

УДК 612.014.461+612.084

©Л. Й. Ковальчук<sup>1</sup>, А. В. Мокієнко<sup>2</sup>, Б. А. Насібуллін, О. Я. Олешко<sup>3</sup>, О. І. Бахолдіна<sup>3</sup>Одеський національний медичний університет<sup>1</sup>

Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту

Міністерства охорони здоров'я України<sup>2</sup>, м. ОдесаДержавна установа "Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології Міністерства охорони здоров'я України"<sup>3</sup>, м. Одеса**КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ, ЩО СПОЖИВАЛИ В ЯКОСТІ ПИТНОЇ ВОДУ ОЗЕРА ЯЛПУГ**

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ, ЩО СПОЖИВАЛИ В ЯКОСТІ ПИТНОЇ ВОДУ ОЗЕРА ЯЛПУГ – Робота присвячена комплексній оцінці структурно-функціональних змін в організмі здорових щурів, що споживали в якості питної воду озера Ялпуг, яке є джерелом водопостачання населення м. Болград Одеської області. Результати фізико-хімічних та санітарно-хімічних досліджень води озера Ялпуг свідчать про її відповідність вимогам ДСТУ 4808:2007 до джерел 2–4 класу якості. У воді озера Ялпуг виявлено 4 види ціанобактерій, зокрема високі рівні *Synechocystis salina*, що викликає "цвітіння" води. Встановлено, що вживання здоровими щурами води озера Ялпуг супроводжується різким зменшенням активності АлТ і зниження активності АсТ; різким зниженням активності каталази за умови зростання вмісту МДА. Вірогідно, існують передумови для пошкодження мембран клітин, а отже, для розвитку дистрофічних процесів в органах і тканинах. Це підтверджується результатами патоморфологічних досліджень. Зважаючи на відсутність гігієнічно значимих концентрацій антропогенних забруднювачів, висловлено думку, що виявлені біологічні ефекти є наслідком дії ціанотоксинів або токсичних органомінеральних комплексів. Обґрунтована доцільність розширення та продовження досліджень ціанобактерій у контекстах їх виявлення у воді, ідентифікації ціанотоксинів, впливу цих ксенобіотиків на стан теплокровних тварин та людини.

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ ЗДОРОВЫХ КРЫС, КОТОРЫЕ ПОТРЕБЛЯЛИ В КАЧЕСТВЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДУ ОЗЕРА ЯЛПУГ – Работа посвящена комплексной оценке структурно-функциональных изменений в организме здоровых крыс, которые потребляли в качестве питьевой воду озера Ялпуг. Результаты физико-химических и санитарно-химических исследований воды озера. Ялпуг свидетельствуют о ее соответствии требованиям ГСТУ 4808:2007 к источникам 2–4 классов качества. Выявлено 4 вида цианобактерий, в частности высокие уровни *Synechocystis salina*, что вызывает "цветение" воды. Установлено, что употребление здоровыми крысами воды озера Ялпуг сопровождается резким увеличением активности АлТ и снижением активности АсТ; резким снижением активности каталазы при условии роста содержания МДА. Вероятно, существуют предпосылки для повреждения мембран клеток, а следовательно для развития дистрофических процессов в органах и тканях. Это подтверждается результатами патоморфологических исследований. Высказано предположение, что выявленные биологические эффекты являются следствием действия цианотоксинов либо токсичных органоминеральных комплексов, действие которых до сих пор не исследовалось. Обоснована целесообразность расширения и продолжение исследований цианобактерий в контекстах их выявления в воде, идентификации цианотоксинов, влияния этих ксенобиотиков на состояние теплокровных животных и человека.

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN HEALTHY RATS THAT CONSUMED DRINKING WATER FROM LAKE YALPUH – The work is devoted to a comprehensive assessment of functional changes in healthy rats organism who consumed drinking water from lake Yalpuh. The results of physico-chemical and sanitary-chemical investigations of

lake Yalpuh water indicate its compliance with the requirements of Ukrainian state standard (DSTU) 4808: 2007 to the sources of 2-4 quality class. 4 species of cyanobacteria, include *Synechocystis salina*, which cause water bloom have been found. It has been revealed that the use by healthy rats the water from lake Yalpuh is accompanied by a sharp increase in the activity of ALT and AST decreased activity; sharp decline in catalase activity provided by the growth of MDA. Probably, there are conditions for cell membranes damage, and therefore for the development of degenerative processes in organs and tissues. This is confirmed by the results of pathomorphological study. It is suggested that the biological effects identified are a consequence of the action of either cyanotoxins or any toxic organomineral complexes. The expediency of expansion and continued research of cyanobacteria in the contexts of their detection in water, the identification of cyanotoxins, the impact of these xenobiotics on the state of warm-blooded animals and humans has been substantiated.

**Ключові слова:** вода, озеро Ялпуг, хімічний склад, антропогенні забруднювачі, ціанобактерії, біологічні ефекти, щури.

**Ключевые слова:** вода, озеро Ялпуг, химический состав, антропогенные загрязнители, цианобактерии, биологические эффекты, крысы.

**Key words:** water, lake Yalpuh, chemical composition, anthropogenic pollutants, cyanobacteria, biological effects, rats.

**ВСТУП** Відомо, що вода є провідним чинником розповсюдження інфекційних хвороб [1]. Однак серед численних біологічних агентів, що забруднюють воду, є група мікроорганізмів, які насправді інфекції не викликають, а є продуцентами небезпечних токсинів. Мова йде про синьо-зелені водорості (ціанобактерії), розмноження яких у поверхневих водах набуло всіх ознак глобального масштабу [2]. Ця проблема тісно пов'язана із двома іншими явищами – евтрофікацією та "цвітінням" водойм, що не тільки порушують їх гідрологічний режим та викликають загибель макро- та мікрогідробіонтів, але можуть суттєво впливати на інтенсивне розмноження умовно-патогенної та патогенної мікрофлори [3, 4]. Однак у нашій країні ціанобактерії практично не вивчаються, а гігієнічні та медико-екологічні аспекти впливу цих біологічних контамінантів на організм взагалі не досліджено.

Метою дослідження була комплексна оцінка структурно-функціональних змін в організмі здорових щурів, що споживали в якості питної воду озера Ялпуг, яке є джерелом водопостачання населення м. Болград Одеської області.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Зразки води озера Ялпуг у 3-х повторностях відбирали 23, 24 липня 2014 р. Перед проведенням досліджень води на лаборатор-

них тваринах виконано фізико-хімічні та санітарно-хімічні дослідження за відповідними методиками [5].

Ідентифікацію ціанобактерій (альгологічні дослідження) виконували шляхом прямої мікроскопії краплі води за відповідною методикою [6]. Статистичну обробку результатів фізико-хімічних, санітарно-хімічних та альгологічних досліджень виконували параметричними методами з використанням програмного забезпечення "Excel 2010" ("Microsoft Inc.", США).

Експериментальні дослідження проведено на 30 білих щурах-самках лінії Вістар аутбредного розведення масою тіла 150–200 г. Під час усього періоду досліді тварини перебували на постійному стандартному харчовому та питному режимах в умовах утримання їх у віварії ДУ "Укр НДІ МРтАК МОЗ України". Тварин виводили із експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. Дослідження над тваринами проводили згідно з існуючими правовими документами [7, 8].

Експериментальні дані порівнювали з подібними показниками інтактних щурів (контрольна група). Щурів поділили на 2 групи. Перша — контрольна група порівняння (12 інтактних тварин). Тварини другої (дослідної) групи (18 тварин) вживали воду озера Ялпуг у режимі *ad libera* (вільного доступу). Тривав експеримент 30 днів.

Досліджували стан печінкового метаболізму (аланінтрансфераза /АЛТ/, аспартаттрансфераза /АСТ/, тимолова проба, малоновий діальдегід /МДА/, каталаза) та структурно-функціональні зміни у внутрішніх органах (шлунку, печінці, селезінці, нирках, головному мозку). Методи біохімічних та морфологічних досліджень викладено у методичних рекомендаціях [9].

Отриманий матеріал обробляли статистичними методами непрямих різниць. Вірогідними змінами вважалися ті, що знаходилися за таблицями Стьюдента у межі вірогідності  $<0,05$  [10].

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Результати фізико-хімічних досліджень, які оцінювали відповідно до вимог чинних нормативних документів ДСТУ 4808:2007 [11] та СанПіН № 4630-88 [12], свідчать, що вода озера Ялпуг за основними фізико-хімічними показниками майже повністю відповідала вимогам СанПіН № 4630-88 [12], за винятком деякого перевищення сухого залишку. Однак за більш жорстким нормативом ДСТУ 4808:2007 ці показники відповідають вимогам до джерел 2 (каламутність, окиснюваність, лужність); 3 (водневий показник, лужність, магній, хлорид-іони) та 4 (жорсткість, сульфат-іони, сухий залишок) класів. За санітарно-хімічними показниками (азот амонійний, азот нітритний та загальний органічний вуглець) вода озера Ялпуг належить до джерел 3 класу якості [11].

У зразках води озера Ялпуг вміст хлороорганічних пестицидів (ХОП) знаходився за межею чутливості приладу, а саме (мг/дм<sup>3</sup>): ліндан  $<0,00016$ ; гептахлор  $<0,00023$ ; ДДЕ  $<0,00049$ ; ДДД  $<0,00069$ ; ДДТ  $<0,00107$ .

Що стосується важких металів (Cd, Pb, Mn, Cr, Zn, Cu, V), то у зразках води вміст Cd відповідав джерелам 3, а V – 4 класу [11].

Альгологічні дослідження показали наявність ціанобактерій *Aphanizomenon flos-aquae*, *Gleocapsa minima*,

*Spirulina laxissima*, *Synechocystis salina*. Слід зазначити високі рівні (в середньому 44830000) *Synechocystis salina*, яка є ознакою "цвітіння" води.

Результати досліджень біохімічних показників метаболізму в печінці щурів, які одержували воду озера Ялпуг, показують наявність певних змін: різке збільшення активності АЛТ і зниження активності АСТ, що свідчить про вплив на деякі реакції трансамінування; різке зниження активності каталази за умови зростання вмісту МДА, тобто інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за умови пригнічення антиоксидантного захисту (АОЗ), що може створювати передумови для пошкодження мембран клітин, а отже, для розвитку дистрофічних процесів в органах і тканинах.

Структурно-функціональні зміни у внутрішніх органах щурів, які одержували воду озера Ялпуг, полягали у наступному.

При макроскопічному дослідженні змін внутрішніх органів не виявлено. Звертає увагу багрянний відтінок у забарвленні печінки і нирок.

При мікроскопічному дослідженні шлунку виражених змін структури не виявлено. Підслизова пластинка щільна, утворена тонкими фіброзними волокнами, які тісно прилягають один до одного. Судини помірного кровонаповнення, тонкостінні. Фібробласти нечисленні, ядра їх витягнуті, темнозабарвлені. Слизова оболонка рівномірної товщини на всій довжині, зверху її прикриває шар щільного слизу. Залози слизової оболонки трубчастої форми, епітелій повністю їх вистилає. Ядра епітеліоцитів середніх розмірів, розташовуються біля базальної поверхні. Цитоплазма гомогенна, слабобазофільна. Прощарки інтерстицію тонкі, утворені ніжними волокнами. У прощарках визначаються в невеликій кількості лімфоїдні елементи, судини слизової помірного кровонаповнення.

При мікроскопічному дослідженні печінки порушень у структурі її часточкової організації не виявлено. Судини в триадах, по кутах часточки і центральна вена розширені, застійно повнокровні. Розподіл гепатоцитів усередині часточки невпорядкований, що унеможлиблює мікроскопію балки на значній відстані від центральної вени. У тих ділянках, де балки відстежуються, міжбалковий простір щілоподібний. Купферові клітини з округлими блідими ядрами. Гепатоцити полігональної форми, розміри їх різні. Цитоплазма гепатоцитів грудкувата, перинуклеарний простір порожній. У цитоплазмі багатьох гепатоцитів визначаються вакуолі. В окремих гепатоцитах зустрічаються білкові еозинофільні включення. Звертає увагу потовщення муфти зі сполучнотканинних волокон і лімфоцитів навколо судин триад.

Макроскопічно селезінка соковита темно-багряного кольору. При гістологічному дослідженні сегментарна організація селезінки змазана за рахунок витончення і скорочення перегородок. Частина фолікул середніх розмірів із гермінативним центром, у якому з помірно щільністю розташовуються соковиті лімфоцити. Периферична зона цих фолікул широка, розподіл лімфоцитів досить розріджений. У периферичній зоні цих фолікул і в навколишній тканині багато сидерофагів. У навколишній тканині дуже мало еритроцитів. Лакуни поодинокі, запустілі, середніх

розмірів. Багато фолікул, що новоутворюються. Герменативний центр в них округлий, маленький, лімфоцити розташовані дуже щільно. Периферична зона вузька, розподіл лімфоцитів розріджений. Лакуни не визначаються.

Зміни у корі головного мозку полягали в наступному. При гістологічному дослідженні ламінарність кори спостерігається без змін. В III і II шарах кори значна кількість нейронів темнозбарвлені, внутрішня структура цитоплазми нерозрізнена. В IV–VI шарах основна маса нейронів звичайного вигляду. Нейрони у значній кількості збільшені в розмірах порівняно з навколишніми. Фарбування світле, ядро збільшене в розмірах із нечіткою межею, блідо пофарбоване. Цитоплазма гомогенна. Зустрічаються нейрони з дрібнобрильчастою хроматофільною речовиною, різко зменшеним у розмірах округлим, дуже темним ядром. У всіх шарах кори визначаються явища сателітозу. В корі й білій речовині частина судин запустіла, ендотелій набряклий, периваскулярні простори розширені.

При мікроскопії нирок встановлено, що ниркові тільца розподілені в кірковій речовині досить рівномірно. Ендотелій набряклий, навколо ниркових тілець скупчення лімфоцитів. Звичайні каналці з неупорядкованим розподілом епітеліоцитів, є зрушені клітини. Інтерстиціальні прошарки трохи розширені за рахунок скупчень лімфоїдних елементів і набряклого розпушення. Канальці мозкової речовини звичайного виду, інтерстиціальні перегородки розширені за рахунок скупчень лімфоїдних елементів.

Таким чином, у щурів даної групи мають місце прояви білкової дистрофії у печінці, реактивні зміни в нирках, характерні для реакції на дію ксенобіотиків. У мозку зміни, характерні для хронічної гіпоксії, яка може бути зумовлена масовим руйнуванням еритроцитів. У селезінці реактивні зміни на активацію функції, що виснажує її.

**ВИСНОВКИ** 1. Результати фізико-хімічних та санітарно-хімічних досліджень води озера Ялпуг свідчать про її відповідність вимогам ДСТУ 4808:2007 до джерел 2–4 класів якості.

2. У воді озера Ялпуг виявлено 4 види ціанобактерій, зокрема високі рівні *Synechocystis salina*, яка викликає "цвітіння" води.

3. Встановлено, що вживання здоровими щурами питної води озера Ялпуг супроводжується такими ефектами: різким збільшенням активності АлТ і зниженням активності АСТ, тобто впливом на деякі реакції трансамінування; різким зниженням активності каталази за умови зростання вмісту МДА, що може свідчити про інтенсифікацію пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за умови пригнічення антиоксидантного захисту (АОЗ). Вірогідно, існують передумови для пошкодження мембран клітин, а отже, для розвитку дистрофічних процесів в органах і тканинах. Це підтверджується результатами патоморфологічних досліджень.

4. Зважаючи на відсутність гігієнічно значимих концентрацій антропогенних забруднювачів (за винятком перевищення концентрацій кадмію та ванадію для джерел 1 класу якості), можна з вірогідністю вва-

жати, що виявлені біологічні ефекти є наслідком дії ціанотоксинів, які продукуються виявленими ціанобактеріями. Враховуючи певні рівні мінералізації води, високі рівні загального органічного вуглецю, а також органічну природу ціанотоксинів (олігопептиди, алкалоїди, ліпополісахариди), цілком вірогідно, що має місце формування токсичних органомінеральних комплексів, дія яких досі не досліджувалась.

**Перспективи подальших досліджень** варто вважати за необхідне розширення та продовження досліджень ціанобактерій у контекстах їх виявлення у воді, ідентифікації ціанотоксинів, впливу цих ксенобіотиків на стан теплокровних тварин та людини.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вода и водно-обусловленные инфекции / Мокиенко А. В., Гоженко А. И., Петренко Н. Ф., Пономаренко А. Н. – Одесса : "Лерадрук", 2008. – Т. 1. – 412 с.
2. Мокиенко А. В. Питиевая вода и водно-обусловленные инфекции (сообщение седьмое). Цианобактерии и цианотоксины / А. В. Мокиенко, Н. Ф. Петренко // Вода і водоочисні технології. – 2008. – № 3 (27). – С. 22–31.
3. Ковальчук Л. Й. Гігієнічна оцінка евтрофікації поверхневих водойм Українського Придунав'я / Л. Й. Ковальчук, А. В. Мокиєнко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14, вип. 4(48). – С. 73–78.
4. Ковальчук Л. И. Гигиеническая оценка цианобактерий озер Украинского Придунавья / Л. И. Ковальчук, А. В. Мокиенко, Д. А. Нестерова // Досягнення біології та медицини. – 2014. – № 2. – С. 10–14.
5. Посібник з методів досліджень природних та преформованих лікувальних засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їх основі; штучно-мінералізовані води; пелюди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі / Н. О. Алексєєнко, О. С. Павлова, Б. А. Насібуллін, А. С. Ручкіна. – Одеса : ЮНЕСКО-СОЦІУ, 2002. – Ч. 3. – 114 с.
6. Радченко И. Г. Практическое руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона : учебно-методическое пособие для студентов биологических специальностей университетов / И. Г. Радченко, В. И. Капков, В. Д. Федоров. – М. : Мордвинцев, 2010. – 60 с.
7. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249. – Офіційний вісник України від 06.04.2012. – № 24. – С. 82; стаття 942, код акта 60909/2012.
8. Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance) // Official Journal L 276, 20.10.2010. – P. 0033–0079.
9. Методичні рекомендації з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних засобів та преформованих засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їх основі; штучно-мінералізовані води; пелюди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі: Затверджено наказом МОЗ України від 28.09.2009 р. за № 692. Київ, 2009. – 117 с.
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. Ю. А. Данилова; под ред. Н. Е. Бузикашвили и Д. В. Самолова. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
11. Джерела централізованого питного водопостачання. Гігієнічні та екологічні вимоги щодо якості води і правила вибирання : ДСТУ 4808-2007 : К. : Держспоживстандарт України, 2007. – [Чинний від 01.01.2009]. – 36 с.
12. Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения. СанПиН № 4630 – 88. – М. : МЗ СССР, 1988. – 69 с.

Отримано 04.02.15