

ВІКОВІ АСПЕКТИ ГІГІЄНИЧНОЇ ОЦІНКИ БІОМАРКЕРІВ ЕФЕКТУ ТА СХИЛЬНОСТІ ДО НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

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

Резюме. В експерименті на нелінійних білих щурах молодого та статевозрілого віку з різним типом метаболізму вивчалися особливості нітратної інтоксикації на рівні порогових доз. Показано, що тварини молодого віку є більш схильними до впливу нітрату натрію. „Швидкий” тип метаболізму є біомаркером

схильності до розвитку метгемоглобінемії незалежно від віку. Для „повільних” метаболізаторів додатковим маркером нітратної інтоксикації може слугувати концентрація середніх молекул у крові.

Ключові слова: нітратна інтоксикація, тип метаболізму, вікова чутливість, біомаркер схильності.

Вступ. Нітрати вже тривалий час є одними з пріоритетних поллютантів території України [3,12]. Вивченню і нормуванню токсичної дії цих сполук присвячено багато наукових праць. Однак сучасне регламентування нітратів не завжди враховує схильність найбільш вразливих верств населення, так званих „груп ризику”. Особливо це стосується дітей та підлітків, адже відомо, що зростаючий організм є вразливішим до дії багатьох токсикантів, зокрема нітратів [10]. Важливе значення для визначення груп ризику за схильністю до токсичної дії хімічних речовин, з якими контактує людина, має генетично детермінований поліморфізм активності детоксикаційних систем організму. Так, відомо, що статевозрілі тварини зі „швидким” типом ацетилювання є більш схильними до комбінованої підгострої нітратно-кадмієвої інтоксикації [5], „швидкий” тип ацетилювання є біомаркером схильності до розвитку пневмоконіозу у зварювальників [7] тощо.

Мета дослідження. Провести гігієнічну оцінку біомаркерів ефекту та схильності до нітратної інтоксикації на рівні порогових доз у віковому аспекті.

Матеріал і методи. Досліди проводили на аутбредних щурах-самцях двох вікових груп: 36 молодих (віком 1,5 міс.) та 24 статевозрілих (віком 6 міс.), яких утримували за стандартних умов віварію відповідно до загальноприйнятих в експериментальній практиці методик, з дотриманням ви-

мог біоетики, відповідно до положень Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з дослідницькими та іншими цілями (Страсбург, 1986). Всі тварини отримували гранульований корм для лабораторних гризунів виробництва АТЗТ „Фенікс” (Україна) та водогінну воду без обмежень. Вміст нітратів у кормах та воді не перевищував їх гранично допустимої концентрації (ГДК).

Тип метаболізму тварин визначали за допомогою амідопіринового тесту [1]. Тваринам внутрішньоочеревинно вводили амідопірин у дозі 20 мг/кг маси тіла. На основі відсотка виведеного із сечею метаболіту N-ацетил-4-аміноантипірину виділено тварин з „швидким” та „повільним” типом метаболізму.

Серед статевозрілих тварин з „швидким,” та „повільним” типом метаболізму виділено контрольні та дослідні групи, чисельністю не менше 6 тварин. Дослідним тваринам щоденно внутрішньошлунково вводили нітрат натрію у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг за нітрат-іоном, що, за даними літератури [12], відповідає пороговій дозі (lim_{ch}). Інтактні тварини отримували водогінну воду у відповідних кількостях.

На 28-й день тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

У крові тварин визначали концентрацію метгемоглобіну (за Л.С.Горном), а також показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги: рі-

вень каталази [6], концентрацію продуктів окисної модифікації білка (ОМБ) [9] та стан глутатионової системи (активність глутатіонпероксидази (ГП) [8], глутатіонредуктази (ГР) [14] та глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [13]), а також рівень вільних SH-груп.

Серед молодих тварин як „швидких”, так і „повільних” метаболізаторів виділено наступні групи: 1-ша – інтактні (контрольні) тварини; 2-га – тварини, які отримували нітрат натрію в дозі 20 мг/кг за нітрат-іоном; 3-тя – тварини, які отримували нітрат натрію в дозі 10 мг/кг за нітрат-іоном, що за даними літератури [12] є підпороговою для дорослих тварин.

Після декапітації під легким ефірним наркозом у крові тварин визначали основний показник нітратної інтоксикації - концентрацію метгемоглобіну, а також зміни показників прооксидантно-антиоксидантної системи організму (активність каталази, концентрацію продуктів окисної модифікації білка (ОМБ)) та рівень середніх молекул (СМ) як показник ендogenous інтоксикації. Концентрацію СМ визначали за методом М.І.Габрієляна в модифікації Ю.В.Первушина [11], який включав депротейнізацію зразків з їх подальшою спектрофотометрією при 254 і 280 нм.

Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм „Microsoft Excel” та STATISTICA 6,0, з розрахунком середніх величин, їх похибок, критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

Основним показником нітратної інтоксикації вважається рівень метгемоглобінемії. У крові дослідних статевозрілих тварин з „швидким” типом метаболізму концентрація метгемоглобіну зросла більш ніж вдвічі стосовно контролю ($3,61 \pm 0,30\%$ у дослідній групі та $1,47 \pm 0,05\%$ у контрольній), у той час як у „повільних” метаболізаторів зазначена доза нітрату натрію взагалі не викликала змін ($0,95 \pm 0,09\%$ у дослідній групі та $1,22 \pm 0,08\%$ у контрольній).

Рівень вільних SH-груп вірогідно зріс у крові тварин з „швидким” типом метаболізму (на 22%). У „повільних” метаболізаторів цей показник залишився незмінним.

Активність каталази та рівень продуктів ОМБ не зазнали вірогідних змін ні у „швидких”, ні у „повільних” метаболізаторів.

У крові тварин з „швидким” типом метаболізму активність ферментів глутатионової системи характеризувалась вірогідним зниженням активності ГП на 55% та зростанням активності Г-S-T на 54% стосовно до контролю.

У „повільних” метаболізаторів вірогідно змінилась активність лише Г-S-T (зросла вдвічі стосовно до контролю).

Активність ГР не зазнала вірогідних змін, хоча у „швидких” метаболізаторів характеризувалась тенденцією до зниження, а у „повільних” – навпаки, до зростання.

Зростання активності ферментів глутатионової системи у статевозрілих тварин з „повільним”

типом метаболізму можна розцінювати як прояв адаптаційних механізмів організму, у той час як її зниження є свідченням виснаження цих процесів.

Враховуючи наведені дані, статевозрілих тварин з „швидким” типом метаболізму можна вважати більш схильними до нітратної інтоксикації на рівні порогових доз.

У молодих щурів уже через 2 тижні нітрат натрію в дозі 20 мг/кг викликав зростання концентрації метгемоглобіну в крові тварин як із „швидким”, так і з „повільним” типом метаболізму, однак у „швидких” метаболізаторів це зростання виявилось значнішим (на 190% порівняно з контролем), ніж у „повільних” (лише на 74%) (рис.1).

Уведення молодим тваринам нітрату натрію в дозі 10 мг/кг також викликало зростання концентрації метгемоглобіну в крові „швидких” метаболізаторів втричі стосовно контролю, тоді як у „повільних” вона залишилася без вірогідних змін (рис.2).

Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (каталаза та ОМБ) не зазнали вірогідних змін щодо контролю в жодній із дослідних груп. Отже, ці показники не можуть виступати маркерами нітратної інтоксикації на рівні порогових доз у молодих та статевозрілих тварин.

Зазначені концентрації нітрату натрію викликали в молодих тварин з „повільним” типом мета-

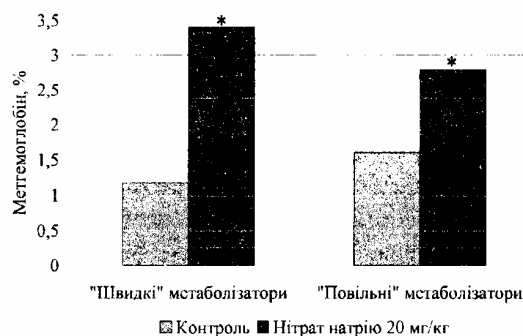


Рис. 1. Концентрація метгемоглобіну крові молодих щурів при інтоксикації нітратом натрію в дозі 20 мг/кг Примітка. * – зміни вірогідні стосовно контролю ($p < 0,05$)

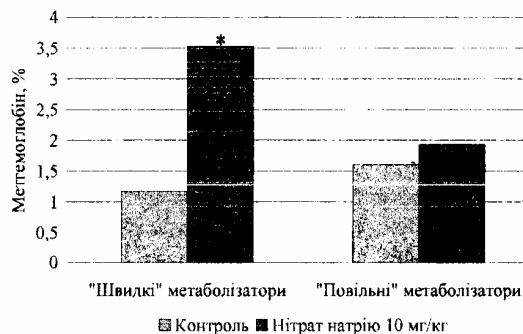


Рис. 2. Концентрація метгемоглобіну крові молодих щурів при інтоксикації нітратом натрію в дозі 10 мг/кг Примітка. * - зміни вірогідні стосовно контролю ($p < 0,05$)

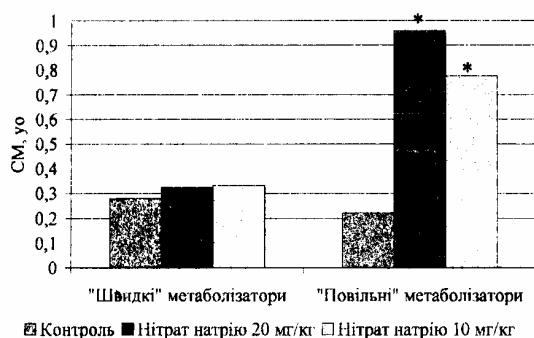


Рис. 3. Концентрація середніх молекул при 254 нм у крові молодих тварин з різним типом метаболізму. Примітка. * – зміни вірогідні стосовно контролю ($p < 0,05$)

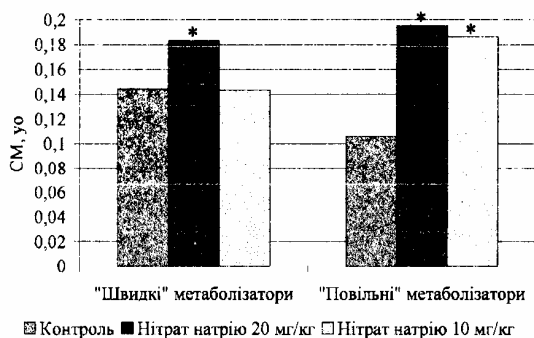


Рис. 4. Концентрація середніх молекул при 280 нм у крові молодих тварин з різним типом метаболізму. Примітка. * – зміни вірогідні стосовно контролю ($p < 0,05$)

болізму зростання у крові концентрації СМ (рис.3).

У той же час у „швидких” метаболізаторів цей показник не зазнав виражених змін, крім зростання на 27% СМ при 280 нм у групі тварин, які отримували нітрат натрію в дозі 20 мг/кг (рис.4).

Рівень СМ є одним із показників „метаболічної інтоксикації” в організмі [3]. Описано вже більше 300 сполук, що належать до СМ, які об’єднують у 20 груп, відповідно до особливостей хімічної структури і фізіологічної активності. Згідно з даними літератури [2] підвищення концентрації СМ вище 0,8 відповідає вираженому ступеню ендogenous інтоксикації, що спостерігали в „повільних” метаболізаторів при уведенні нітрату натрію в дозі 20 мг/кг.

Отже, схильність молодих тварин до нітратної інтоксикації є вищою, ніж статевозрілих, оскільки в цій віковій групі при уведенні нітрату натрію в дозі 20 мг/кг метгемоглобінемія розвивалася вже через 2 тижні, причому й у „швидких”, і в „повільних” метаболізаторів, і зберігалась у тварин з „швидким” типом метаболізму при уведенні нітрату натрію в дозі 10 мг/кг.

Висновки

1. „Швидкий” тип метаболізму є біомаркером схильності до нітратної інтоксикації на рівні порогових доз.

2. Схильність тварин молодого віку до нітратної інтоксикації є вищою, ніж статевозрілих як для „швидких”, так і для „повільних” метаболізаторів, що є підставою для подальших досліджень з метою встановлення безпечного рівня нітратів для всіх вікових груп та можливого удосконалення існуючих ГДК.

3. Концентрація метгемоглобіну крові може виступати маркером ефекту нітратної інтоксикації на рівні порогових доз для тварин з „швидким” типом метаболізму незалежно від віку.

4. Для тварин молодого віку з „повільним” типом метаболізму додатковим маркером ефекту нітратної інтоксикації може слугувати рівень середніх молекул плазми крові.

Перспективи подальших досліджень. Подальше вивчення механізмів реагування осіб із різним типом метаболізму за умов нітратної інтоксикації. Доцільним є також проведення досліджень біомаркерів ефекту та схильності до ізольованої та комбінованої інтоксикації поширеними поллютантами навколишнього середовища з метою захисту найбільш чутливих груп населення, зокрема залежно від типу метаболізму та у віковому аспекті.

Література

1. Биохимические методы в токсикологическом эксперименте и клинике: Методическое руководство / Всесоюзный научно-исследовательский институт гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, Министерство здравоохранения СССР.-К.,1985.-89с.
2. Васильева Е.В., Лопаткин О.Н., Морозов Ю.Е., Зарубин В.В. Определение тяжести эндогенной интоксикации по уровню среднемолекулярных пептидов // Суд.-мед. экспертиза.-2004.- Т.47, №4.- С.18-21.
3. Горішна О.В. Морфофункціональні зміни печінки при хронічній нітратній інтоксикації // Вісн. пробл. біол. і мед.-2002.- №3.- С. 62-65.
4. Громашевська Л.Л. „Середні молекули” як один з показників „метаболічної інтоксикації” в організмі //Лаб. діагност.-1997.-№1.- С. 11-16.
5. Кметь Т.І. Гігієнічне значення комбінованої дії нітрату натрію та хлориду кадмію з урахуванням вікових особливостей та характеру метаболізму: Дис... канд. мед. наук:14.02.01.-Чернівці, 2006.-156с.
6. Королюк М.А, Иванова Л.И, Майорова И.Г. Метод определения каталазы //Лаб. дело.-1988.-№1.-С16-19.
7. Лубянова И.П. Роль наследственных факторов в формировании патологии при воздействии железосодержащих аэрозолей// Гигиена труда.-2004.-Вып.35.-С.431-448.
8. Мешишен І.Ф. Глутатіонова система організму за умов норми та патології.-Чернівці, 1999.-28с.
9. Мешишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник.-1998.-Т.2, №1.- С. 156-158.

10. Нариси вікової токсикології/За ред. І.М.Трахтенберга.- К.: Авіцена, 2005.-256с.
11. Первушин Ю.В., Бондарь Т.П. Лабораторные методы диагностики синдрома эндогенной интоксикации: Метод. рекомендации.-Ставрополь, 1993.-36с.
12. Циганенко О.І. Еколого-гігієнічна система охорони здоров'я населення України від негативного впливу нітратів харчових продуктів: Автореф.дис... д.мед.наук:03.00.16.-К.,1994.-37с.
13. Habig W.U., Pabst M.J, Jacoby W.B. Glutathion-S-transferases. The first enzymatic step in muco-capturic acid formation //Biol. Chem.-1974.- № 22 (240).- P.7130-7136.
14. Martines Y.T., Tores A.M. Glutathionreductase of mantle tissue from sea mussel medunts. Purification and characterisation of two seasonal enzymatic forms. //Comp. Biochem. Physiol.-1985.- № 28 (80).- P 355-360.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОМАРКЕРОВ ЭФФЕКТА И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Е.П.Коротун, Л.И.Власык

Резюме. В эксперименте на неполовозрелых и половозрелых нелинейных белых крысах с разным типом метаболизма изучались особенности нитратной интоксикации на уровне пороговых доз. Показано, что неполовозрелые животные являются более восприимчивыми к воздействию нитрата натрия. «Быстрый» тип метаболизма является маркером восприимчивости к развитию метгемоглобинемии независимо от возраста. Для «медленных» метаболизаторов дополнительным маркером нитратной интоксикации может служить концентрация средних молекул в крови.

Ключевые слова: нитратная интоксикация, тип метаболизма, возрастная чувствительность, биомаркер восприимчивости.

AGE-RELATED ASPECTS OF HYGIENIC ESTIMATING THE BIOMARKERS OF EFFECT AND SUSCEPTIBILITY TO NITRATE INTOXICATION

O.P.Korotun, L.I.Vlasyk

Abstract. The peculiarities of nitrate intoxication on the level of threshold doses have been studied in an experiment on sexually nonlinear albino rats of immature and mature age with a diverse type of metabolism. It has been shown, that animals of sexually immature age are more susceptible to the effect of sodium nitrate. The "rapid" metabolic type is a biomarker of susceptibility to the development of methemoglobinemia, irrespective of age. A concentration of average molecules in the blood may serve as a complementary effect biomarker of nitrate intoxication for "slow" metabolic type.

Key words: nitrate intoxication, type of metabolism, age-related susceptibility, biomarker of susceptibility.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)
Research Institute of Medical and Ecological Problems (Chernivtsi)

Рецензент – проф. С.С.Дейнска

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №3.- P.122-125

Надійшла до редакції 26.06.2007 року