

Експериментальна медицина та морфологія

УДК 616.273.2-085.214.21:612.017.2

Л.І. Власик, Т.І. Кметь, О.М. Жуковський, І.Ф. Прунчак, Н.М. Фундюр, Т.І. Грачова

ГІГІЄНИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ НІТРАТУ НАТРІЮ ТА ХЛОРИДУ КАДМІЮ З УРАХУВАННЯМ ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА ХАРАКТЕРУ МЕТАБОЛІЗМУ

Кафедра гігієни та екології (зав. – проф. Л. І. Власик)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці;
ДП НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, м. Чернівці

Резюме. У науково-дослідній роботі вирішене актуальне наукове завдання щодо обґрунтування використання в гігієнічних дослідженнях фенотипу ацетилювання як біомаркера схильності до несприятливого впливу хімічних речовин. На моделях підгострого впливу нітрату натрію і хлориду кадмію з'ясовані вікові особливості та гігієнічне значення біохімічних змін як критеріїв шкідливої

дії. При уведенні тваринам упродовж 14 днів нітрату натрію і хлориду кадмію, відповідно, у дозах 1/15 DL_{50} та 1/150 DL_{50} виявлено, що в молодому віці маркером схильності є „повільний” тип ацетилювання, а в дорослих та старечих особин – „швидкий” тип ацетилювання.

Ключові слова: хлорид кадмію, нітрат натрію, ацетилювання.

Вступ. Сталий економічний розвиток суспільства неможливий без створення оптимального середовища життєдіяльності для кожної людини. Безпосередню участь у вирішенні цієї проблеми займає профілактична медицина через виявлення та запобігання шкідливій дії несприятливих чинників на організм. Сьогодні, поряд із можливістю організації профілактики на популяційному рівні, все більше багатобічним стає підхід, який враховує в профілактичних рекомендаціях унікальність генотипу кожної людини [4]. Не випадково одним із пріоритетів, висунутих Європейським комітетом із довкілля та здоров'я, є ідентифікація найбільш уразливих груп населення, пошук маркерів чутливості і створення можливої стратегії їх захисту від впливу ксенобіотиків на виробництві та в побуті [19].

В останні роки предметом інтенсивних досліджень стало вивчення ролі системи ацетилювання в схильності до шкідливої дії хімічних речовин. Існує припущення [10], що маркером схильності до дії несприятливих чинників навколишнього середовища, зокрема солей важких металів та сполук азоту виступає тип ацетилювання.

В Україні існують регіони з одночасним забрудненням важкими металами, зокрема кадмієм, а також нітратами, де їх надходження до організму перевищує гігієнічні нормативи в 5–10 разів [7, 9]. Враховуючи те, що їхні порогові концентрації встановлені без урахування віку та типу метаболізму, тобто

дії на найбільш уразливі верстви населення, стає очевидною їх потенційна небезпека для цієї частини популяції.

У 2009 році завершена п'ятирічна науково-дослідна робота (НДР) кафедри гігієни та екології Буковинського державного медичного університету на тему «Токсиколого-гігієнічна оцінка вікових та фенотипічних особливостей розвитку токсичних ефектів за умов комбінованої дії важких металів та нітратів».

Мета дослідження. На основі гігієнічної оцінки токсичних ефектів комбінованого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію запропонувати з урахуванням віку і особливостей характеру метаболізму біомаркери схильності та біохімічні критерії шкідливої дії.

Матеріал і методи. Для досягнення поставленої мети проведено експериментальні дослідження з урахуванням норм біостатики на білих конвенційних аутбредних щурах – самцях віком 1,5, 6 та 22 місяці, яких утримували на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та в стабільних умовах. Кількість тварин у статистичній групі становила 6-8.

Для визначення ацетилюючої здатності тваринам вводили внутрішньошлунково (за допомогою зонда) сульфадимезин (на 1% крохмальному розчині), із розрахунку 100 мг/кг маси тіла. Протягом трьох годин у тварин збирали сечу, в якій визначали активність N-ацетилтрансферази [КФ 2.3.1.5] за методом Пребсінг-Гаврилова в модифікації Тимофєєвої [15]. За кількістю виділеного із сечею вільного та загального сульфадимезину дослідних тварин розподілено на дві групи: „швидкі” та „повільні” ацетиля-

тори. У кожній групі виділено дві підгрупи: I – контрольні тварини, II – тварини, яким вводили хлорид кадмію та нітрат натрію.

Підгостру інтоксикацію моделювали шляхом внутрішньошлункового уведення дослідним тваринам усіх вікових груп нітрату натрію в дозі 500 мг/кг маси тіла, що дорівнює 1/15 DL_{50} та хлориду кадмію – внутрішньоочеревино в дозі 0,1 мг/кг, що дорівнює 1/150 DL_{50} упродовж 14 діб. Контрольній підгрупі тварин замість хлориду кадмію та нітрату натрію вводили, відповідно, ізотонічний розчин натрію хлориду (внутрішньоочеревино) та водопровідну воду (внутрішньошлунково).

За умов підгострої інтоксикації етаназію щурів виконували через 24 години після останнього введення речовин під легким ефірним наркозом шляхом декапітації.

На фоні підгострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію на 7-й та 14-й дні експерименту у тварин різного віку вивчали функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) за показниками поведінкових реакцій (горизонтальна рухова активність, вертикальна рухова активність емоційна реактивність та інтегральна поведінкова активність) [1].

Стан прооксидантної системи крові оцінювали за вмістом продуктів білкової пероксидації (ОМБ), що реагують з 2,4-динітрофенілгідрaziном [16]. Вивчення рівня ендогенної інтоксикації проводили за вмістом середньомолекулярних пептидів (СМП) у сироватці крові [3].

У цільній крові визначали концентрацію метгемоглобіну [8], рівень гемоглобіну [14]. У гомогенаті печінки визначали вміст малонового альдегіду, який є біомаркером вільнорадикального окиснення ліпідів [13], що реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти).

Стан антиоксидантної системи печінки оцінювали за активністю глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.2] – за зменшенням кількості НАДФН [17]; глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] – за кількістю окисненого глутатіону, що утворився з відновленого глутатіону при знешкодженні пероксиду водню в глутатіонпероксидазній реакції [5]; глутатіон – S – трансферази (Г-S-T) [КФ 2.5.1.18] – за накопиченням кон'югату відновленого глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом [18]; каталази [КФ 1.11.1.6] – спектрофотометрично за методом [12].

Математичну обробку отриманих результатів проводили на ПЕОМ з використанням загальноприйнятих методів статистики з розрахунком середніх величин (M), їх похибок (m), t -критерію достовірності Стьюдента. За статистично вірогідні вважали зміни при $P < 0,05$. Числові значення в таблицях наведені у вигляді середніх величин та їх стандартних похибок.

Результати дослідження та їх обговорення. За умов підгострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію відбувалися зміни в системі «гемоглобін-метгемоглобін», що дало можливість їх використати як біохімічні критерії шкідливого впливу модельних токсикантів. Зокрема, на фоні комбінованого впливу ксенобіотиків відбувалося більш виражене зниження рівня гемоглобіну в молодих тварин із „пові-

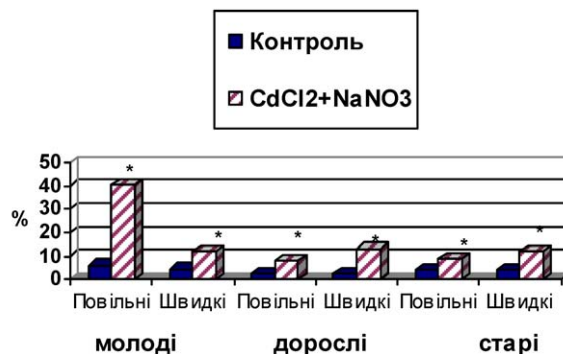


Рис. Рівень метгемоглобіну в крові щурів різного віку за умов підгострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію. Примітка. * - $P < 0,05$ відносно контролю

льним” типом ацетилювання та у „швидких” ацетиляторів особин дорослого і старечого віку. Відомо [11], що в процесі катаболізму гемоглобіну, спричиненого дією поллютантів, з гему вивільняється Fe^{2+} , який окиснюється до Fe^{3+} з утворенням метгемоглобіну. Підвищення рівня цього деривату гемоглобіну спостерігалось у всіх вікових групах тварин (рис.).

Найбільше зростання даного показника відмічалось у молодих тварин із „повільним” типом ацетилювання та в меншій мірі в дорослих і старих особин зі „швидкою” ацетилюючою здатністю. Отримані результати доповнюють дані літератури щодо більш вираженого токсичного впливу нітрату натрію [2] на молодих тварин порівняно з дорослими, оскільки в наших дослідженнях більш схильними до розвитку метгемоглобінемії були тільки „повільні” ацетилятори інфантильного віку. На практиці це означає, що групу ризику до виникнення водно-нітратної метгемоглобінемії становлять діти з „повільним” типом ацетилювання. Небезпека розвитку метгемоглобінемії, по-перше, полягає в тому, що метгемоглобін не здатний зв'язувати кисень і транспортувати його до тканин [6] і це може бути однією з причин тканинної гіпоксії за умов підгострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію. По-друге, при окисненні гемоглобіну до метгемоглобіну відбувається утворення супероксиданіона, який не тільки пошкоджує клітинні мембрани, але й ініціює появу інших хімічно активних і цитотоксичних форм кисню з подальшою активацією процесів окиснення ліпідів, білків та продуктів ендогенної інтоксикації. Зокрема, у наших дослідженнях встановлено, що підгостре уведення модельних токсикантів викликало найбільш виражене зростання СМП і ОМБ у молодих тварин із „повільним” ацетилюванням та дорослих – зі „швидкою” ацетилюючою активністю. Підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації найбільш виражене в гомогенаті печінки дорослих та в еритроцитах старих тварин зі „швидким” типом ацетилювання.

Отже, встановлена нами схильність „повільних” ацетиляторів до гострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію після зменшення дози і збільшення тривалості уведення залишилася тільки в молодих

тварин. Свого часу В.П. Казначеев виділив два конституційних типи людини - „спринтери” та „стайери”. Організм перших добре захищений від інтенсивної, але короточасної дії (гострий вплив), проте чутливий до тривало діючих чинників середньої і малої інтенсивності (підгострий та хронічний вплив). Організм „стайерів” володіє протилежними якостями. Ці факти отримали пояснення в наших дослідженнях. За умов комбінованого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію „стайерами” можна вважати тварин дорослого і старого віку з „повільним” типом ацетилювання, „спринтерами” – зі „швидким” типом.

Таким чином, найбільше гігієнічне значення має „повільний” тип ацетилювання, як біомаркер схильності до розвитку підгострого впливу модельних токсикантів, у тварин молодого віку та „швидкий” тип – у дорослому і старому віці.

Підгострий вплив нітрату натрію та хлориду кадмію в динаміці призводив до пригнічення ЦНС за показниками поведінкових реакцій у щурів усіх вікових груп. Найбільш виражене пригнічення інтегральної поведінкової активності спостерігалось в молодих тварин незалежно від типу метаболізму та в старих із „повільним” ацетилюванням. Якщо в старих особин це можна пояснити переважанням процесів гальмування над збудженням та виснаженням упродовж віку адаптаційно-приспосувальних реакцій, то в молодих – функціональною незрілістю ЦНС, що проявляється незначною швидкістю метаболізму ксенобіотиків та високою проникливістю гематоенцефалічного бар'єру.

Свого часу академік Фролькіс В.В. висунув припущення, що вікові зміни нейрогуморальної регуляції різних систем виражаються в послабленні нервового впливу на тканини і підвищенні їх чутливості до гуморальних чинників. На основі цього положення можна зробити висновок, що найбільш суттєве значення в механізмі вікових змін належить тим реакціям і процесам, які внаслідок некомпенсованих змін у системі регуляції стають лімітованими. Дані лімітувальні чинники повинні в першу чергу враховуватися при гігієнічному регламентуванні потенційно небезпечних екзогенних чинників.

За результатами виконаної наукової роботи (2005-2009 рр.) зроблено понад 40 доповідей на науково-практичних конференціях, конгресах, з'їздах, підсумкових наукових конференціях професорсько-викладацького складу БДМУ, опубліковано 81 наукову роботу, 2 розділи в монографіях «Нариси вікової токсикології» та «Очерки возрастной токсикологии, одне нововведення «Спосіб прогнозування схильності організму до токсичного впливу ксенобіотиків», отримано один патент «Спосіб прогнозування схильності організму до токсичного впливу ксенобіотиків», одне нововведення «Метод прогнозування схильності організму до токсичного впливу ксенобіотиків» та три інформаційних листи «Система комплексної гігієнічної оцінки нітратно-кадмієвої інтоксикації», «Вплив фенотипу ацетилювання на розвиток нітратної інтоксикації в молодому віці», «Особливості шкідливого впливу імідаклоприду».

Висновки

1. У науково-дослідній роботі підтверджено доцільність врахування в гігієнічних, токсикологічних дослідженнях, регламентуванні шкідливих хімічних речовин генетично детерміновану індивідуальну схильність організму, зокрема швидкість ацетилювання. На експериментальних моделях з'ясовано особливості індивідуальної та вікової схильності до хлориду кадмію та нітрату натрію. Запропоновано біомаркери ефекту шкідливого впливу наведених токсикантів залежно від швидкості ацетилювання.

2. Виявлена висока критеріальна значущість змін біохімічних показників при гігієнічній оцінці підгострого впливу нітрату натрію та хлориду кадмію. Зокрема, у молодому віці маркером схильності слід вважати „повільний” тип ацетилювання, а критеріями шкідливої дії у них є: зниження рівня гемоглобіну на 24%, активація процесів пероксидного окиснення білків плазми крові на 25%, зростання рівня середньомолекулярних пептидів на 34% і концентрації метгемоглобіну в 6,7 раза; у дорослих тварин маркером схильності є „швидкий” тип ацетилювання, а критеріями шкідливої дії в них можна вважати підвищення концентрації метгемоглобіну в 5,4 раза, зростання ТБК-активних продуктів на 41%, підвищення окиснювально-модифікованих білків на 18% і рівня середньомолекулярних пептидів на 16%, зниження рівня гемоглобіну на 30%; у старих тварин маркером схильності слід вважати „швидкий” тип ацетилювання, а критеріями шкідливої дії у них є: зниження рівня гемоглобіну на 20%, зростання концентрації метгемоглобіну у 2,9 раза на фоні підвищення кількості вторинних продуктів ліпопероксидатів еритроцитів у 2 рази.

3. Підгостра дія нітрату натрію та хлориду кадмію викликала більш виражене пригнічення центральної нервової системи за показником інтегральної поведінкової активності в молодому віці на 97% незалежно від типу метаболізму та на 93% у „повільних” ацетиляторів старечого віку.

Перспективи подальших досліджень. Проведені дослідження вказують на перспективність продовження досліджень вивчення генетично детермінованої схильності до шкідливої дії ксенобіотиків та патогенетичних механізмів, що її зумовлюють.

Література

1. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.; пер. с англ. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
2. Власкина С.Г. Влияние нитратов на динамику метгемоглинообразования у крыс различных возрастных групп / С.Г. Власкина, Е.М. Мамаева // Вопр. питания. – 1994. - №6. – С. 28-29.
3. Габриэлян Н.И. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях / Н.И. Габриэлян, А.А. Дмитриев, Г.П. Куляков // Клин. мед. – 1981. - №1. – С. 38-42.
4. Гармонов С.Ю. Перспективные методы оценки генетически детерминированной химической чувствительности организма человека / С.Ю. Гармонов,

- М.И. Евгеньев, И.Е. Зыкова // Хим. и биол. безопасность. – 2003. - № 11-12. – С. 3-16.
5. Геруш І.В. Стан глутатионової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової / І.В. Геруш, І.Ф. Мещишен // Вісн. пробл. біол. та мед. - 1998. - №7. - С.10-15.
 6. Горішна О.В. Вплив нітратного забруднення питної води на формування метгемоглобінемії у дітей / О.В. Горішна // Соврем. пробл. токсикол. – 2002. - №1. – С. 62-63.
 7. Горішна О.В. Корекція метаболічних порушень печінки у дітей, що мешкають на нітратно забруднених територіях / О.В. Горішна // Вісн. наук. досліджень. – 2002. - №1. – С. 83-84.
 8. Горн Л.Э. К методике количественного определения метгемоглобина в крови / Л.Э. Горн // Фармакол. и токсикол. - 1951. - №4. - С. 37-40.
 9. Гигиеническая оценка приоритетности различных путей поступления тяжелых металлов в организм жителей экокризисного региона / С.В. Грищенко, Н.В. Гринь, М.Г. Степанова [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2004. - №1. – С. 6-9.
 10. Диагностика фенотипа ацетилювання при забезпеченні безпеки виробничого персоналу / М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, В.П. Багнюк [та ін.] // Мед. труда и пром. экол. – 2002. - №11. – С. 35-38.
 11. Ерстенюк Г.М. Стан антиоксидантної системи щурів у процесі гострої кадмієвої інтоксикації / Г.М. Ерстенюк, А.О. Клименко, І.М. Остап'як // Мед. хімія. – 2000. - Т. 2, №2. – С. 47-49.
 12. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. - №1. – С. 16-19.
 13. Коршун М.М. Використання малонового альдегіду як біомаркера шкідливої дії на організм пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища / М.М. Коршун // Укр. наук.-мед. молод. ж. – 2003. - №1-2. – С. 79-85.
 14. Архипова О.Г. Методы исследований в профпатологии / Архипова О.Г.; под ред. Архипова О.Г. - М.: Медицина, 1988. – 207 с.
 15. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии / Г.Н. Першин; под ред. Г.Н. Першина. 2-е изд. - М.: Медицина, 1971. - С. 453-457.
 16. Мещишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І.Ф. Мещишен // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, №1. – С. 156-158.
 17. Beutler E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vitro and in vivo studies / E. Beutler // J. Clin. Invest. – 1969. – V.48, №11. – P.1957 - 1965.
 18. Habig W.H. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W.H. Habig, M.J. Parst, W.B. Jakobv // J. Biol. Chem. - 1974. - V. 249, № 22. - P. 7130 - 7139.
 19. Suk W. Genes and the environment: their impact on children's health / W. Suk, G. Collman // Env. Heth persp. – 1998. - V. 106, suppl. 3. – P. 817-820.

ГИГИЕНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ НИТРАТА НАТРИЯ И ХЛОРИДА КАДМИЯ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ И ХАРАКТЕРА МЕТАБОЛИЗМА

Л.И. Власык, Т.И. Кметь, О.М. Жуковский, И.Ф. Прунчак, Н.Н. Фундюк, Т.И. Грачова

Резюме. Научно-исследовательская работа посвящена изучению использования в гигиенических исследованиях фенотипа ацетилювания, как биомаркера предрасположенности к неблагоприятному воздействию химических веществ. На моделях подострого влияния нитрата натрия и хлорида кадмия выяснены возрастные особенности и гигиеническое значение биохимических изменений как критериев вредного действия. При подостром введении животным в течение 14 дней нитрата натрия и хлорида кадмия выявлено, что в молодом возрасте маркером предрасположенности является „медленный” тип ацетилювания, а у взрослых и лиц пожилого возраста с „быстрым” типом ацетилювания.

Ключевые слова: хлорид кадмия, нитрат натрия, ацетилювание.

HYGIENIC VALUE OF THE COMBINED ACTION OF SODIUM NITRATE AND CADMIUM CHLORIDE WITH DUE REGARD FOR AGE-RELATED CHARACTERISTICS AND THE NATURE OF METABOLISM

L. I. Vlasnyk, T. I. Kmet', O. M. Zhukovskiy, I. F. Prunchak, N. M. Fundiur, T. I. Grachova

Abstract. This research paper has solved a topical scientific problem as to a substantiation of using in hygienic studies of an acetylation phenotype as a biomarker of propensity to an unfavourable effect of chemical substance. The age-specific characteristics and the hygienic value of biochemical changes as criteria of a deleterious action have been ascertained on models of a subacute effect of sodium nitrate and cadmium chloride. On injecting cadmium chloride and sodium nitrate to animals during 14-days in doses 1/15 DL₅₀ and 1/150 DL₅₀ respectively it has been found out that the “slow” type of acetylation is a propensity biomarker in young age, whereas the “rapid” type of acetylation is characteristic of adult and old persons.

Key words: cadmium chloride, sodium nitrate, acetylation.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
State Enterprise of the Research Institute of Medico-
Ecological Problems of Ukraine's MHP (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2010. – Vol. 14, №3 (55). – P.99-102.

Рецензент – проф. Ю. Є. Роговий

Надійшла до редакції 25.05.2010 року