

УДК546.3+59.085

DOI: 10.15587/2519-8025.2018.146936

ВМІСТ ДЕЯКИХ БІОЕЛЕМЕНТІВ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

© Л. Я. Нечитайло, А. М. Ерстенюк

Мета дослідження. Проаналізувати вміст деяких біоелементів та кумулятивні властивості іонів важких металів (на прикладі кадмію) за нітратної інтоксикації.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були білі щури, яких було поділено на дві групи: I- контрольна, II- дослідна (отримували водний розчин NaNO_3 з питною водою в дозі $1/10 \text{ DL}_{50}$). Інтоксикацію здійснювали впродовж 10 діб. Забір матеріалу (ниркова тканина, печінка та селезінка) проводили на 1-шу, 14-ту та 28-му доби після завершення введення токсиканта. Рівень макро- та мікроелементів визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115ПК. Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерної програми Statistika.

Результати. За умови впливу NaNO_3 відмічено підвищення рівня Са в нирковій тканині, печінці та селезінці порівняно з контрольною групою тварин. Одночасно вміст Mg в печінці знижувався протягом усього періоду спостереження, а в нирках і селезінці - на 1-шу добу експерименту. Дослідженнясенціальних мікроелементів, таких як Zn і Cu, дозволили встановити наступний характер змін: рівень Zn у печінці зростає на 1- та 14-ту добу, однак на 28-му знижувався, тоді як в нирковій тканині та селезінці зростає на 28-му добу порівняно з контрольною групою тварин. Вміст Сизростає на 28-му добу в селезінці та печінці, тоді як у нирковій тканині концентрація Си була нижчою значень контрольної групи. Аналіз рівня кадмію показав, що за дії NaNO_3 вміст Cd у селезінці, печінці та нирковій тканині щурів перевищував показники інтактних в 3–3,8 рази.

Висновки. Встановлено, що в організмі експериментальних тварин за умови нітратної інтоксикації спостерігається розвиток дисмікроелементозу, який характеризується змінами рівнів життєво важливих макро- та мікроелементів в органах та тканинах, що має важливе значення для регуляції обмінних процесів. Також показано зростання здатності іонів кадмію акумулюватися в досліджених органах і тканинах

Ключові слова: макроелементи, мікроелементи, іони важких металів, натрію нітрат, печінка, нирки, селезінка, білі щури

1. Вступ

Високий рівень техногенного навантаження на водойми та застарілі технології очистки не дозволяють забезпечити населення якісною питною водою, яка може бути потенційним джерелом надходження до організму людини шкідливих хімічних речовин. До небезпечних речовин, що забруднюють поверхневі та ґрунтові води, відносяться нітрати та нітрити. Основна маса нітратів потрапляє до організму людини з питною водою, свіжими овочами і фруктами. Це становить, за оцінкамирізнихавторів, 40–90 % добової кількості нітратів [1, 2]. Аналіз результатів власних досліджень стану питної води джерел Прикарпатського регіону показав, що частина мешканців краю споживає воду, в якій вміст нітратів перевищує не тільки показники фізіологічної повноцінності, а й гранично допустимі норми [3, 4]. Відповідно до вимог глобальної системи моніторингу стану довкілля (ГСМОС/GEMS), нітрит- і нітрат-іони входять у програми обов'язкових спостережень за складом питної води.

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

З літератури відомо [5], що токсичність нітратів відносно низька, а негативна дія їх обумовлена продуктами відновлення – нітритами, які у десятки разів отруйніші. Уже в ротовій порожнині під впливом ферментів мікрофлори іони NO_3^- перетворюються в NO_2^- . Також NO_3^- відновлюється в NO_2^- під впливом

мікрофлори кишківника та тканинних ферментів. Ендогенні нітрити утворюються як стабільний продукт метаболізму нітрогену монооксиду NO.

У фізіологічних концентраціях роль NO багатогранна і надзвичайно важлива для нормального функціонування практично всіх органів і систем організму. У той же час при надлишковому вмісті NO перетворюється із цитопротекторного агента в цитотоксичний [6]. Саме NO у надлишку виступає месенджером ушкодження тканин і органів, який спричиняє: нітрозилування гему (утворення гем- Fe^{2+} -NO); зв'язування Fe-S-центрів; ушкодження ДНК; білкову модифікацію шляхом зворотного S-нітрозилування (нітрузування) тіолових груп цистеїну (введення NO-групи); незворотне азотування (нітрування) тирозину (введення NO_2^- групи) [7, 8].

Сам по собі нітроген монооксид не є потужним цитотоксичним агентом, проте він може підвищувати чутливість клітин до інших цитотоксичних чинників, в тому числі і та інших токсикантів. Автор [9] зазначає, що підвищене продукування печінкою NO спостерігалось у відповідь на дію гепатотоксинів, зокрема Cd. Відомо, що кадмій накопичується в ряді органів і тканин, переважно в нирках, печінці, кістках, порушує метаболічні процеси і фізіологічні функції, є антагоністом цілого ряду життєво важливих мікро- і макроелементів. Особливістю біологічної дії кадмію є високий коефіцієнт біологічної кумуляції [10].

Виходячи із цього, актуальними є дослідження рівнів макро- та мікроелементів, що мають важливе значення для підтримки гомеостазу організму як тварин, так і людини, а також вивчення кумулятивних властивостей іонів важких металів на тлі нітратної інтоксикації.

3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – вивчення вмісту деяких біоелементів та кумулятивних властивостей іонів важких металів (на прикладі кадмію) за нітратної інтоксикації.

Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

– визначити рівень макроелементів (Ca та Mg) у печінці, нирках та селезінці експериментальних тварин за умов нітратної інтоксикації;

– встановити рівень мікроелементів (Zn та Cu) в досліджуваних органах та тканинах дослідних тварин;

– дослідити рівень важкого металу (Cd) в печінці, нирках та селезінці дослідних груп тварин, уражених нітратом натрію;

– провести кореляційний аналіз між вмістом досліджуваних макро- і мікроелементів та рівнем кадмію в органах і тканинах експериментальних тварин.

4. Матеріали та методи

Експеримент проводили на лабораторних тваринах – білих безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 180–220г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні.

Піддослідних тварин було поділено на дві групи: I – контрольна група (інтактні), які отримували звичайну питну воду,

II – дослідна група тварин, які отримували водний розчин натрію нітрату (NaNO_3) з питною водою в дозі 1/10 DL_{50} .

Тварин виводили із експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 1-шу, 14-ту та 28-му добу після завершення введення токсиканту. Дослідження проводили з дотриманням вимог біоетики, відповідно до положень державних та міжнародних документів щодо гуманного ставлення до тварин [11].

Рівень макро- та мікроелементів визначали в печінці, нирковій тканині та селезінці дослідних тварин методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії на спектрофотометрі С-115 ПК.

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерної програми Statistika, було обрано методи параметричної статистики та відповідний t-тест (критерій Ст'юдента). Для оцінки ступеня взаємозв'язку показників, що досліджувалися у межах кожної групи тварин, розраховували кореляційні матриці за методом Пірсона (r). Результати вважалися вірогідними при $p < 0,05$.

5. Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення впливу нітратної інтоксикації на вміст макроелементів в органах експериментальних тварин засвідчило стійке підвищення рівня Ca у печінці (табл. 1) протягом всього періоду експерименту, і на 28-му добу цей показник був вищим на 36 % порівняно з контрольною групою.

Таблиця 1

Елементний склад печінки щурів, що піддавались дії натрію нітрату ($M \pm m$)

Біоелементи	Групи тварин			
	I – інтактні n=8	II-a (уражені NaNO_3)		
		1-ша доба (n=7)	14-та доба (n=7)	28-ма доба (n=7)
Кальцій, мг/г золи	0,261±0,04	0,329±0,05*	0,332±0,03*	0,355±0,03*
Магній, мг/г золи	0,287±0,03	0,240 ±0,05***	0,143 ±0,08**	0,261±0,01***
Цинк, мг/г золи	0,516±0,09	0,571±0,06*	0,660±0,06*	0,415±0,06*
Купрум, мг/г золи	0,157±0,02	0,161±0,04*	0,175±0,04*	0,244±0,08*
Кадмій, мкг/г золи	2,90±0,90	11,24±3,5**	6,20±2,2**	9,82±0,78**

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – достовірність різниці даних порівняно з показниками інтактної групи тварин

У нирковій тканині (табл. 2) вміст Ca поступово зростав і на завершення експерименту на 16 % перевищував показники інтактних тварин. Щодо рівня Ca в селезінці (табл. 3), то слід відмітити незначне підвищення в ранньому періоді, і на 28-му добу він на 13 % був вищим порівняно з контрольною групою.

Вміст Mg змінювався іншим чином: у печінці (табл. 1) концентрація Mg протягом всього періоду

спостереження була достовірно ($p < 0,001$) нижчою за показники контрольної групи. Найнижчий рівень Mg відмічено нами на 14-ту добу – на 50 % нижче рівня інтактних тварин. У нирковій тканині (табл. 2) рівень Mg на 1-шу добу знижувався на 17 %, однак на 14-ту добу нітратної інтоксикації відмічено тенденцію до зростання, а на 28-му достовірне збільшення даного показника (на 7,4 %) порівняно з контролем.

Таблиця 2

Елементний склад ниркової тканини щурів за умови дії натрію нітрату($M \pm m$)

Біоелементи	Групи тварин			
	I – інтактні n=7	II-a (уражені NaNO_3)		
		1-ша доба (n=7)	14-та доба (n=7)	28-ма доба (n=7)
Кальцій, мг/г золи	0,840±0,07	0,869±0,08*	0,877±0,30*	0,975±0,10*
Магній, мг/г золи	0,624±0,35	0,517±0,4*	0,633±0,30	0,670±0,25*
Цинк, мг/г золи	0,834±0,52	0,928±0,29*	0,685±0,44	0,992±0,45
Купрум, мг/г золи	0,263±0,11	0,265±0,14	0,330±0,19*	0,246±0,050
Кадмій, мкг/г золи	5,60±1,90	13,2±5,3**	12,3±3,9**	21,4±3,02**

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – достовірність різниці даних порівняно з показниками інтактної групи тварин

Визначення вмісту Mg в селезінці (табл. 3) показало його зниження на 1-шу добу – на 23 %, на 14-ту – на 11 % з наступним зростанням рівня цього елемента до 28-ї доби (на 6 % вище, ніж в інтактних тварин).

Дослідження вмісту таких життєво важливих мікроелементів, як Zn і Cu, дозволило встановити, що рівень Zn у печінці (табл. 1) зростав на 1-шу та 14-ту

добу – на 11 % та 28 %, відповідно, але на 28-му добу знижувався, і вміст його ставав нижчим за показники контрольної групи на 19,5 %. Динаміка вмісту Zn у нирковій тканині (табл. 2) була іншою: на 1-шу добу він зростав на 11 % у порівнянні з інтактними тваринами, на 14-ту добу знижувався на 17,8 %, однак, на 28-му добу значення цього показника перевищувало контрольні значення на 19 %.

Таблиця 3

Елементний склад селезінки щурів за умови дії натрію нітрату($M \pm m$)

Біоелементи	Групи тварин			
	I – інтактні n=7	II-a (уражені NaNO_3)		
		1-ша доба (n=7)	14-та доба (n=7)	28-ма доба (n=7)
Кальцій, мг/г золи	0,613±0,02	0,625±0,02	0,641±0,03	0,695±0,04
Магній, мг/г золи	0,441±0,06	0,341±0,07*	0,391±0,07*	0,467±0,18*
Цинк, мг/г золи	0,553±0,07	0,680±0,05	0,702 ±0,44*	0,726±0,45*
Купрум, мг/г золи	0,066±0,01	0,072±0,007**	0,066±0,009	0,099±0,06**
Кадмій, мкг/г золи	2,01±0,50	3,30±1,30*	3,50±0,60*	6,11±1,12*

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – достовірність різниці даних порівняно з показниками інтактної групи тварин

Відносно рівня Zn у тканинах селезінки (табл. 3), то слід відмітити поступове його зростання, і на 28-му добу значення цього показника було на 31 % вищим, ніж у контролі.

Аналіз одержаних результатів показав, що рівень Cu у печінці (табл. 1) підвищувався протягом всього періоду спостережень, однак найбільшою мірою на 28-му добу – на 55 % відносно контрольної групи тварин. У нирковій тканині рівень Cu зростав у ранньому періоді експерименту, однак на 28-му добу був нижче рівня інтактної групи тварин.

Вміст Cu в селезінці (табл. 3) змінювався наступним чином: зростав на 1-шу добу на 16,6 %, а на 14-ту добу не відрізнявся від показників контрольних тварин. Поряд з цим, істотне підвищення міді – на 51 % – відмічено на 28-му добу ($p < 0,01$).

В результаті експерименту також виявлено, що за дії NaNO_3 вміст важкого металу Cd в печінці (табл. 1) поступово зростав – уже на 1-шу добу в 3,8 рази, на 14-ту добу – в 2,2 рази, на 28-му добу – в 3,4 рази у порівнянні з контролем. Рівень Cd в нирковій тканині (табл. 2) також зростав протягом всього періоду спостережень, але найбільшою мірою на 28-му добу – в 3,8 рази відносно контролю. У селезінці тварин дос-

лідної групи встановлена подібна закономірність щодо вмісту Cd – на 28-му добу цей показник перевищував значення контролю в 3 рази.

Для виявлення взаємодії біогенних елементів та токсичного елемента кадмію нами був проведений кореляційний аналіз між вмістом досліджуваних макро- і мікроелементів та кадмію в органах і тканинах експериментальних тварин. Так, зокрема, в печінці дослідних груп встановлено прямий кореляційний зв'язок між вмістом Cd та Cu ($r=0,49$) і зворотний зв'язок даних елементів у нирковій тканині ($r=-0,81$) та селезінці ($r=-0,76$). Показано наявність прямого кореляційного зв'язку між рівнями Cd з Zn у нирковій тканині ($r=0,47$) і селезінці ($r=0,78$) і зворотного зв'язку печінці ($r=-0,63$). Виявлено прямий зв'язок між вмістом Cd і Ca в нирковій тканині ($r=0,96$), селезінці ($r=0,73$) та печінці ($r=0,37$), а також прямий зв'язок між Cd та Mg ($r=0,85$) у селезінці, зворотний зв'язок в печінці ($r=-0,71$) та нирковій тканині ($r=-0,69$).

Проведені дослідження показали, що за умови нітратної інтоксикації спостерігається порушення макро- та мікроелементного складу, який характеризується накопиченням Ca і Zn в

печінці, нирках та селезінці; Cu – в печінці та селезінці з одночасним зниженням Mg на тлі зростання вмісту Cd.

Наші дані узгоджуються з результатами досліджень інших науковців [10, 12], що накопичення кадмію за умов нітратної інтоксикації може бути зумовлене порушенням синтезу чи руйнуванням металотіонеїнів, які впливають на його обмін.

6. Висновки

1. Отримані дані вказують на те, що надмірне надходження нітратів призводить до підвищення рівня кальцію в печінці, нирках та селезінці експериме-

нтальних тварин на тлі зниження іншого макроелементу – магнію - в цих органах.

2. Встановлено різноспрямовані зміни рівня есенціальних мікроелементів – цинку та купруму – в досліджуваних органах і тканинах.

3. Відмічено високий вміст депонування кадмію в печінці, нирковій тканині та селезінці дослідних тварин.

4. Показано, що характер змін елементного складу печінки, нирок та селезінки супроводжується різноспрямованим перерозподілом рівня есенціальних макро- та мікроелементів, що має важливе значення для розуміння їх впливу на регуляцію метаболічних процесів у живих організмах.

Література

1. Панасенко Т. В., Красноручька К. І. Вміст нітрат – іонів в продуктах харчування рослинного походження // Актуальні питання біології, екології та хімії. 2016. Т. 12, № 2. С. 103–112.
2. Медико-екологічна проблема сумарного надходження нітратів в організм людини з питною водою та харчовими продуктами та шляхи її вирішення / Хоменко Ю. Г. та ін. // Актуальні проблеми транспортної медицини. 2011. Т. 23, № 1. С. 82–86.
3. Нечитайло Л. Я., Ерстенюк А. М. Порівняльний аналіз хімічного складу води рівнинної зони Прикарпаття // Вісник національного університету «Львівська Політехніка». Серія Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2011. № 700. С. 282–286.
4. Нечитайло Л. Я. Динаміка змін вмісту нітратів у питній воді Прикарпатського регіону та дослідження впливу нітратної інтоксикації на мікро- та макроелементний склад печінки експериментальних тварин // Біологія тварин. 2014. Т. 16, № 4. С. 200.
5. Wimalawansa S. J. Nitric oxide and bone // Annals of the New York Academy of Sciences. 2010. Vol. 1192, Issue 1. P. 391–403. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05230.x>
6. Беленичев И. Ф., Жернова Г. А. Свободнорадикальные механизмы повреждения митохондрий при воздействии избытка NO // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. 2009. Т. 2. Вип. XXII. С. 38–40.
7. Губський Ю. І., Левицький Є. Л., Олар В. В. Молекулярні механізми загибелі клітини за дії біоцидних ксенобіотиків: вільні радикали, некроз, апоптоз // Український біохімічний журнал. 2010. Т. 82, № 4 (2). С. 9–11.
8. Стахурська І. О., Пришляк А. М. Інтенсивність метгемоглобін утворення у щурів різної статі за умови токсичного ураження натрію нітритом // Медична хімія. 2014. Т. 16, № 3. С. 128
9. Корда М. М., Ярошенко Т. Я. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження печінки ксенобіотиками // Медична хімія. 2005. Т. 7. № 3. С. 74–79.
10. Накопичення кадмію та його вплив на організм дитини / Марушко Ю. В. та ін. // Клінічна педіатрія. 2010. № 5 (26). С. 49–52.
11. Пустовіт С. В. Біоетичні принципи та механізми регулювання медико-біологічних досліджень // Современные проблемы токсикологии. 2010. № 4. С. 5–9.
12. In vitro моделирование действия кадмия на эпителиальные клетки при предварительной индукции металлотионеина in vivo / Пыхтеева Е. Г. и др. // Актуальные проблемы транспортной медицины. 2011. № 2 (24). С. 88–93.

Дата надходження рукопису 30.08.2018

Нечитайло Лариса Якимівна, асистент, кафедра біологічної та медичної хімії, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, Україна, 76018
E-mail: larysa.nechytailo@gmail.com

Ерстенюк Анна Михайлівна, доктор біологічних наук, професор, кафедра біологічної та медичної хімії, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, Україна, 76018
E-mail: erst@ukr.net