

ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МИНЕРАЛЬНО-КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ФАКТОРА СРЕДЫ

© 2010 К.С. Голохваст^{1,4}, А.М. Паничев², А.А. Сергиевич³, С.Ю. Борисов¹,
А.Н. Гульков^{1,5}

¹ Институт нефти и газа Дальневосточного государственного технического университета, Владивосток

² Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток

³ Амурская государственная медицинская академия

⁴ Дальневосточный государственный университет, Владивосток

⁵ ЗАО ДВНИПИ нефтегаз

Поступила в редакцию 04.05.2010

В данной статье приводятся результаты эколого-токсикологической оценки влияния минерально-кристаллического фактора среды (цеолитов) при ингаляционном введении на гистологическое состояние печени, легких и почек лабораторных животных. Показано, что цеолиты при таком способе введения и рассмотренной дозировке не оказывают выраженного токсического действия.

Ключевые слова: *цеолиты, ингаляция, токсичность*

В воздухе нашей планеты по оценкам специалистов находится около 20 миллионов тонн взвешенных минералов, но влияние минерально-кристаллического фактора среды и его отдельных компонентов на живые организмы, к сожалению, изучен недостаточно [2, 20]. Цеолиты – природные минералы, занимающие шестое место по распространению в мире, в последнее время всесторонне исследуются как российскими, так и зарубежными учеными. За последние десять лет число оригинальных исследований, посвященных цеолитам (по опубликованным данным) превышает четыре сотни [3, 11, 19]. Получен солидный фактический материал, согласно которому у цеолитов обнаружен широкий спектр биологических свойств. Большинство работ выполнено *in vivo* при пероральном введении цеолитов в организм животных [12]. Есть ряд работ, которые свидетельствуют о биологической активности цеолитов *in vitro* [22, 23, 28, 30]. Здесь можно отметить, что некоторые разновидности цеолитов, в частности клиноптилолит, гейландит и филлипсит, являются широко распространенными пороодообразующими минералами.

Цель работы: дать эколого-токсикологическую оценку ингаляционного воздействия одного из компонентов минерально-кристаллического фактора среды на живые организмы.

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, заместитель директора. E-mail: drooru@mail.ru
Паничев Александр Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и охраны животных

Сергиевич Александр Александрович, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии

Борисов Станислав Юрьевич, соискатель

Гульков Александр Нефедович, доктор технических наук, профессор, директор

Материалы и методы. Для ингаляции мы использовали тонко измельченные цеолиты Вангинского месторождения Амурской области (клиноптилолитовый туф с содержанием полезного компонента до 70%, остальное – глинистые минералы, кварц и полевые шпаты). Цеолиты, согласно нашей методике [8], измельчались в ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin SONOPULS 3400 (Bandelin, Италия) до фракции не около 5-10 мкм. Изучение морфологии цеолитов и фотографирование образцов выполнено И.Ю. Чекрыжовым и П.П. Сафроновым на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM-6490LV (JEOL, Япония) в Дальневосточном геологическом институте ДВО РАН. Образцы предварительно напылялись золотом. Исследования проводились на белых беспородных крысах (в опыт было взято 80 крыс). Экспериментальным воздействием выступало общее охлаждение животных в климатической камере «ЛКА» (Feutron, ГДР) при температуре -15°C . Охлаждение проводилось в течение 15 суток по 3 часа в день. Часть животных до охлаждения подвергалась ингаляционному введению в легкие цеолитов с помощью ультразвукового ингалятора УРСА-0,25П (Россия). Распыление цеолита производилось в закрытой камере в течение 15 мин в дозировке 1 г [7]. Литоингаляция цеолитами была применена как попытка компенсировать повреждающее действие холода. Все животные были разделены на 4 групп по 20 особей: «контроль» – интактные животные; «холод» – охлаждаемые животные; «Вангин» – животные, которым ингаляционно вводились цеолиты Вангинского месторождения; «Вангин + холод» – охлаждаемые животные, которым ингаляционно вводились цеолиты Вангинского месторождения.

После опытных мероприятий (в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием

экспериментальных животных» от 12.08.77) забирался материал для исследования. Для определения токсичности цеолитов при ингаляционном введении делались полутонкие срезы препаратов печени, почек, легких. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, метиленовым синим и резорцин-фуксином по Вейгарту. Фотографирование препаратов проводилось на микроскопе Zeiss Axio Imager A1 (Zeiss, Германия). Статистическая обработка осуществлялась с помощью программы Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Оценку достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты. Межальвеолярные перегородки в группе «холод» утолщены по сравнению с животными контрольной группы за счет отека и увеличения количества ретикулярных волокон, в отдельных случаях наблюдаются даже очаги фиброза. Среди клеток в большом количестве, по сравнению с «контролем», представлены фибробласты и макрофаги. Макрофаги в группе «холод» содержат многочисленные вакуоли, отчего цитоплазма приобретает «пенистый» вид. В группе «контроль» тучные клетки (лаброциты) чаще всего обнаруживаются в перибронхиальной соединительной ткани или адвентиции бронхов (рис. 1).

В группе «холод» лаброциты в большом количестве мигрируют в эпителий. У клеточных элементов снижаются практически все морфометрические

параметры, что согласуется с данными литературы [17, 18]. При ингаляции цеолита наблюдается картина, которая морфометрически достоверно не отличается от контрольных значений. В группе «Вангин+холод» цеолит нормализует показатели, приближая их к контрольным (см. таблицу ниже).

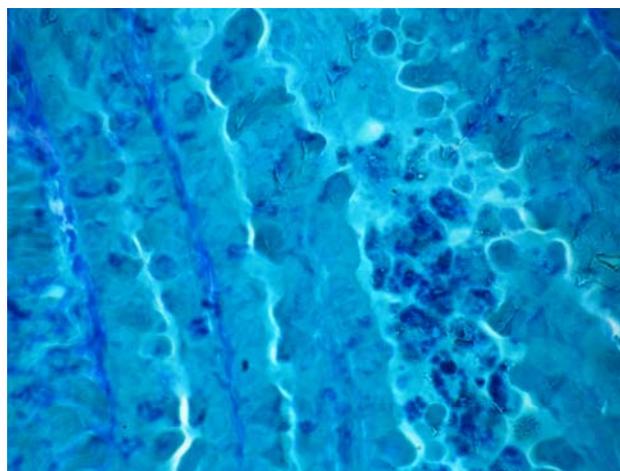


Рис. 1. Тучные клетки в легких группы «контроль». Окраска метиленовым синим. Увеличение 480х

Таблица. Морфометрические показатели лаброцитов каудального бронха в разных экспериментальных группах

Группы/показатели	Контроль	Холод	Цеолит	Цеолит+холод
периметр, мкм	22,42±0,55	19,76±0,43	23,35±0,56	21,02±0,45
площадь, мкм ²	28,77±0,89	20,65±0,44	29,32±0,93	26,26±0,80
ширина, мкм	4,51±0,31	3,53±0,19	4,62±0,30	4,23±0,27
длина, мкм	8,54±0,32	7,88±0,30	8,62±0,37	8,19±0,31
округлость, ед	2,4±0,08	2,0±0,05	2,3±0,07	2,4±0,09
число гранул в тучной клетке	85,2±2,54	80,9±2,31	89,1±2,64	82,1±2,42
число тучных клеток в эпителии	1,0±0,20	2,8±0,69	1,4±0,31	1,7±0,30

В группе «Вангин» в морфологическом строении респираторного отдела легких и отдельных клеток достоверных отличий от группы «контроль» обнаружено не было, однако в большом количестве наблюдались макрофаги с многочисленными фагосомами (рис. 2), в которых предположительно находится цеолит. К сожалению, провести более точный анализ содержимого фагосом без данных электронной микроскопии и специфического окрашивания не представляется возможным.

Результаты наших исследований показали [5, 6], что вдыхание минеральной (цеолитовой) пыли на фоне охлаждения ведет к усилению активности клеток (альвеолярных макрофагов и лимфоцитов), что частично компенсировало повреждающее действие холода. Ранее было установлено, что в условиях физиологической нормы под влиянием цеолита (введение перорально) активируются альвеолярные макрофаги [3]. Кроме того, цеолиты проявили себя как вещества с иммуномодулирующим действием – в нашем исследовании они меняли межпопуляционное соотношение между макрофагами и лимфоцитами [5], что

согласуется с данными Ivkovic, 2004 [27]. Учитывая необходимость постоянной стимуляции иммунной системы антигенами (в условиях стерильности альвеол легких в норме), можно предположить, что вдыхание минеральной пыли является необходимым для функционирования иммунной системы легких и имеет важное эволюционное значение (рис. 3). В подтверждение этой гипотезы говорит тот факт, что цеолиты фагоцитируются дендритными клетками, которые являются одними из основных антигенпредставляющих клеток в дыхательной системе, усиливая их функциональную активность [21].

В печени крыс в группе «холод» обнаружены очаги вакуолизации гепатоцитов и случаи пикноза ядер, хотя, в целом, морфологическое строение печени близко к контрольным значениям. Контакты между гепатоцитами в группе «холод» расширены по сравнению с контрольными. Скорее всего это свидетельствует о нарушении обменных, энергетических и пластических процессов в паренхиме печени вследствие синдрома гиперлипเปอร์оксидации [1, 17].

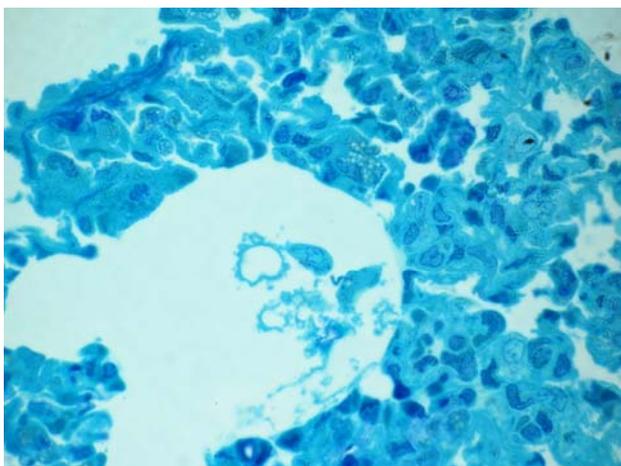


Рис. 2. Легкое в группе «Вангин». В просвете видны альвеолярные макрофаги, предположительно «нагруженные» цеолитом. Окраска метиленовым синим. Увеличение 480х.

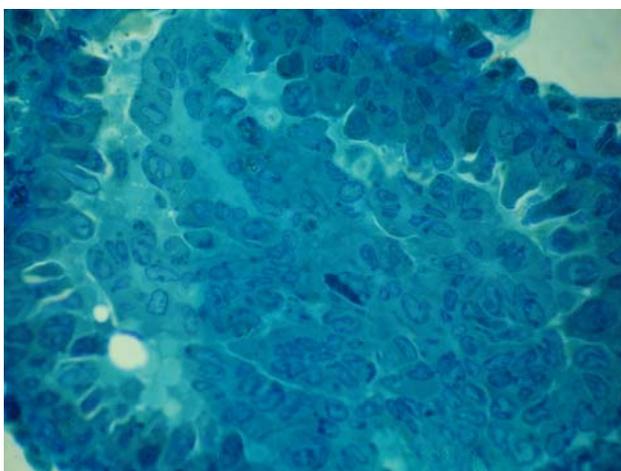


Рис. 3. Лимфоузел в легком в группе «Вангин». Видны дендритные клетки и макрофаги, предположительно «нагруженные» цеолитом. Окраска метиленовым синим. Увеличение 480х.

Гистологические параметры печени крыс группы «Вангин», находились в пределах контрольных значений, однако в этой группе наблюдалось достоверное повышение процента двуядерных гепатоцитов по сравнению с группами «контроль» и «холод».

В цитоплазме отдельных гепатоцитов и клеток Купфера в группе «Вангин» и «Вангин+холод» имеются фагосомы (рис. 4). Морфологической картины токсического повреждения ткани печени цеолитом Вангинского месторождения на уровне световой микроскопии при увеличении (до 480 раз) нами обнаружено не было.

В группе «холод» в структуре почек наблюдается повышенная вакуолизация эпителиоцитов, диаметр собирательных трубочек и проксимальных канальцев уменьшается по сравнению с нормой. У подоцитов, охлаждаемых животных, сморщиваются ядра, хроматин конденсирован, цитоплазма содержит вакуоли. Эти данные говорят о функциональном напряжении мочевыводящей

системы, вследствие повышенного содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов. Гистологическое строение почек в группах «Вангин» и «Вангин+холод» близко к контрольным значениям (рис. 5). Стоит отметить увеличение в группе «Вангин» некоторых морфометрических параметров эпителиоцитов и количества фагосом в мезангиоцитах по сравнению с контролем. Токсического действия цеолитов на структуру почек нами обнаружено не было.

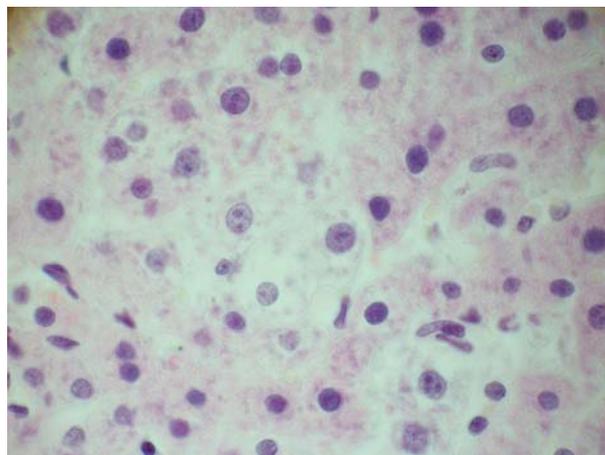


Рис. 4. Гепатоциты в группе «Вангин+холод». Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 480х.

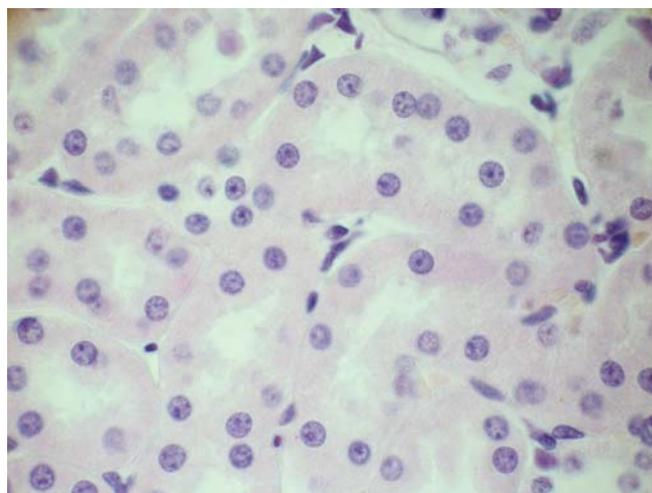


Рис. 5. Препарат почки крысы в группе «Вангин+холод». Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 480х.

Обсуждение и выводы. Анализ наших данных показывает, что минерально-кристаллический фактор среды, на примере цеолитов Вангинского месторождения Амурской области, не оказывает выраженного токсического действия при ингаляционном введении в организм, судя по гистологической оценке ткани легких, почек и печени, а на фоне охлаждения организма еще и нормализуют большинство морфометрических параметров. Кроме того, при применении в экспериментальных группах при холодовом воздействии

цеолиты проявили индуцирующее влияние на регенераторные свойства гепатоцитов.

На сегодняшний день в литературе имеется серия публикаций, показывающих наличие у некоторых цеолитовых пород негативных биомедицинских эффектов (цитотоксических, мутагенных, канцерогенных) по отношению к организму человека [9, 10, 26, 29, 31]. Доказаны в частности мутагенные эффекты обусловленные стимуляцией перекисного окисления липидов в дозе 0,01 и 0,05 мг/мл, а в дозе 20 мг/мл отмечено подавление активности каталазы [9]. Как известно, природные цеолиты являются полиминеральными горными породами, чаще туфогенно-осадочного генезиса. В связи с этим, оценивая данную информацию, возникает естественный вопрос, на который авторы не дают ясного ответа: с какой именно минеральной фазой в составе природных цеолитов связаны токсические эффекты и частицы какой величины были взяты в эксперимент. Что касается явно цеолитов, пока подтверждена лишь установленная ранее канцерогенная активность у некоторых цеолитов, образующих «игольчатые» формы агрегатов, в частности, у эрионита [26].

Необходимо отметить, что по поводу цитотоксических, мутагенных и канцерогенных свойств цеолитов имеются и принципиально иные данные. К примеру, в следующих работах [13, 15, 16, 24], если судить по итогам их изысканий, у цеолитов не выявлено высокой степени токсичности при аппликациях, аэрозольном и пероральном введении, не выявлено также и признаков эмбриотоксичности. В то же время показано, что токсичность цеолитосодержащих минеральных комплексов зависит от состава минеральных примесей, а также от формы и размера минеральных частиц.

Выяснение роли и биологических свойств остальных компонентов минерально-кристаллического фактора среды (различные кварцы, силикаты и алюмосиликаты, сульфиды, полевошпат, вулканическое стекло и другие) является важной экологической задачей и требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (У.М.Н.И.К.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Авцын, А.П.* Введение в географическую патологию. – М.: Медицина, 1972. – 338 с.
2. *Богатиков, О.А.* Неорганические наночастицы в природе // Вестник РАН. – 2003. – Т.73, № 5. – С. 426-428.
3. *Гайдаш, А.А.* Структура миокарда, легких, печени, почек и физико-химические свойства соединительной ткани под влиянием фтора и природного цеолита (экспериментальное исследование): Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – Новосибирск, 2005. – 35 с.
4. *Головин, А.В.* Использование препаратов биологически активных веществ нового поколения в кормлении высокопродуктивных коров и бычков на откорме): Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – Боровск, 2007. – 45 с.
5. *Голохваст, К.С.* Иммуномодулирующие свойства цеолитов Вангинского месторождения при ингаляционном введении в условиях общего охлаждения / *К.С. Голохваст, С.С. Целуйко* // Дальневосточный медицинский журнал. – 2006. - № 3. – С. 92-94.
6. *Голохваст, К.С.* Антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства природных цеолитов / *К.С. Голохваст, А.М. Паничев, А.Н. Гульков, И.В. Мишаков, А.А. Ведягин* // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2009. - №3. – С. 68-70.
7. Патент РФ №76566 на полезную модель. Устройство для исследования внешних воздействий на животных / *К.С. Голохваст, А.Н. Гульков, А.М. Паничев, С.Ю. Борисов, В.В. Чайка.* Опубликовано 27.09.2008. Бюл. 27.
8. Патент РФ №2372092. Способ подготовки порошка для ингаляции / *К.С. Голохваст, А.Н. Гульков, А.М. Паничев, И.Ю. Чекрыжов, С.Ю. Борисов* // Опубликовано 10.11.2009. Бюл. №31.
9. *Дурнев, А.Д.* Исследование мутагенного действия пыли природных цеолитов и хризотил-асбеста / *А.Д. Дурнев, Т.Б. Сулова, З.П. Черемисина* и др. // Эксперим. онкол. – 1990. – Т. 12, №2. – С. 21-24.
10. *Дурнев, А.Д.* Отдаленные последствия мутагенного действия хризотил-асбеста и цеолита in vivo / *А.Д. Дурнев, Н.О. Даугель-Дауге, Л.Г. Коркина* и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. - № 115(5). – С. 484-486.
11. *Ежков, В.О.* Клинико-морфологические особенности нарушения метаболизма у сельскохозяйственных и экзотических птиц и коррекция его кормовыми добавками у кур: автореф. ... д-ра ветер. наук. – М., 2008. – 32 с.
12. *Зотеев, В.С.* Научные и практические аспекты использования природных сорбентов (цеолитовых туфов) в комбикормах для молочного скота: автореф. ... д-ра биол. наук. – М., 2008. – 35 с.
13. *Курамышина, Н.Г.* Южноуральские цеолиты – экобезопасность и влияние на организм птицы, сельскохозяйственных животных / *Н.Г. Курамышина, Р.Т. Маннапова, Г.М. Топурья, А.Г. Маннапов А.Г.* – Уфа-Оренбург-Москва: Издательство БашГАУ, 2007. – 248 с.
14. *Макаренко, Л.Я.* Эффективность использования цеолита Пегасского месторождения в кормлении крупного рогатого скота: дисс. ... д-ра с.-х. наук. – Кемерово, 2003. – 38 с.
15. *Пылев, Л.Н.* Анализ биологической агрессивности цеолитов различных месторождений РФ / *Л.Н. Пылев, Л.А. Васильева, И.Е. Валамина* // Природные минералы на службе человека: Материалы науч.-практич. конф. – Новосибирск, 1999. – С. 68-70.
16. *Пылев, Л.Н.* Канцерогенная безопасность цеолита Холинского месторождения / *Л.Н. Пылев, Л.А. Васильева, С.А. Хрусталева, Т.А. Краснова* // Гигиена и санитария. – 2003. - № 2. – С. 53-56.
17. *Хаснулин, В.И.* Введение в полярную медицину. – Новосибирск, Изд-во СО РАМН, 1998. – 337 с.
18. *Целуйко, С.С.* Морфологическая характеристика соединительной ткани органов дыхания при общем охлаждении / *С.С. Целуйко, В.А. Доровских, Н.П. Красавина.* – Благовещенск, Изд-во АГМА, 2000. – 256 с.

19. Черкашина, А.Г. Выращивание молодняка пушных зверей с использованием биологически активных веществ в условиях Республики Саха (Якутия): Автореф. дисс... д-ра с.-х. наук. – М., 2007. – 47 с.
20. Юшкин, Н.П. Минеральный мир и здоровье человека // Вестник отделения наук о Земле РАН, № 1(22)' 2004. - Тезисы доклада на общем собрании Отделения наук о Земле РАН 15.12.2003 г., Москва. URL: http://www.scgis.ru/russian/cp1251/h_dgggms/1-2004/scpub-1.pdf
21. Andersson, L.I.M., Eriksson H. De-aluminated zeolite Y as a tool to study endocytosis, a delivery system revealing differences between human peripheral dendritic cells / L.I.M. Andersson, H. Eriksson // Scandinavian Journal of Immunology. – 2007. – Vol. 66. – P. 52-61/
22. Ceyhan, T. In vitro evaluation of the use of zeolites as biomaterials: effects on simulated body fluid and two types of cells / T. Ceyhan, M. Tatlier, H. Akcakaya // J. Mater. Sci.: Mater. Med. – 2007. – Vol. 18. – P. 1557-1562.
23. Cerri, G. Zn-exchanged clinoptilolite-rich rock as carrier for erythromycin in anti-acne therapy: An in vitro evaluation / G. Cerri, M. de Gennaro, M. C. Bonferoni et al. // Book of abstracts 7th International Conference on the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite'06», 16-21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. – P. 75-76.
24. Final report on the safety assessment of aluminum silicate, calcium silicate, magnesium aluminum silicate, magnesium silicate, magnesium trisilicate, sodium magnesium silicate, zirconium silicate, attapulgite, bentonite, Fuller's earth, hectorite, kaolin, lithium magnesium silicate, lithium magnesium sodium silicate, montmorillonite, pyrophyllite, and zeolite // International Journal of Toxicology. – 2003. - № 22. – P. 37-102.
25. Gabuda, S.P. Structural forms of fluorides in bone tissue of animals under chronic fluoride intoxication / S.P. Gabuda, A.A. Gaidash, S.G. Kozlova, N.L. Allan // Journal of Structural Chemistry. – 2006. – Vol. 47, № 2. – P. 258-266.
26. Ilgren, E.B. A reconnaissance study of a potential emerging mexican mesothelioma epidemic due to fibrous zeolite exposure / E.B. Ilgren, M. Ortega Brena, J. Castro Larragoitia et al. // Indoor and Built Environment. – 2008. - №17(6). – P. 496-515.
27. Ivkovic, |S. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system / S. Ivkovic, U. Deutsch, A. Silberbach et al. // Adv. Ther. – 2004. – N. 21(2). – P. 135-147.
28. Katic, M. Clinoptilolite – effects on cell culture in vitro / M. Katic, B. Bosnjak et al. // Frontiers in Biosciences. – 2006. – Vol. 11. P. 1722-1732.
29. Momcilovic, B. Megamin, faith, hope and placebos – a critical review // Arh. Hig., Rada. Toksikol. – 1999. – N50(1). – P. 67-78.
30. Poljak-Blazi, M. In vitro and in vivo effect of natural clinoptilolite on malignant tumors / M. Poljak-Blazi, M. Katic, M. Kralj et al. // 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France, 8-13 July, 2001. – Vol. P. 135. 374.
31. Thomas, J.A. Toxicological Assessment of Zeolites / J.A. Thomas, B. Ballantyne // Journal of the American College of Toxicology. – 1992. – Vol. 11, № 3. – P. 259-273.

ECOLOGICAL -TOXICOLOGICAL ESTIMATION OF THE INFLUENCE OF MINERAL-CRYSTAL FACTOR OF ENVIRONMENT

© 2010 K.S. Golohvast^{1,4}, A.M. Panichev², A.A. Sergievich³, S.Yu. Borisov¹,
A.N. Gulkov^{1,5}

¹ Institute of Oil and Gas of Far East State Technical University, Vladivostok

² Pacific Institute of Geography FEB RAS, Vladivostok

³ Amur State Medical Academy

⁴ Far East State University, Vladivostok

⁵ JSC DVNIPI neftegas

In given article results of ecological-toxicological estimation of the influence of mineral-crystal factor of environment (zeolites) at inhalation injection on histologic condition of liver, lungs and kidneys of laboratory animals are resulted. It is shown, that zeolites at such way injection and considered dosage do not render the expressed toxic effect.

Key words: *zeolites, inhalation, toxicity*

Kirill Golokhvast, Candidate of Biology, Deputy Director.

E-mail: droopy@mail.ru

Alexander Panichev, Doctor of Biology, Leading Research Fellow at the Laboratory of Ecology and Animal Protection

Alexander Sergievich, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Normal Physiology

Stanislav Borisov, Post-Graduate Student

Alexander Gulkov, Doctor of Technical sciences, Professor, Director