

**СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ
ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ**

Після ураження тварин різних вікових груп нітритом натрію відмічають активацію процесу метгемоглобіноутворення, що призводить до нагромадження вільнорадикальних метаболітів, які чинять токсичний вплив на структуру біологічних мембран. Встановлено, що у статевонезрілих тварин активність процесу метгемоглобіноутворення набуває максимального значення порівняно зі статевозрілими і старечими тваринами. Поряд із цим, у молодих тварин цитоліз гепатоцитів та еритроцитів проходить найінтенсивніше, що підтверджується збільшенням еритроцитарного індексу інтоксикації та активності амінотрансфераз у сироватці крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза, гемоглобін, метгемоглобін, еритроцитарний індекс інтоксикації, печінка, сироватка крові, нітритна інтоксикація, гемічна гіпоксія.

ВСТУП. За умов прогресування техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків токсикології та медицини залишається вивчення особливостей і механізмів комбінованої дії найбільш поширених поліюгантів – факторів ризику виникнення екологічнозалежних мультифакторних хвороб [2, 8]. Серед основних забруднювачів навколишнього середовища – важкі метали й азотвмісні речовини, причому найчастіше зустрічаються комбінації декількох патогенних чинників [3, 4].

Нітрит натрію – класичний метгемоглобіноутворювач, за його дії на організм розвивається гемічна гіпоксія. Згідно з даними [11], нітрит натрію в контакт з оксигемоглобіном призводить до утворення радикалів, які є активними реагентами, що пошкоджують біологічні системи, мають виражену цитотоксичну дію та активують процеси вільнорадикального окиснення [5].

Одними з головних завдань токсикології були і залишаються досі вивчення дії антропогенних забруднювачів довкілля, що є факторами ризику виникнення патологій у живих організмів, та розробка адекватних заходів щодо їх попередження [6].

Найважливіша література, в якій наведено численні результати досліджень впливу нітратів і нітритів на організм тварин, не повністю відоб-

ражає їх токсикодинаміку. Тому наші дослідження, які мають важливе наукове та практичне значення, були спрямовані на поглиблене вивчення патогенезу нітритного токсикозу в щурів різного віку.

Метою даного дослідження було встановити ступінь проникності еритроцитарних мембран та клітин печінки за умов нітритної інтоксикації тварин різного віку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” [7]. Виконували їх згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985). Усіх тварин було поділено на групи: 1-ша група – контрольні (інтактні) тварини (щури статевонезрілі, статевозрілі й старечі (1–3, 6, 18 місяців з вихідною масою 80–90, 180–200 і 300–320 г)); 2-га група – щури статевонезрілі, уражені нітритом натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла; 3-тя група – щури статевозрілі, отруєні нітритом натрію в тій же дозі; 4-та – щури старечі, отруєні нітритом натрію в дозі 45 мг/кг ($1/4$ від LD_{50}). Щури конт-

© П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, Н.І. Бурмас, І.З. Кернична, 2011.

рольної групи (інтактні тварини) отримували фізіологічний розчин за такою самою схемою. Нітрит натрію вводили інтрагастрально. Через 24 год після введення нітриту натрію здійснювали евтаназію всіх дослідних груп під тіопенталовим наркозом.

Об'єктом досліджень слугували гомогенат печінки, сироватка крові та цільна кров. Ступінь тяжкості гемічної гіпоксії оцінювали за вмістом гемоглобіну (Hb) [11] та метгемоглобіну (MetHb) [11] в крові щурів, ступінь проникності клітинних мембран – за еритроцитарним індексом інтоксикації (EII) [8], у крові та печінці піддослідних тварин визначали активність амінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) [1], адже саме ці ферменти відображають функціональний стан печінки. Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм "Microsoft Excel" та "STATISTICA 6,0" з розрахунку середніх величин, їх похибок, критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що введення в організм тварин нітриту

натрію в дозі $1/4$ від LD_{50} індукує значне утворення метгемоглобіну в крові, що призводить до розвитку гіпоксичного стану (табл.). В основі розвитку гіпоксичного пошкодження за гемічним типом лежить знижене забезпечення тканин киснем внаслідок підвищення рівня інактивованого гемоглобіну-метгемоглобіну [8, 11].

Як свідчать дані таблиці, нітрит натрію сприяє розвитку гемічної гіпоксії легкого ступеня у статевозрілих тварин, гемічної гіпоксії середньої тяжкості – у старечих, гемічної гіпоксії більш тяжкого ступеня – у статевонезрілих. Встановлено, що у статевонезрілих щурів вміст MetHb після ураження підвищився на 90 %, у статевозрілих – на 31 %, у старечих – на 54 %.

У зв'язку з підвищеним вмістом метгемоглобіну при нітратному ураженні в крові активуються процеси пероксидації ліпідів [4], причому з усіх видів гіпоксій за гемічної форми ці процеси перебігають найбільш інтенсивно і їх пов'язують з акумуляцією катехоламінів, дефіцитом антиокиснювальної системи, зниженням цитохром-активності [11].

Таблиця – **Вміст гемоглобіну, метгемоглобіну та еритроцитарного індексу інтоксикації в крові тварин різного віку за умов нітритної інтоксикації (M±n, n=6)**

Досліджуваний показник	Статевонезрілі		Статевозрілі		Старечі	
	інтактні	уражені NaNO ₂	інтактні	уражені NaNO ₂	інтактні	уражені NaNO ₂
Hb, г/л	122,70± 1,87	110,5± 1,67*	130,27± 3,72	124,25± 2,98	118,73± 4,12	112,45± 2,31
MetHb, г/л	1,548± 0,004	2,947± 0,004*	1,507± 0,008	1,982± 0,007*	1,477± 0,004	2,283± 0,008*
EII, %	66,070± 0,308	101,500± 0,144*	64,210± 0,047	81,198± 0,079*	61,130± 0,196	69,230± 0,197*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контрольної патології.

Слід зазначити, що Hb як субстрат окиснення, перетворюючись у MetHb, стає каталізатором оксидативних процесів в організмі, тобто проявляє прооксидний ефект. Так, нітрит-іони після потрапляння у кров за досить короткий проміжок часу проникають крізь еритроцитарні мембрани, ініціюючи в останніх вільнорадикальні перетворення, зокрема утворення активних форм кисню, таких, як O[•], NO[•] та ін. Інтенсифікація цього вільнорадикального окиснення ліпідів та зниження антиоксидантного захисту, згідно з даними літератури, є визначальним фактором зменшення резистентності еритроцитарних мембран до гемолізу [9, 11].

Нами встановлено, що введення в організм тварин нітриту натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла призводить до збільшення проникності

еритроцитарної мембрани, про що свідчить підвищений EII в крові у всіх дослідних групах (табл.).

Як видно з таблиці, найвищий відсоток проникності еритроцитарних мембран спостерігався у статевонезрілих тварин (збільшився на 38,5 % відповідно до контрольної групи), дещо менше – у старечих (на 13,45 % порівняно з інтактними тваринами), найнижчий відсоток проникності еритроцитарних мембран відмічали у статевозрілих щурів.

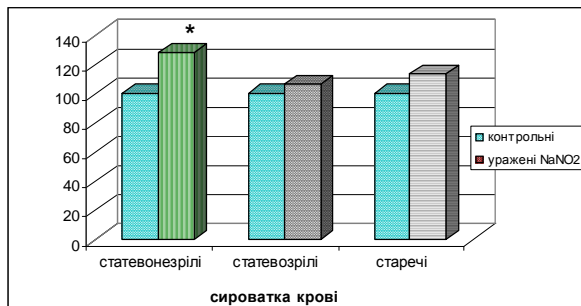
За гострого нітритного навантаження, внаслідок порушення білоксинтезуючої та дезінтоксикаційної функцій печінки, відзначали зниження активності амінотрансфераз у цьому органі. Останнє вказує на цитоліз гепатоцитів та зміну проникності їх мембран, що при-

зводить до виходу органоспецифічних ферментів у позаклітинний простір.

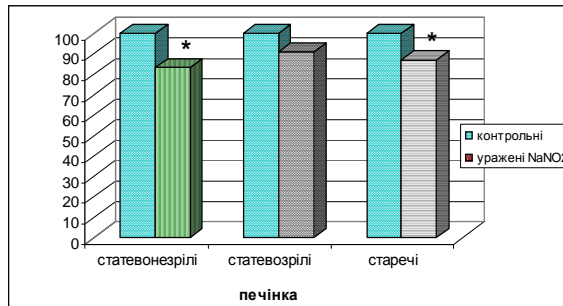
При введенні нітриту натрію в організм статевонезрілих тварин активність АлАТ у печінці уражених щурів знизилась в 1,2 раза, статевозрілих – в 1,1 раза, старечих – в 1,15 раза (рис. 1) порівняно з контрольною групою. У

сироватці крові після введення токсиканту відмічали підвищення активності амінотрансфераз, що є наслідком цитолітичного ефекту використаного нами нітриту натрію.

Аналогічна тенденція спостерігалась при визначенні активності АсАТ у тварин всіх вікових груп (рис. 2).

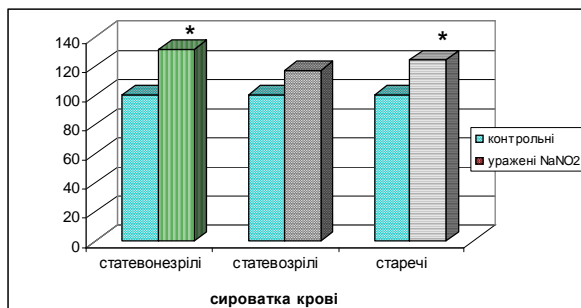


а

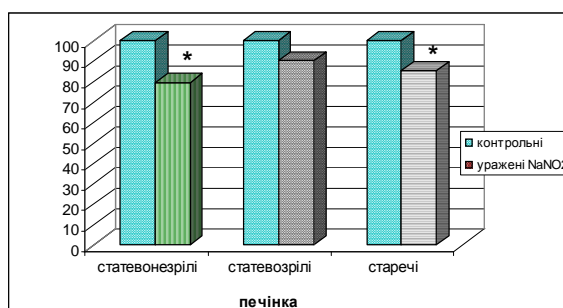


б

Рис. 1. Активність АлАТ у сироватці крові (а) та печінці (б) тварин різного віку, уражених нітритом натрію, %.



а



б

Рис. 2. Активність АсАТ у сироватці крові (а) та печінці (б) тварин різного віку, уражених нітритом натрію, %.

Таким чином, отримані нами результати вказують на токсичну дію нітриту натрію в організмі тварин різних вікових груп. Відмічається активація окиснювальних процесів, зокрема метгемоглобіноутворення, підвищення проникності еритроцитарних та плазматичних мембран гепатоцитів, про що свідчить збільшення ЕП й активності АлАТ та АсАТ в сироватці крові уражених щурів.

ВИСНОВОК. Найбільш чутливими до дії нітриту натрію є статевонезрілі щури, в яких активність окиснювальних процесів була найвищою, і це призвело до значних порушень проникності біологічних мембран, а звідси, виходу внутрішньоклітинних компонентів у кров. Найменш чутливими до дії нітриту натрію виявились статевозрілі щури. У старечих тварин всі досліджувані показники незначно відрізнялися від норми.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вивчення дезінтоксикаційних властивостей фібрабету на тваринах за умов комбінованої дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення / Л. С. Фіра, О. В. Благодарова, Б. Р. Бойчук, Д. В. Козак // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. – 2000. – 4 (11). – С. 83–86. – (Серія “Біологія”).

2. Виявлення метаболічних порушень в організмі щурів при поєднаній дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення /

Л. С. Фіра, О. І. Кривокульський, С. Ю. Соснієнко, Л. В. Головатюк // Екол. та ноосферол. – 2002. – 11, № 1–2. – С. 26–32.

3. Головки Л. Л. Вплив поєданого введення нітритів та солей важких металів на стан захисних систем організму в експерименті / Л. Л. Головки, Я. І. Гонський І. М. Кліщ // Вісник наук. досліджень. – 2004. – № 3. – С. 122–123.

4. Гонський Я. І. Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи

у щурів, уражених натрію нітритом і кадмію хлоридом / Я. І. Гонський, М. І. Борис // Мед. хімія. – 2007. – № 4. – С. 58–61.

5. Кіцула Л. М. Біологічна дія сумішей нітрату та нітриту натрію зі свинцем на організм білих щурів / Л. М. Кіцула // Гигиена населенных мест : сб. науч. тез. – К., 2001. – Т. 1, вып. 38. – С. 284–285.

6. Котюжинська С. Г. Порівняльна характеристика впливу нітриту натрію на систему гомеостазу *in vivo* та *in vitro* / С. Г. Котюжинська // Вісник наук. досліджень. – 2002. – № 1. – С. 108–109.

7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 136 с.

8. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / Л. В. Пані-

на, О. І. Терлецькі, С. М. Ковальчук, М. Р. Гжегоцький // Здоб. клін. та експерим. медицини. – 2008. – № 2. – С. 72–76.

9. Попович А. С. NO-синтазна активність і вміст нітритів у печінці та мозку щурів різного віку / А. С. Попович, А. О. Шеремет, Ю. В. Нікітченко // Мед. хімія. – 2010. – № 3. – С. 54–56.

10. Характеристика про- та антиоксидантних параметрів крові при попередньому застосуванні коригувальних засобів за умов гемічної гіпоксії / М. Р. Гжегоцький, Л. В. Паніна, О. І. Терлецькі, С. М. Ковальчук // Буковинський мед. вісн. – 2008. – № 2. – С. 91–95.

11. Чорна В. І. Вплив іонізуючої радіації і нітритної метгемоглобінемії на вміст метгемоглобіну в крові статевозрілих щурів і їх нащадків у динаміці раннього постнатального розвитку / В. І. Чорна // Мед. хімія. – 2009. – № 1. – С. 63–66.

П.Г. Лихацкий, Л.С. Фира, Н.И. Бурмас, И.З. Керничная
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ПОРАЖЕНИИ НАТРИЯ НИТРИТОМ

Резюме

После поражения животных разного возраста нитритом натрия отмечают активацию процесса метгемоглобинообразования, что приводит к накоплению свободнорадикальных метаболитов, оказывающих токсическое воздействие на структуру биологических мембран. Установлено, что у половозрелых животных активность процесса метгемоглобинообразования приобретает максимальное значение по сравнению с молодыми и старческими животными. Наряду с этим, у молодых животных цитолиз гепатоцитов и эритроцитов проходит интенсивнее, что подтверждается увеличением эритроцитарного индекса интоксикации и активности аминотрансфераз в сыворотке крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, гемоглобин, метгемоглобин, эритроцитарный индекс интоксикации, печень, сыворотка крови, нитритная интоксикация, гемическая гипоксия.

P.H. Lykhatskyi, L.S. Fira, N.I. Burmas, I.Z. Kernychna
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE STATE OF CELL MEMBRANE OF RATS OF DIFFERENT AGE UNDER CONDITIONS OF AFFECTION BY SODIUM NITRITE

Summary

After the affection of animals of different age groups by sodium nitrite was observed activation the process of methemoglobin formation, that leads to accumulation of free radical metabolites, which have a toxic influence on the structure of biological membranes. It was found that in sexually immature animals an activity of the process of MetHb-formation becomes the maximum value compared with sexually mature and old animals. At the same time in this age group the cytolysis of hepatocytes and erythrocytes is the most intensive, as evidenced by the increase of erythrocyte indices of intoxication and the activity of aminotransferases in the blood serum.

KEY WORDS: alaninaminotransferase, aspartataminotransferase, hemoglobin, methemoglobin, the erythrocyte indices of intoxication, liver, blood serum, nitrite intoxication, hemic hypoxiation.

Отримано 12.10.10

Адреса для листування: П.Г. Лихацький, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.