углеводов. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2017; 53(1): 23-32.
6. Уколов А.И., Орлова Т.И., Мигаловская Е.Д., Войтенко Н.Г., Гончаров Н.В. Метабономика: на пути интеграции биохимии, аналитической химии, информатики. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(1): 3-17. (см. в References)
7. Уколов А.И., Радилов А.С. Определение гидроксилamina в плазме крови и моче методом газовой хромато-масс-спектрометрии. *Вестник СПбГУ. Физика и химия*. 2017; 4(62): 337-45.
8. Орлова Т.И., Уколов А.И., Савельева Е.И., Радилов А.С. Определение свободных и этерифицированных жирных кислот в плазме крови методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием. *Аналитика и контроль*. 2015; 19(2): 183-8.
9. Уколов А.И., Орлова Т.И., Савельева Е.И., Радилов А.С. Хромато-масс-спектрометрическое определение свободных жирных кислот в плазме крови и моче с использованием экстрактивного алкилирования. *Журнал аналитической химии*. 2015; 70(9): 968-75.
10. Зенкевич И.Г., Уколов А.И., Кушакова А.С., Густылева Л.К. Возможности идентификации изомерных алкиларенов с использованием аддитивных схем оценки газохроматографических индексов удерживания. *Журнал аналитической химии*. 2011; 66(12): 1282-89.
11. Зенкевич И.Г., Уколов А.И. Особенности хромато-масс-спектрометрической идентификации продуктов конденсации карбонильных соединений. *Журнал общей химии*. 2011; 81(9): 1479-89.
16. Проданчук Г.Н., Балан Г.М. Окислительный стресс в формировании гемолитической анемии при токсическом воздействии соединений гидроксилamina (обзор). *Современные проблемы токсикологии*. 2005; 1: 4-10.

REFERENCES

1. Radilov A.S., Dulov S.A., Erunova N.V., Zemlynoi A.V., Vitylanec E.V., Barysheva O.V., Ermakova I.B. Toxicological solution of nitrate of hydroxylamine. *Biomeditsinskiy zurnal Medline.ru*. 2015; 16: 210-5 (in Russian).
2. Gross P. Biologic activity of hydroxylamine: a review. *Crit. Rev. Toxicol.* 1985; 14(1): 87-99.
3. Kinkead E.R., Wolfe R.E., Salins S.A. General toxicity and reproductive screen of liquid propellant XM46 administered in the drinking water of Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Ind. Health*. 1995; 11(2): 199-215.
4. Calabrese J., Tilli F., Horton H.M., Stoddard A. The effects of ethanol on the hematotoxicity of twelve pharmaceutical and environmental agents. *J Environ Sci Health*. 1988; A23: 359-67.
5. Ukolov, A.I., Kessenikh, E.D., Radilov, A.S., Goncharov N.V. Toxicometabolomics: Identification of markers of

- chronic exposure to low doses of aliphatic hydrocarbons. *Zurnal evolyutsionnoy biokhimii I fiziologii*. 2017; 53(1): 25-36. (in Russian).
6. Goncharov N.V., Ukolov A.I., Orlova T.I., Migalovskaya E.D., Voitenko N.G. Metabolomics: On the Way to an Integration of Biochemistry, Analytical Chemistry, and Informatics. *Biol. Bulletin Reviews*. 2015; 5(4): 296-307.
 7. Ukolov A.I., Radilov A.S. Quantification of hydroxylamine in blood plasma and urine with the GC-MS. *Vestnik SPbGU. Fizika I khimiya*. 2017; 4(62): 337-45. (in Russian).
 8. Orlova T.I., Ukolov A.I., Savelieva E.I., Radilov A.S. GC-MS quantification of free and esterified fatty acids in blood plasma. *Analitika i kontrol*. 2015; 19(2): 183-8. (in Russian).
 9. Ukolov A.I., Orlova T.I., Savelieva E.I., Radilov A.S. Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Free Fatty Acids in Blood Plasma and Urine Using Extractive Alkylation. *Zurnal analiticheskoy khimii*. 2015; 70(9): 1123-30. (in Russian)
 10. Zenkevich I.G., Ukolov A.I., Kushakova A.S., Gustyleva L.K. Identification of isomeric alkylarenes with the use of additive relations for the evaluation of gas-chromatographic retention indices. *Zurnal analiticheskoy khimii*. 2011; 66(12): 1165-72. (in Russian)
 11. Zenkevich I.G., Ukolov A.I. Features of the Chromatography-Mass Spectrometric Identification of Condensation Products of the Carbonyl Compounds. *Russian Journal of General Chemistry*. 2011; 81(9): 1818-28.
 12. Derelanko M.J., Gad S.C., Powers W.J., Mulder S., Gavigan F., Babich P.C. Toxicity of cyclohexanone oxime. I. Hematotoxicity following subacute exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol*. 1985; 5(1): 117-27.
 13. Gad S.C., Derelanko M.J., Powers W.J., Mulder S., Gavigan F., Babich P.C. Toxicity of cyclohexanone oxime. II. Acute dermal and subchronic oral studies. *Fundam. Appl. Toxicol*. 1985; 5(1): 128-36.
 14. Parmar D., Burka L.T. Metabolism and disposition of cyclohexanone oxime in male F-344 rats. *Drug Metab. Dispos*. 1991; 19(6): 1101-5.
 15. Miller R.R., Doss G.A., Stearns R.A. Identification of a hydroxylamine glucuronide metabolite of an oral hypoglycemic agent. *Drug Metab. Dispos*. 2004; 32(2): 178-85.
 16. Prodanchuk G.N., Balan G.M. Oxidative stress in the formation of hemolytic anemia under the toxic effects of hydroxylamine compounds (review). *Sovremennye problemy toksikologii*. 2005; 1: 4-10 (in Russian).
 17. Maslow A.D., Stearns G., Butala P., Schwartz C.S., Gough J., Singh A.K. The hemodynamic effects of methylene blue when administered at the onset of cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*. 2006; 103: 2-8.

Поступила 05.02.2019

Принята в печать 21.02.2019