

УДК 577.352.3

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ЭКОТОКСИКАНТОВ НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА ВЛАДИКАВКАЗА

© 2010 Ф.С. Дзугкоева¹, Л.Г. Хетагурова¹, С.Г. Дзугкоев¹, Л.В. Чопикашвили¹,
Е.А. Такоева¹, Ж.Р. Битарова², А.И. Тедтоева², А.Б. Касохов¹

¹ Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра РАН
и Правительства РСО-Алания

² Северо-Осетинская государственная медицинская академия

Поступила в редакцию 01.10.2010

Экотоксиканты – соли тяжелых металлов, содержание которых превышает ПДК в атмосфере г. Владикавказа, оказывают мембрано- и ферментотоксическое действие, вызывают функциональные изменения в нефроне и периферической сосудистой системе, активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в условиях эксперимента. В районах г. Владикавказа загрязнение металлоплютантами повышает заболеваемость бронхиальной астмой у детей и является причиной хромосомных аберраций, свидетельствующих о их генотоксических нарушениях. В механизме развития приступов бронхиальной астмы участвуют провоспалительные цитокины (ИЛ-4; ИЛ-8; Фно- α), содержание которых повышается, и изменяется концентрация противовоспалительных (повышается Инф- γ и снижается ИЛ-10).

Ключевые слова: *перекисное окисление липидов, гемодинамика, антиокислительная защита, хромосомные аберрации, соли тяжелых металлов, цитокины*

Изучение особенностей влияния на человека ионов тяжелых цветных металлов, поступающих из объектов производственной и окружающей среды, на сегодняшний день в нашем регионе является актуальной проблемой. Г. Владикавказ располагает богатой инфраструктурой промышленного производства тяжелых цветных металлов, а также многочисленными видами автотранспорта и др. источниками, загрязняющими экосистему. В последнее время в Республике происходит экологическая катастрофа, характеризующаяся выбросами в атмосферу сернистого ангидрида, тяжелых цветных металлов Co, Cd, Ni и др., входящих в I категорию опасности по классификации ВОЗ. Г. Владикавказ по степени загрязненности стоит в одном ряду с такими крупными городами как Новосибирск, Курск и другие. Соли тяжелых цветных металлов из

атмосферы оказывают воздействие на человека в виде аэрозолей, образующиеся вследствие конденсации и окисления на воздухе, оседают на волосах, коже и всасываются в кровь. Другим путем их поступления в организм является дыхательная система и желудочно-кишечный тракт. Благодаря липофильности эти соли легко всасываются через клеточные мембраны, взаимодействуют с сульфидными группами белков мембран и субклеточных органелл, что определяет их стойкость и способность к накоплению, т.е. кумуляции в клетках органов в больших концентрациях. Основными токсикантами являются Ni, Co, Cd и др., способные вызывать токсические эффекты при относительно низких уровнях воздействия, которые раньше считались безопасными. Проникая в кровеносную систему, поражают практически все висцеральные системы, в том числе и почки, как основной экскреторный орган; при этом оказывают прямое воздействие на эндотелиальные и мезангиальные клетки, тубулярный эпителий, базальные мембраны как гломерул, так и канальцев. Проявляют мембрано-, ферментотоксичность и генотоксичность, в динамике воздействия могут вызывать функциональные и морфологические изменения, приводящие к нефропатии и почечной недостаточности, вызывают приступы бронхиальной астмы, нарушения со стороны сердечнососудистой, иммунобиологической и эндокринной систем. Особенно чувствительна к их влиянию детская популяция нашего населения.

Дзугкоева Фира Соломоновна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора. E-mail: fira-belikova@mail.ru.

Хетагурова Лариса Георгиевна, доктор медицинских наук, директор. E-mail: institutbmi@mail.ru

Дзугкоев Сергей Гаврилович, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник

Чопикашвили Лидия Васильевна, доктор медицинских наук, заведующая медико-генетическим отделом

Такоева Елена Астановна, младший научный сотрудник. E-mail: elena_takoeva@mail.ru

Битарова Жанна Руслановна, аспирантка

Тедтоева Анжелика Ираклиевна, аспирантка

Касохов Анатолий Борисович, доктор медицинских наук, заведующий отделом лаборатории детской патологии

Цель исследования: изучение медико-биологических аспектов влияния солей тяжелых цветных металлов и разработка методологии их коррекции.

Соли тяжелых цветных металлов как ионы с переменной валентностью генерируют активные метаболиты кислорода: O_2^- , OH^- , H_2O_2 , O_2^2 , индуцируя ПОЛ. Существует ряд источников супероксид анион-радикала O_2^- : митохондрии, мембраны ЭПР, фагоциты, но основной путь их образования – утечка O_2^- из дыхательной цепи на уровне коэнзима Q. Одноэлектронное восстановление O_2 является результатом отщепления от основного пути переноса электронов по дыхательной цепи, происходящее на уровне коэнзима Q, цитохрома C, а также при микросомальном окислении токсических веществ с участием НАДФ-зависимых оксидаз и цитохрома P450. Эти радикалы и продукты ПОЛ атакуют структуры клеточной мембраны, митохондрии, ядро. Основной точкой приложения их негативного влияния являются ПНЖК фосфолипидов биологических мембран, они подвергаются перекислению, что приводит к нарушению физико-химической структуры мембран, вплоть до полного разрыва.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 350 крысах-самцах линии Вистар с хронической интоксикацией солями тяжелыми металлами: хлоридом никеля, кобальта и сульфатом кадмия. Определенная серия исследований проведена на взрослом и детском населении, проживающем в экологически неблагоприятных районах г. Владикавказ. У детей, страдающих бронхиальной астмой, исследовали содержание цитокинов: провоспалительных и противовоспалительных. У взрослых исследовали генетические повреждения по данным хромосомных aberrаций. Исследовали основные процессы мочеобразования: скорость клубочковой фильтрации по клиренсу эндогенного Cr, рассчитывали канальцевую R_{H_2O} , используя формулы Ю.В. Наточина (1974). Для анализа электролитовывделительной функции почек определяли экскрецию Na и K с мочой, их концентрацию в крови, Φ_3 ионов, рассчитывали канальцевую R_{Na} в %. Изучали активность Na,K,ATФ-азы в корковом и мозговом слоях почечной ткани по приросту неорганического фосфора в среде инкубации по методу Scou TC (1957). Для выяснения патогенетического механизма нарушений исследовали интенсивность ПОЛ в мембранах эритроцитов и в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани по

данным изменения концентрации малонового диальдегида (МДА), который определяемого методом Asakawa T., (1980). О состоянии антиокислительной защиты судили по активности СОД методом аутоокисления адреналина и каталазы в сыворотке крови, определяемую методом М.А. Королюка и соав., (1988). Влияние никелевой интоксикации на различные звенья сосудистой системы: магистральные сосуды и микроциркуляторное звено – изучали в 6 точках локации. Кровоток регистрировали ультразвуковым портативным доплерографом ММ-Д-Ф фирмы «МИНИМАКС» на наркотизированных интактных животных и крысах с никелевой интоксикацией. Использовали датчик с частотой 10 МГц. Для каждой зоны локации прибор регистрировал основные параметры кровотока: среднюю (M), систолическую (S) и диастолическую (D) скорости кровотока, пульсовый индекс (Pi), градиент давления (GD). Результаты всех серий опытов обработаны статистически с применением t-критерия Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel, проводили корреляционный анализ.

Результаты и их обсуждение. Анализ наших данных показал, что на фоне экспозиции тяжелыми цветными металлами действительно отмечается активация процессов свободно-радикального окисления в клетках крови – эритроцитах. Сравнительный анализ данных полученных при интоксикации различной длительности показал, что интенсивность процессов СРО нарастает, в соответствии со сроками влияния.

Изменения носят системно-органный характер, и соответственно происходит интенсификация процесса СРО не только в крови, но и в почечной ткани – основного пути экскреции ксенобиотиков. В гомогенатах коркового и мозгового вещества повышается концентрация МДА, свидетельствующая об интенсификации СРО на фоне Cd, Co и Ni. Хроническая интоксикация этими солями в течение месяца выявила равнозначные показатели ПОЛ в корковом и мозговом веществе почечной ткани под влиянием Ni и Co, и менее выраженные на фоне экспозиции сульфатом кадмия.

Активность ферментов АОЗ – супероксиддисмутазы снизилась, хотя возросла активность каталазы в сыворотке крови компенсаторно, причем изменения имеют односторонний характер как при введении сульфата кадмия, хлорида кобальта, так и при никелевой интоксикации.

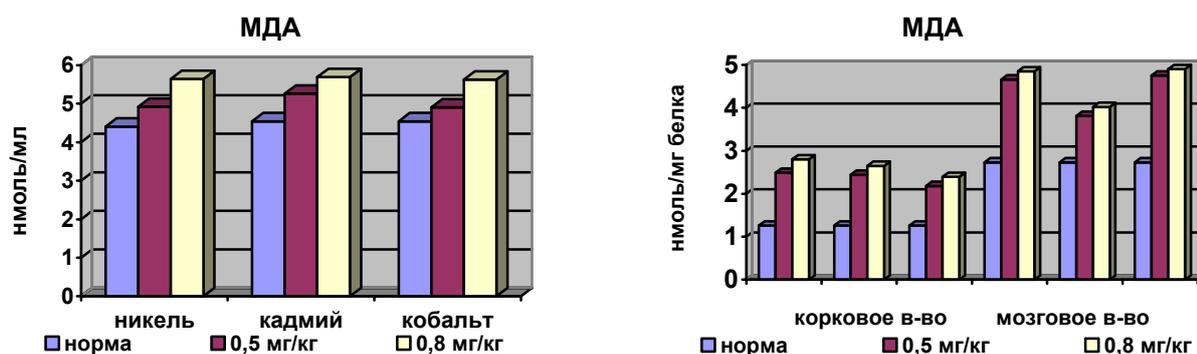


Рис. 1. Концентрация МДА в эритроцитах и в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани на фоне введения хлорида никеля, сульфата кадмия и хлорида кобальта

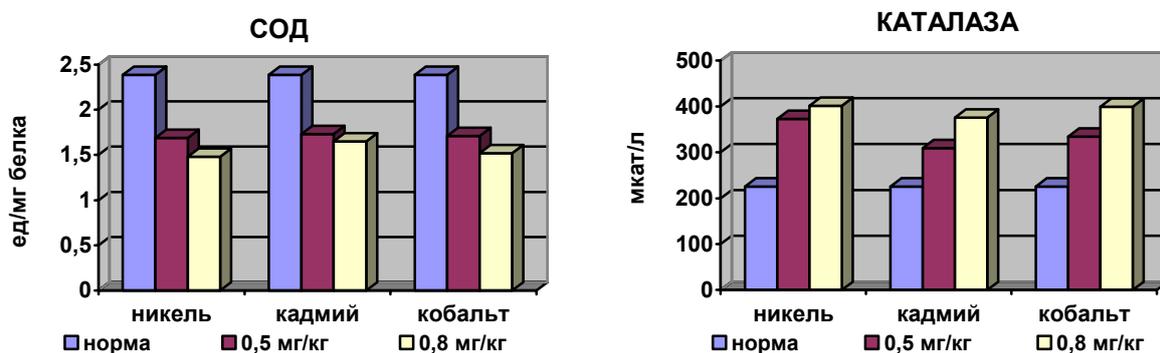


Рис. 2. Состояние антиокислительной системы на фоне интоксикации солями тяжелых и цветных металлов

Образовавшиеся метаболиты ПОЛ, МДА изменяют физико-химические и функциональные свойства биологических мембран, что проявляется в следующих нарушениях:

- окислительная модификация SH-NH₂ – групп белков: структурных, транспортных, ферментов в частности ФЛ А₂;
- окисление ферментов ЦТК, поставляющие восстановленные эквиваленты в дыхательную цепь;
- повышение проницаемости липидного бислоя: появление в гидрофобной области гидроксильных и полярных продуктов ПОЛ ПНЖК приводит к образованию водных пор, нарушению стабильности мембраны, вплоть до ее полного разрыва;
- увеличение протонной проводимости: разобщение процессов биологического окисления и окислительного фосфорилирования и потеря способности аккумулировать АТФ;
- нарушение синтеза АТФ – уменьшение соотношения АТФ/АДФ;
- набухание митохондрий;
- снижение активности мембранных ферментов.

Примером изменения активности мембраносвязанных ферментов является, в частности, Na-транспортирующий фермент. Анализ данных активности Na⁺,K⁺-АТФ-азы как в мозговом, так

и в корковом слоях почечной ткани показал, что угнетается его активность, как в мозговом, так и корковом слоях почечной ткани на фоне интоксикации солями тяжелых цветных металлов.

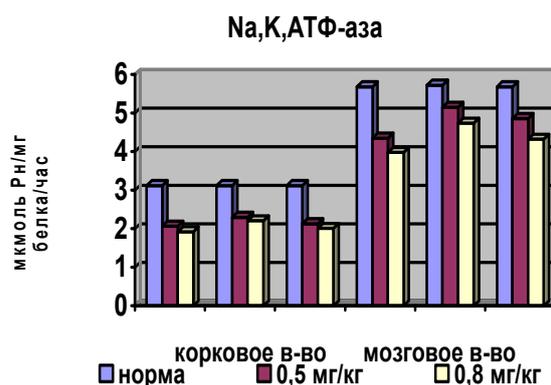


Рис. 3. Показатели активности Na⁺,K⁺-АТФ-азы в гомогенатах коркового и мозгового слоев почечной ткани на фоне интоксикации солями тяжелых и цветных металлов

На фоне оксидативного стресса изменяется функциональное состояние почек, выражающееся в снижении СКФ и уровня каналь-

цевой реабсорбции воды и изменении объема диуреза. Одновременно нарушается и электролитно-выделительная функция, данные свидетельствуют о достоверном повышении экскреции натрия и калия с мочой на фоне всех ис-

следуемых солей тяжелых цветных металлов, вследствие снижения уровня канальцевой реабсорбции иона, на фоне снижения фильтрационного заряда натрия. Одновременно снижается и фильтрационный заряд калия.

Таблица №1. Изменения функционального состояния почек и гемодинамики на фоне хронической интоксикации солями тяжелых металлов ($M \pm m < p$)

Показатели	контроль	Ni	контроль	Cd
диурез, мл/час/100 г	0,091±0,003	0,060±0,007 ¹¹¹⁾	0,091±0,003	0,132±0,007 ¹¹¹⁾
скорость клубочковой фильтрации, мл/час/100 г	14,69±0,40	9,296±0,51 ¹¹¹⁾	14,69±0,40	11,56±0,33
канальцевая реабсорбция воды, %	99,37±0,037	99,351±0,015-	99,37±0,037	98,82±0,052 ¹¹¹⁾
экскреция Na, мкмоль/ч/100 г	9,38±0,26	10,742±0,18 ¹¹¹⁾ 2)	9,38±0,26	11,02±0,44 ¹¹¹⁾
фильтрационный заряд Na, мкмоль/ч/100 г	1658,16±52,93	1305,37±24,13 ¹¹¹⁾	1658,16±52,93	1465,19±50,44 ¹¹¹⁾
канальцевая реабсорбция Na, %	99,49±0,092	99,172±0,026 ¹¹¹⁾	99,49±0,092	99,29±0,074 ¹⁾
экскреция K, мкмоль/ч/100 г	6,32±0,36	7,75±0,115 ¹⁾	6,32±0,36	6,87±0,23-
фильтрационный заряд K, мкмоль/ч/100 г	53,85±1,47	80,306±1,824 ¹¹¹⁾	53,85±1,47	44,61±1,3 ¹¹¹⁾
средняя скорость кровотока (M), см/с	4,95±0,21	3,7±0,11 ¹¹¹⁾	1,41±0,14	1,068±0,103 ¹⁾
систолическая скорость (S), см/с	12,74±0,42	11,69±0,34-	9,37±0,39	6,78±0,98 ¹¹⁾
диастолическая скорость (D), см/с	6,335±0,19	2,49±0,21 ¹¹¹⁾	6,94±0,27	6,91±0,12-
индекс Гослинга (P _i)	7,28±0,38	9,18±0,32 ¹¹¹⁾	13,16±0,43	17,42±1,28 ¹¹¹⁾
градиент давления (GD), мм.рт.ст.	0,054±0,002	0,038±0,003 ¹¹¹⁾	0,039±0,003	0,028±0,008-
реографический индекс (R ₁)	0,49±0,04	0,897±0,05 ¹¹¹⁾	1,59±0,061	1,78±0,07 ¹⁾

Примечание: ¹¹¹⁾ - p<0,001; ¹¹⁾ - p<0,01; ¹⁾ - p<0,02; ¹⁾ - p<0,05 достоверность относительно контроля

Системные изменения, вызванные солями тяжелых металлов, проявлялись в дисциркуляторных гемодинамических нарушениях вследствие изменения тонуса сосудов и повреждения эндотелиоцитов. Данные показали, что на фоне интоксикации солями тяжелых металлов выявляется снижение жидкостного обмена тканей (А) – перфузии, систолической и диастолической скоростей кровотока в сосудах микроциркуляции. При анализе перфузии на фоне хронической интоксикации выявлено повышение пульсаторного индекса (индекса Гослинга - P_i), который отражает упруго-эластические свойства (плотность) сосудистой стенки. Реографический индекс Пурсело (R₁) снижался. В крупных артериальных сосудах (БА, ПА) отмечено повышение средней и систолической скоростей кровотока (M и S, соответственно), градиент давления также повышен (GD). Но в отличие от сосудов микроциркуляторного звена, отмечено снижение и пульсаторного и реографического индексов (P_i и R₁, соответственно), что свидетельствует о тенденции к увеличению сердечного выброса. Повышение средней и систолической скоростей кровотока, отмечалось в артериях (БА, ПА) на фоне снижения реографического и пульсаторного индексов, вероятно, является механизмом компенсации жидкостного обмена в данной ситуации. Соли тяжелых

металлов оказывают выраженный генотоксический эффект: на фоне Cd – 15,0±1,5% хромосомных aberrаций, на фоне Pb 14,3±3,2% и Zn 12,0±3,3%. Выявлены хромосомные aberrации хроматидного типа (одионые делеции) и хромосомного типа: парные делеции, дицентрическое слияние хромосом, кольцевые хромосомы, реже встречались геномные мутации. Эти изменения касаются здоровья взрослого и детского населения г. Владикавказа. У 27,9% обследованных фенотипически здоровых молодых людей за период с 2001 по 2008 гг. уровень хромосомных aberrаций превышал контроль в 1,5-2 раза и варьировал в пределах 3-6%, а у 14,7% уровень поражения наследственных структур превышал контроль в 2,5-3 раза, то есть был представлен 7-8 %. Результаты указанного генетического груза проявляются и соответствуют итогам диспансеризации, согласно которым из числа обследованных только 36,4% признаны здоровыми, у остальных выявлены различные отклонения в здоровье. Рождаются дети с врожденными пороками развития, из всего числа новорожденных 73,6% имели кариотип в пределах нормы, у 19,5% отмечено увеличение генетического дисбаланса в 2 раза на фоне контроля, а 4,9% обследованных детей имелся уровень хромосомных aberrаций более 6-7%, что превышало контроль в 2-3 раза (контроль 2-3%).

Таблица №2. Содержание цитокинов в сыворотке крови в приступном периоде при различном течении бронхиальной астмы ($M \pm m < p$)

Показатели	Легкое (n=22)	Среднетяжелое (n=20)	Тяжелое (n=20)
Ил-4	11,11 ±4,61 P1>0,01	12,56±7,36 P2>0,01	25,67 ±18,48 P3>0,01
Ил-8	34,77±15,09 P1>0,01	33,18 ±14,09 P2>0,01	40,41 ±19,33 P3>0,01
Ил-10	11,15 ±3,87 P1>0,01	10,03 ±3,64 P2>0,01	10,14 ±5,47 P3>0,01
ИФ-γ	18,4±7,86 P1>0,01	22,09 ±15,46 P2>0,01	21,62±17,08 P3>0,01
ФНО-α	1,77±0,28 P1>0,01	1,84±0,63 P2>0,01	2,0±0,86 P3>0,01

Примечание: P1 – достоверность различий показателей между легким и среднетяжелым течением; P2 – достоверность различий показателей между среднетяжелым и тяжелым течением; P3 – достоверность различий показателей между легким и тяжелым течением

Металлополлютанты вызывают иммунобиологическую несостоятельность, способствуют развитию хронических и аутоиммунных заболеваний: бронхиальной астмы, хронических заболеваний почек, сахарного диабета, ИБС. Анализ данных заболеваемости бронхиальной астмой показал ее повышение у детей, проживающих в экологически неблагоприятном районе г. Владикавказа. Иммуносупрессия связана с нарушением репарации ДНК лимфоцитов, нарушением синтеза T₁ хелперами цитокинов: ИФ-γ, ИЛ-2 и экспрессии клеточных рецепторов. При интоксикации солями тяжелых металлов происходят изменения порфиринового обмена, инактивация ферментов синтеза Hb, дельта-аминолевулинат синтетазы, феррохелатазы и нарушение содержания Hb в крови. Исследование цитокинового статуса и показателей иммунобиологического состояния показало, что в период обострения отмечается повышение провоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-8 и ФНО-α и снижение содержания противовоспалительных: ИЛ-10, ИНФ-γ. Разработаны новые технологии профилактики и лечения патологических состояний в эксперименте и клинике с использованием природных ресурсов РСО-Алании: ирлит-1,7, а так же современные антиоксиданты и мембранотропные вещества: НУМС, милдронат, L-карнитин и афобазол.

Выводы: соли тяжелых металлов способствуют формированию различных патологических состояний со стороны висцеральных систем, нарушая их функционирование и вызывая развитие хронических заболеваний, таких как хронические заболевания почек, ИБС, бронхиальная астма, сахарный диабет и др. Патогенетической основой этих нарушений является активация процессов ПОЛ солями тяжелых цветных металлов, повреждение физико-химических свойств клеточных мембран основных систем жизнеобеспечения, иммунокомпонентных клеток и генетического аппарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гильденскиольд, Р.С. Изменения структурно-функциональных показателей клеток системы крови мышей при длительном воздействии свинца и кадмия / Р.С. Гильденскиольд, Ю.В. Новиков, Р.С. Хамидулин и др. // Токсикол. Вестник. 2001. №5. С. 2-5.
2. Кацнельсон, Б.А. Связь доклинических проявлений в почках у детей дошкольного возраста с содержанием кадмия и свинца в моче / Б.А. Кацнельсон, Л.И. Привалова, С.В. Кузьмин и др. // Токсикологический вестник. 2006. №4. С. 35-41.
3. Киреев, Р.А. Влияние ионов кадмия на свободно-радикальные процессы и активность Na⁺, K⁺-АТФ-азы в тканях крыс // Токсикологический вестник. 2005. №4. С. 12-15.
4. Ларкин, А.А. Оценка эффективности средств индивидуальной защиты кожи при воздействии соединений никеля // Медицина труда и промышленная экология. 2007. №9. С. 23-26.

MECHANISMS OF ECOTOXICANTS INFLUENCE ON HEALTH OF THE POPULATION IN VLADIKAVKAZ CITY

© 2010 F.S. Dzugkoeva¹, L.G. Hetagurova¹, S.G. Dzugkoev¹, L.V. Chopikashvili¹, E.A. Takoeva¹, Z.R. Bitarova², A.I. Tedtoeva², A.B. Kasohov¹

¹ Institute of Biomedical Researches of Vladikavkaz Scientific Centre of RAS and Government of RSO-Alania

² North-Osetia State Medical Academy

Ecotoxicants – salts of heavy metals which contents in Vladikavkaz atmosphere exceeds maximum permissible concentration, render membrane and enzyme-toxical action, cause functional changes in a nephron and peripheric vascular system, activation of peroxide oxidations of lipids (POL) in conditions of experiment. In Vladikavkaz districts metals pollution increases a case rate of bronchial asthma at children and is the reason of chromosomal aberrations testifying about their genotoxic disturbances. Proinflammatory cytokines participate in the mechanism of development of bronchial asthma attacks (IL-4; IL-8; FNO-a) which contents increases, and concentration of antiinflammatory cytokines increase and IL-10 decrease.

Key words: *peroxide oxidation of lipids, hemodynamic, antioxidizing protection, chromosomal aberrations, salts of heavy metals, cytokines*

Fira Dzugkoeva, Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director.

E-mail: fira-belikova@mail.ru.

Larisa Hetagurova, Doctor of Medicine, Director. E-mail:

institutbmi@mail.ru

Sergey Dzugkoev, Candidate of Medicine, Minor Research Fellow

Lidiya Chopikashvili, Doctor of Medicine, Chief of the

Medical-Genetics Department

Elena Takoeva, Minor Research Fellow. E-mail: elena_takoeva@mail.ru

Janna Bitarova, Post-graduate Student

Angelika Tedtoeva, Post-graduate Student

*Anatoliy Kasohov, Doctor of Medicine, Chief of the Department
of Children's Pathology Laboratory*