

## ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ АЦЕТАМИНОФЕН К ДОЖДЕВЫМ ЧЕРВЯМ *EISNEIA FETIDA*

*Боксалл А., Аубакирова Б.Н.,  
Бейсенова Р.Р., Хантурин М.Р.*

### **Аннотация**

В данной статье содержатся результаты исследования токсичности лекарственного препарата ацетаминофена к дождевым червям *Eisneiafetida*. Исследование проводилось в соответствии с директивы Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР). Эксперимент состоял из 2 этапов: определение оптимальной влаги для проведения исследований в почве и изучение токсичности медицинского препарата к дождевым червям. В исследованиях концентрация ацетаминофена варьировалась от 0.1-100 мг/кг. Результаты исследования показали, что ацетаминофен является токсичным для дождевых червей и вызывает у них смертность при высокой концентраций.

**Ключевые слова:** окружающая среда, экотоксикология, лекарственные препараты, дождевые черви, ацетаминофен.

### **Введение**

На сегодня особую тревогу вызывает химическое загрязнение биосферы. К основным источникам химического загрязнения принято относить промышленные и бытовые отходы, пестициды и различные токсические вещества. Тем не менее, было обнаружено, что существуют и другие типы химических загрязнителей, которые устойчивы в окружающей среде и которые могут вызвать отрицательное воздействие [1]. К новому классу загрязняющих химических веществ были отнесены лекарственные препараты [2].

Лекарственные препараты – это вещества или комбинация

веществ, которые используются для профилактики, диагностики, лечения болезней и регуляции других состояний организма. Каждый лекарственный препарат перед интродукцией в медицинскую практику подвергается токсикологическому исследованию в опытах на животных, а затем в условиях клиники [3]. Однако, эвентуальные экологические последствия фармацевтической индустрии и применение лекарственных средств только недавно стали темой научных интересов [4].

Впервые люди начали беспокоиться о присутствии лекарственных средств в

окружающей среде, когда на поверхностных водах стран Европы и США были обнаружены медицинские препараты. Таким образом, с 1998 по 2006 число научных работ о наличии лекарственных препаратов в окружающей среде довольно быстро выросло (Рисунок 1) [5].

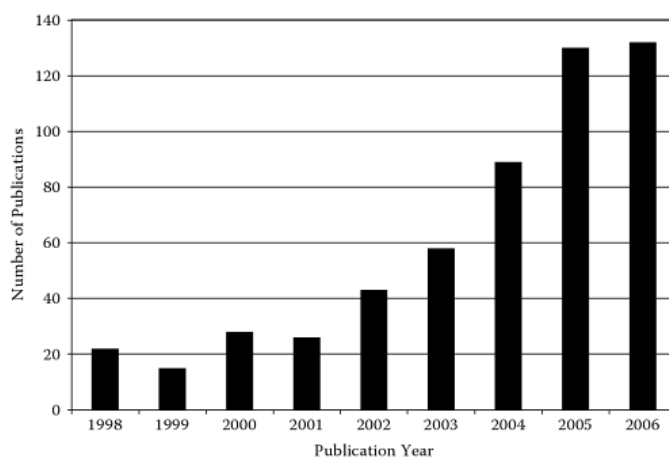


Рисунок 1 – Данные о количестве научных статей про лекарственные препараты в окружающей среде в шести экологических журналах в течение девяти лет [5].

На сегодняшний день уже существует большое количество исследований о наличии лекарственных средств в почве, сточных и подземных водах, а также в тканях животных и растений [6].

Как правило, лекарственные препараты попадают в окружающую среду через сточные воды. На сегодня, очистительные сооружения способны удалять разлагаемые органические компоненты, которые содержатся белки, углеводы и липиды. Тем не менее, лекарственные средства не могут быть полностью уничтожены на очистительных сооружениях,

поскольку они являются биологически активными веществами, которые сложно деградируются [7]. Таким образом, они могут загрязнять речные стоки, питьевую воду и другие экосистемы [2]. Есть доказательства, что некоторые медицинские препараты могут даже изменять структуру других химических соединений в окружающей среде, делая их еще более токсичными [4].

В настоящее время зарегистрировано несколько случаев, которые указывают на негативные последствия фармацевтических препаратов на

различные экосистемы. Одним из примеров является выброс в речную экосистему медицинского препарата - этинилэстрадиола (ЕЕ2), который сильно повлиял на рыб. ЕЕ2 способен феминизировать рыб мужского пола даже в малых концентрациях. Более того, даже при удалении причины - ЕЕ2 - со среды обитания, у рыб остаются последствия воздействия ЕЕ2 [8]. Еще одним примером такого воздействия является влияние нестероидного противовоспалительного лекарственного препарата диклофенака. Этот препарат вызвал отравление Белоголовых стервятников в азиатских странах. В результате этого отравления возрос риск сокращения числа особей стервятников и вымирания данной популяции [9].

Недавно исследователи из Университета Гетеборга в Швеции выяснили, что клотримазол (лекарственное вещество, которое применяется для лечения грибковых инфекций) загрязняет экосистему океана. Оказалось, что этот препарат влияет на развитие клеток водорослей. Поскольку водоросли являются продуцентами, они служат основой для пищевой цепи в экосистеме океана, влияние клотримазола может оказать негативное воздействие на всю экосистему океана [10].

Дождевые черви являются хорошими индикаторами загрязнения почв химическими веществами. Они играют важную роль в почвенной системе из-за их воздействия на структуру и функцию почв. Дождевые черви

способны повысить плодородие почвы, поскольку они образуют органический слой вещества в верхнем слое почвы [11]. Ученые часто используют дождевых червей для мониторинга загрязнения почв сельскохозяйственных земель и городских районов.

В настоящее время было проведено много исследований о воздействии химических веществ дождевым червям. Например, в исследованиях Ньюхоузера было изучено воздействие тяжелых металлов на *Eisneiafetida*. Результаты этого исследования показали, что Cu, Ni и Zn являются наиболее токсичными для дождевых червей. Их LC<sub>50</sub> варьировались от 643 мг/кг до 757 мг/кг [12]. Джонес изучал токсическое воздействие полиароматического углеводорода пирена к дождевым червям и обнаружил, что 40 мг/кг концентрации пирена у них вызывает смерть [13].

Ацетаминофен является широко распространенным обезболивающим, противовоспалительным, жаропонижающим средством в медицине. Есть вероятность, что данный препарат может токсично воздействовать на экосистему. Основываясь на экотоксикологических исследованиях по Хеншеля с водорослями, дафнии, эмбрионов рыб и бактерий, ацетаминофен классифицируется как вредное вещество для водных организмов [14].

В данном исследовании были изучены токсичные воздействия

лекарственного препарата «Ацетаминофен» на дождевых червей.

### Методы и материалы

Исследования проводились на взрослых дождевых червях *Eisneiafetida* массой 0.3-2.7 гр. Дождевые черви были собраны вручную в поле вблизи Йоркского Университета (Великобритания).

После сбора для акклиматизации они были помещены в почву в инкубатор на 5 дней. Температура инкубатора была +15°C. После завершения эксперимента черви были освобождены обратно в поле. Почва для эксперимента была собрана также вблизи Йоркского Университета. После отбора почва была просеяна через сито размером пор 2.2 мм.

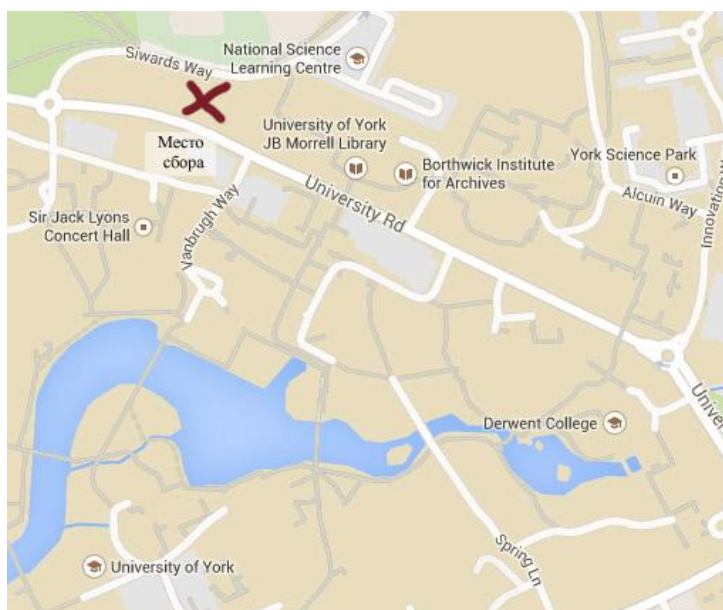


Рисунок 2 – Карта с указанием места сбора дождевых червей и почвы (GoogleMap, 2015)

Оценка токсичности лекарственного препарата производилась с помощью директива Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР)[15]. Для изучения токсичности на дождевых червях был использован лекарственный препарат «Ацетаминофен». Общеданные ацетаминофена приведены в Таблице 1.

Исследования проводили в 2 этапа. Первый этап заключался в определении соответствующих условий почвы для жизнедеятельности червей.

Дождевые черви были размещены в пластиковые контейнеры с почвой (500 г), различной концентрацией дистиллированной воды (40 мл, 55 мл, 60 мл) и разным весом корма, в качестве которого был использован овес.

Перед размещением дождевых червей в контейнеры с почвой была определена масса каждого дождевого червя. Затем, определялась масса каждого контейнера с дождевыми червями. В течение 10 дней каждый день взвешивали контейнеры и делали сравнительный анализ с массой

первого дня. Затем, на 10 день все дождевые черви были собраны из почвы и снова взвешены индивидуально. После определения соответствующих условий почвы, на 2 этапе исследования

проводилась оценка токсичности ацетаминофена дождевых червях.

Таблица 1. Общая характеристика ацетаминофена [16]

Название	Ацетаминофен
Химическая структура	
Молекулярная формула	$C_8H_9NO_2$
$\text{Log}K_{ow}$	0.46
$pK_a$	9.38
S, мг/л	12.9
Чистота, %	99.0
Поставщик	SigmaAldrich

В начале эксперимента был приготовлен водный раствор ацетаминофена концентрацией 5 г/л. Из исходного раствора были сделаны растворы с концентрацией 0.5 г/л, 0.05 г/л и 0.005 г/л. Затем данные растворы были добавлены в контейнеры с почвой и водой. После этого в каждый контейнер были добавлены по 6 дождевых червей и была определена масса каждого контейнера. В течение 21 дня каждый день определяли массу контейнеров *Eisneiafetida* сравнивали ее с первым днем. К 14 и 21 дню была определена масса каждого дождевого червя и был проведен сравнительный анализ.

### Результаты

На первом этапе эксперимента средний вес *Eisneiafetida* была 0.62 г  $\pm$  0.39. На 10 день их средний вес составлял 0.66 г  $\pm$  0.41. Было определено, что высокая влага

замедляет рост дождевых червей и оптимальным является среднее содержание воды с 5 г корма (Рисунок 3).

На втором этапе масса каждого *Eisneiafetida* была 1.16 г  $\pm$  0.14. Во время исследования рост дождевых червей составил 2.8%  $\pm$  0.12. В общем счете умерло 3 дождевых червей во время эксперимента (Таблица 2).

Согласно Рисунку 4 высокая концентрация ацетаминофена показала самый низкий рост *Eisneiafetida* за 21 дней. Тем не менее, данная же концентрация показала наивысший рост на 14 день эксперимента. Концентрация 0.1 мг/кг оказалась безопасной для дождевых червей, поскольку она показала наибольший рост *Eisneiafetida* за 3 недели. При концентрации 100 мг/кг физическое состояние дождевых червей ухудшилось. По сравнению с

контрольными данными их активность была низкой. Более того, на 21 день длина тела контрольных *Eisneiafetida* была

больше по сравнению с длиной дождевых червей с концентрацией 100 мг/кг.

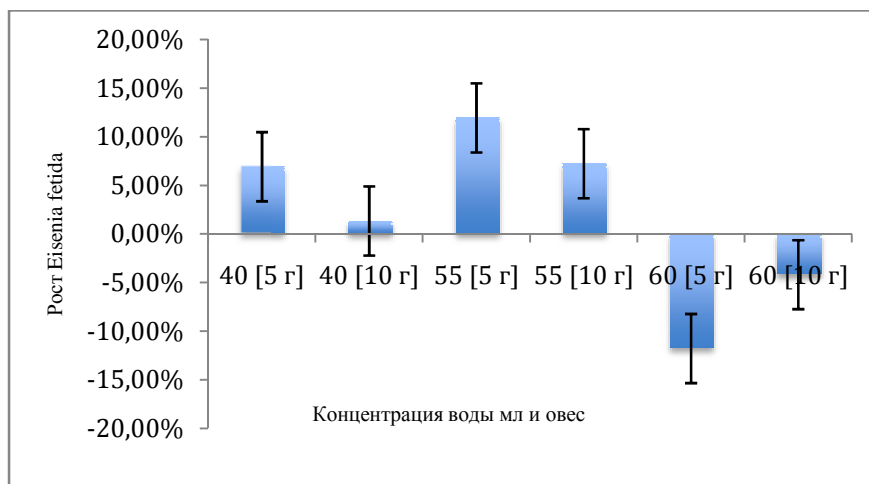


Рисунок 3 – Рост *Eisneiafetida* за 10 дней.

Таблица 2 - Токсичность ацетаминофена к дождевым червям.

Концентрация, мг/кг	Смертность через 14 дней	Средний вес на 14 день, г	Смертность через 21 дней	Средний вес на 21 день, г
0	1	1.04	0	1.11
0.1	0	1.56	0	1.47
1.0	0	1.33	0	1.27
10	0	1.40	0	1.37
100	0	1.29	3	0.85

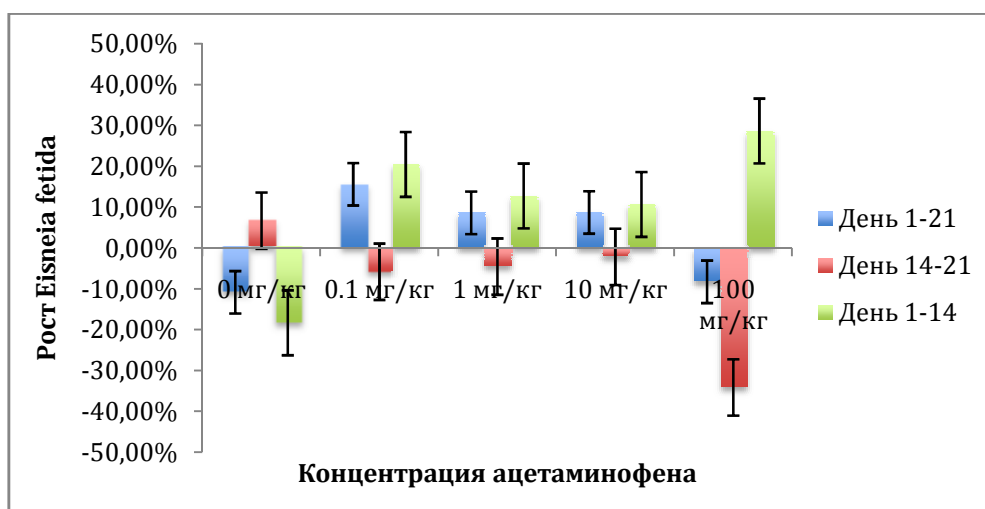


Рисунок 4 –Рост *Eisneiafetida* в течение 3 недель в изучение токсичности ацетаминофена.

### Обсуждение и заключение

На сегодняшний день очень мало данных о воздействии влаги и пищи на уровень токсичности дождевых червей. В руководстве ОЭСР не указана информация об оптимальных условиях влажности почвы при исследованиях токсичности химических веществ у дождевых червей. Ранее Ван Гестел и др изучали как характеристика почвы может повлиять на исследование токсичности химических веществ для червей. Результаты показали, что рН и содержание органических веществ оказывают воздействие на токсичность червей химическими веществами. Однако, не было показано влияние содержания влаги или объема пищевых продуктов для выполнения исследований по токсичности [17].

Очень важно поддерживать влажность почвы для дождевых червей, поскольку 75% их тела состоит из воды. В соответствии с представленными результатами можно сделать вывод, что самое оптимальное условие для

проведения эксперимента на токсичность - это добавление 55 мл воды с 5 г овса на 500 г. Снижение количества воды в почве может привести к засухе, а высокая влажность приведет к анаэробным условиям и в результате дождевые черви будут лишены кислорода и начнут терять массу тела [18].

Ацетаминофен оказался токсичным для дождевых червей *Eisneiafetida*. Высокая концентрация данного препарата оказала значительное влияние и привела к их гибели. Кроме того, также была обнаружена смертность в контроле в начале эксперимента. Смертность в контроле может быть связано с болезнью *Eisneiafetida* до эксперимента. Ранние исследователи изучали токсичность тяжелых металлов для дождевых червей. В их работах также была показана низкая репродуктивность и смертность у дождевых червей контрольной группы. Они предполагают, что это происходит из-за недостатка микроэлементов в контрольных образцах

почвы. Таким образом, вполне возможно, что в наших экспериментах *Eisneiafetida* контрольных контейнеров не развивались также из-за ограниченности микроэлементов в почве [19]. Вполне вероятно, эти микроэлементы могли помочь им развиваться и они не погибли бы.

В настоящее время фармацевтические препараты используются очень широко. Их воздействие на почву и дождевые черви все еще плохо изучены. В основном, фармацевтические препараты не подвергаются биологическому разложению в почве. Также малоизвестны сведения о взаимоотношении лекарственных препаратов и дождевых червей, и они нуждаются в дальнейших исследованиях. Тем

не менее, можно сделать вывод, что в основном, фармацевтические препараты играют отрицательную роль в развитии дождевых червей. Дальнейшие исследования настоящей работы являются весьма значительными. Известно, что дождевые черви являются добычей птиц и мелких млекопитающих. Это значит, что они играют важную роль в пищевой цепи и может поглощать фармацевтические препараты в своих тканях. В таком случае, некоторые концентрации медицинских препаратов могут передаваться к наземным позвоночным животным и, таким образом, негативно воздействовать на экосистему.

### Список литературы

1. Beausse, J. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental occurrence, determination and properties of principal substances //Trends Anal Chem – 2014 – 23 (10–11) – С.753–761.
2. Daughton, C. G., Ternes, T. A. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? //Environmental Health Perspectives – 1999 – 107 (6).
3. Медицинские совет. Образовательный проект журнала. [Электронный ресурс]URL: <http://www.remedium.ru/drugs/detail.php?ID=29681>(Дата обращения 2 Март 2015)
4. Boxall, A. The environmental side effects of medication //European Molecular Biology Organization– 2004 – 5 (12) – С.1110-1116.
5. Aga, D. S. Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems // USA: Taylor and Francis Group– 2008.
6. Sumpter, J. Part I. Chapter 2. Pharmaceuticals in the Environment: Moving from a Problem to a Solution //В К. Kummerer, M. Hempel, Green and Sustainable Pharmacy. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010.
7. Williams, R. Human Pharmaceuticals: Assessing the impacts on aquatic ecosystems //Society of Environmental Toxicology and Chemistry – 2005.



8. Maes, H. Fate of ethinylestradiol in the aquatic environment and the associated effects on organisms of different trophic levels[Электронныйресурс] – 2011 – URL:<http://darwin.bth.rwth-aachen.de/opus3/volltexte/2011/3867/pdf/3867.pdf> (Датаобращения 10 Март, 2015)
9. Swan, G., Naidoo, V., Cuthbert, R., Green, R., Pain, D., Swarup, D. Removing the Threat of Diclofenac to Critically Endangered Asian Vultures //PLOS Biology2006 – 4 – C.0395-0402.
10. Lowe, C. The Ocean’s Food Chain Threatened By Skin Cream.[Электронныйресурс] – 2012 – URL: <http://easyhealthoptions.com/the-oceans-food-chain-threatened-by-skin-cream/> (Датаобращения 10 Март, 2015)
11. Kaonga, C. C., Monjerezi, M. Periphyton and Earthworms as Biological Indicators of Metal Pollution in Streams of Blantyre City, Malawi, Water Pollution[Электронныйресурс] – URL: <http://www.intechopen.com/books/water-pollution/periphyton-and-earthworms-as-biological-indicators-of-heavy-metal-pollution-in-streams-of-blantyre-m>(Датаобращения 25 Август, 2013)
12. Neuhauser, E. G., Loehr, R. C., Milligan, D. L., Malecki, M. R. Toxicity of metals to the earthworm *Eisenia fetida* //Biol. Fert. Soils– 1985 – 1 – C.149-152.
13. Jones, O. A., Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Griffin, J. L. A metabolomics based approach to assessing the toxicity of the polyaromatic hydrocarbon pyrene to the earthworm *Lumbricus rubellus* //Chemosphere– 2008 – 71 (3).
14. Huber, C., Bartha, B., Harpaintner, R., Schröder, P. etabolism of acetaminophen (paracetamol) in plants—two independent pathways result in the formation of a glutathione and a glucose conjugate //Environ Sci Pollut Res – 2009 – 16– C.206-213.
15. Organisation for Economic Co-operation and Development //Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/ *Eisenia Andrei*).OECD. – 2004.
16. Helmenstine, A. M. Acetaminophen - ParacetamolChemicalStructure[Электронныйресурс] – URL:<http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---A/Acetaminophen---Paracetamol.htm>(Датаобращения 16 Март, 2015)
17. Van Gestel, C. A., Van Dis, W. A. (1988). The influence of soil characteristics on the toxicity of four chemicals to the earthworm *Eisenia andrei* (*Oligochaeta*) //Biol. Fert. Soils– 1988 – 6 – C.262-265.
18. Raising earthworms[Электронный ресурс] <http://www.redwormcomposting.com/raising-earth-worms/> (Дата обращения 27 Июль 2013)
19. Lukkari, T., Aatsinki, M., Vaisanen, A., & Haimi, J. (2005). Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworm tests // Applied Soil Ecology – 2005 – 30 – C.133-146.

## Түйін

Бүгінгі күніғалымдар қоршаған ортаның дәрі-дәрмектермен ластануынбайқап жатыр. Көптеген жүргізілген зерттеулер нәтижесі дәрі-

дәрмектердің суда тіршілік ететін организмдерге улы екенін көрсетті. Алайда, дәрі-дәрмектердің жауын құрттарына әсері туралы әлі мәліметтер шектеулі. Берілген мақалада ацетаминофен дәрі-дәрмегінің *Eisneia fetida* жауын құрттарына токсикалық әсерін зерттеу нәтижелері көрсетілген. Берілген зерттеу жұмысы Экономикалық ынтымақтастық пен даму ұйымының нұсқауына сәйкес жүргізілген. Зерттеу 2 кезеңнен тұрды: зерттеу топырағында қолайлы ылғалдылықты анықтау және дәрі-дәрмектің жауын құрттарына токсикалық қасиеттің зерттеу. Зерттеу барысындағы ацетаминофен концентрациясы 0.1-100 мг/кг шамасында болды. Зерттеу нәтижесі бойынша, ацетаминофен жауын құрттары үшін улы екені анықталды. Оның жоғарғы концентрациясы жауын құрттарының өліміне әкеледі.

### Summary

Currently, scientists have started to concern about pharmaceuticals pollution in the environment. Many studies have proved the toxicity of pharmaceuticals to aquatic organisms. However, there are very limited studies about toxicity of pharmaceuticals to earthworms, which are preys for many terrestrial vertebrate species and play an important role in biomagnification process. This article includes the results of a study of the toxicity of acetaminophen to earthworms *Eisneia fetida*. The study was conducted in accordance with the directives the Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). The experiment consisted of two phases: the definition of the optimum moisture in soil and the study of toxicity of medicine to earthworms. The concentration of acetaminophen in the study ranged from 0.1-100 mg/kg. The results of the study showed that acetaminophen is toxic to earthworms and causes them mortality at high concentrations.