

УДК: 616-008+591.434:615.9]-001.5

П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, І. І. Герасимець, Н. І. Руснак, В. П. Пида

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

## МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ УРАЖЕННЯ НІТРИТОМ НАТРІЮ

Ураження щурів нітритом натрію в дозі 45 мг/кг викликає збільшення в крові вмісту MetHb, нітрит-іону у всіх органах тварин та поглиблення ендогенної інтоксикації організму. Найбільш чутливими виявились щури статево незрілого віку, що підтверджується більш вираженими змінами у досліджуваних тканинах.

**Ключові слова:** нітрит натрію, щури, метгемоглобін, нітрит-йон, ендогенна інтоксикація.

### ВСТУП

Однією з основних проблем біохімії є встановлення механізмів токсичної дії ксенобіотиків, зокрема таких поширених екологічних забруднювачів докілья як оксиди азоту, нітрити, нітрати, канцерогенні нітрозаміни, тощо [4, 16].

Широке вживання нітритів і нітратів у народному господарстві України містить у собі певну небезпеку для здоров'я людей будь-якого віку [3]. Відомо, що токсичність нітратів пов'язана з їх відновленою формою — нітритами, які, згідно з даними літератури, сприяють окисненню гемоглобіну до метгемоглобіну, зумовлюючи розвиток гемічної гіпоксії [1]. Згідно з деякими даними [9, 11], натрію нітрит у контакті з оксигемоглобіном призводить до утворення активних радикалів, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси пероксидного окиснення [14].

Нітрити можуть бути джерелом високо реакційного оксиду NO та його похідних, що змінює параметри вільнорадикального гомеостазу [8, 10].

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Метою нашого дослідження було встановити рівень процесів метгемоглобіноутворення та утворення нітрит-йону, а також ступінь ендогенної інтоксикації за умов ураження щурів різного віку нітритом натрію.

Для проведення експериментів використовували білих безпородних щурів-самців, які утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Щури були поділені на три вікові категорії — перша — статево незрілі, масою тіла 60-80

г, друга — статево зрілі — масою тіла — 180-200 г і третя — стречі, маса тіла яких становила 300-320 г. Кожна вікова група складалася із двох підгруп — інтактний контроль (К) та дослідна група (Д). Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин. Щури дослідних груп інтрагастрально протягом двох днів отримували водний розчин нітриту натрію в дозі 45 мг/кг маси тіла.

Через 24 та 72 год після останнього введення токсиканта тварин виводили із експерименту шляхом етаназії під тіопенталовим наркозом.

Для дослідження брали кров, сироватку крові, печінку, нирки та 12-палу кишку тварин. Із тканини печінки, нирок та 12-палої кишки готували 10% гомогенат на фізіологічному розчині.

Розвиток процесів вільнорадикального окиснення оцінювали за вмістом метгемоглобіну (MetHb) [7], нітрит-йону (NO<sub>2</sub>) [15], ступінь ендогенної інтоксикації визначали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) обох фракцій [2] — СМ<sub>1</sub> (переважають ланцюгові амінокислоти) та СМ<sub>2</sub> (переважають ароматичні амінокислоти).

При проведенні експериментів користувались 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) [5]. Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм «Microsoft Excel» та «STATISTICA 6,0» з розрахунку середніх величин, їх похибок, критерію Стьюдента [6].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно досліджень in vivo, нітрит натрію в контакті з оксигемоглобіном — могутній генератор активних радикалів: NO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, OH, NO<sub>2</sub>. Перераховані метаболіти — активні реагенти, що пошкоджують біологічні системи, проявляють виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси

ПОЛ. Нітрит натрію може з'єднуватись з гемоглобіном та утворювати метгемоглобін (MetHb), підвищений вміст якого в крові, в кінцевому результаті, викликає тканинну гіпоксію.

Нами досліджено вміст MetHb в крові щурів різних вікових груп після ураження нітритом натрію (табл. 1).

Таблиця 1

ВМІСТ МЕТНВ (Г/Л) В КРОВІ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N = 6)

Досліджувані тканини	Статево незрілі			Статево зрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Кров	1,547± 0,131	2,947± 0,272*	4,257± 0,268*	1,502± 0,171	1,982± 0,321	2,012± 0,247	1,477± 0,165	2,283± 0,237*	3,351± 0,339*

**Примітка:** тут і в наступних таблицях \* вірогідні зміни між тваринами інтактного контролю та ураженими нітритом натрію

З таблиці 1 видно, що потрапляючи в організм щурів нітрит натрію викликає посилене метгемоглобіноутворення у статево незрілих та старечих тварин, про що свідчить вірогідно (p < 0,05) підвищений вміст MetHb. Через 72 год після ураження даний показник у статево незрілих щурів підвищився у 2, 75 раза, у старечих — у 2,27 раза. Найбільш стійкими до дії нітриту натрію виявились статево зрілі тварин, у яких спостерігалась тенденція до підвищення вмісту MetHb, але вірогідних змін відмічено не було.

Можливо, у молодих тварин високий вміст MetHb пояснюється недосконалою ферментною системою і великим відсотком фетального гемоглобіну в крові [12, 13]. У старечих щурів в резуль-

таті взаємодії з нітритами змінюються певні характеристики гемоглобіну — порушується процес дисоціації оксигемоглобіну. Транспортна функція гемоглобіну знижується після його переходу в MetHb і зворотньо. Навіть після повного зникнення MetHb киснева ємність крові знижується [11].

Враховуючи екзогенне введення підвищеної дози нітритів до організму щурів, необхідним було вивчити вміст нітрит-йону в тканинах, так як відомо, що нітрити є непрямими маркерами концентрації оксиду азоту в організмі та кінцевими продуктами його метаболізму.

Результати дослідження вмісту нітрит-йону у сироватці крові, печінці 12-палій та нирках щурів наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

ВМІСТ НІТРИТ-ЙОНУ (NO<sub>2</sub>-ІОН) У СИРОВАТЦІ КРОВІ (МКМОЛЬ/Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12=ПАЛІЙ КИШЦІ (МКМОЛЬ/КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)

Досліджувані тканини	Статево незрілі			Статево зрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	0,0223± 0,0029	0,0246± 0,0014	0,0293± 0,0021	0,0325± 0,0011	0,0440± 0,0013*	0,0505± 0,0011*	0,0308± 0,0020	0,0525± 0,0041*	0,0408± 0,0015*
Печінка	0,0123± 0,0012	0,0231± 0,0014*	0,0210± 0,0023*	0,0115± 0,0011	0,0190± 0,0020*	0,0218± 0,0017*	0,0190± 0,0022	0,0293± 0,0033	0,0181± 0,0026

Продовження Табл. 2

12-пала кишка	0,0130± 0,0016	0,0150± 0,0017	0,0170± 0,0023	0,0141± 0,0021	0,0131± 0,0021	0,0251± 0,0033*	0,0205± 0,0023	0,0216± 0,0016	0,0271± 0,0022
Нирки	0,0150± 0,0016	0,0163± 0,0015	0,0181± 0,0019	0,0133± 0,0011	0,0141± 0,0014	0,0221± 0,0031*	0,0120± 0,0012	0,0223± 0,0023*	0,0251± 0,0013*

При введенні нітриту натрію ми відмітили вірогідне зростання вмісту нітрит-йону у сироватці крові статевозрілих та старечих тварин в обидва терміни дослідження. Через 72 год після ураження вміст NO<sup>2-</sup> йону у сироватці крові статевозрілих щурів зріс на 55%, у старечих — на 32%, у молодих тварин вірогідних змін у сироватці крові не відмічено.

Протилежна тенденція відмічена у печінці дослідних тварин. Найбільш виражені зміни вмісту нітрит-йону спостерігались у статевозрілих та статевозрілих тварин — до кінця експерименту у щурів першої групи даний показник збільшився у 1,7 раза, у статевозрілих — у 1,9 раза. У старечих тварин вірогідних змін у печінці не виявлено.

Ми дослідили вміст нітрит-йону у 12-палій кишці уражених тварин усіх вікових груп. В усіх щурів вміст нітрит-йону не змінювався порівняно з контролем протягом всього експерименту, хоча у статевозрілих спостерігалась тенденція до підвищення даного показника.

Наведені вище показники можуть свідчити про розвиток вільнорадикальних процесів в ураженому організмі, що призводить до токсичного впливу проміжних метаболітів на клітинні структури та біомакромолекули в організмі, вкликаючи їх деструкцію та модифікацію.

Про ступінь ендогенної інтоксикації в ураженому організмі ми судили за вмістом МСМ, результати дослідження яких наведені в таблицях 3 та 4.

Таблиця 3

**ВМІСТ СМ1 У СИРОВАТЦІ КРОВІ (УМ.ОД./Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12-ПАЛІЙ КИШЦІ (УМ.ОД./КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)**

Досліджувані тканини	Статевозрілі			Статевозрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	14,28± 0,99	31,24± 1,65*	43,49± 2,75*	11,48± 0,65	16,66± 0,53*	23,37± 1,09*	13,31± 0,16	15,26± 0,82	20,29± 0,88*
Печінка	5,54± 0,14	12,17± 0,89*	20,35± 1,68*	4,82± 0,33	5,79± 0,31	6,67± 0,35*	6,56± 0,10	8,81± 0,37*	12,60± 0,66*
12-пала кишка	5,03± 0,30	7,49± 0,18*	10,24± 0,54*	5,17± 0,23	6,23± 0,10*	8,51± 0,52*	3,28± 0,31	4,57± 0,17*	5,15± 0,24*
Нирки	4,20± 0,52	10,80± 0,65*	12,42± 0,67*	4,28± 0,36	10,71± 0,69*	12,87± 0,82*	6,12± 0,38	8,87± 0,56*	12,76± 0,52*

У сироватці крові щурів усіх вікових груп після ураження вірогідно підвищився вміст СМ<sub>1</sub> протягом обидвох термінів дослідження. Аналогічно відмічено підвищення даного показника в печінці, нирках та 12-палій кишці статевозрілих, статевозрілих та старечих тварин через 24 та 72 години після потрапляння до організму нітриту натрію.

Поряд із фракцією СМ<sub>1</sub>(переважають ланцюгові амінокислоти) ми дослідили вміст фракції СМ<sub>2</sub> (переважають ароматичні амінокислоти). Встановлено, що ураження нітритом натрію призводить до збільшення вмісту фракції середніх молекул, де переважають ароматичні амінокислоти, у всіх тканинах організму (табл. 4).

Таблиця 4

**ВМІСТ СМ2 У СИРОВАТЦІ КРОВІ (УМ.ОД./Л), ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА 12-ПАЛІЙ КИШЦІ (УМ.ОД./КГ) ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП, ОТРУЄНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ (M±M; N=6)**

Досліджувані тканини	Статевозрілі			Статевозрілі			Старечі		
	інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені		інтактний контроль	уражені	
		24 год	72 год		24 год	72 год		24 год	72 год
Сироватка	14,48± 1,39	35,91± 1,77*	34,44± 2,22*	11,47± 0,21	16,52± 0,82*	24,46± 2,11*	13,27± 0,39	15,56± 0,64*	21,26± 1,78*
Печінка	5,91± 0,07	12,51± 0,97*	15,33± 1,25*	4,93± 0,06	6,71± 0,72	8,98± 0,54*	6,62± 0,04	8,89± 0,43*	12,63± 0,69*
12-пала кишка	5,46± 0,60	6,48± 0,64	11,70± 0,75*	5,23± 0,34	8,34± 0,44*	11,24± 0,51*	3,48± 0,19	4,50± 0,40	7,21± 0,35*
Нирки	4,15± 0,04	6,02± 0,77	8,21± 0,54*	4,61± 0,60	6,94± 0,48*	8,71± 0,51*	6,05± 0,17	8,86± 0,40*	12,63± 0,74*

У сироватці крові статевозрілих щурів вміст СМ<sub>2</sub> підвищився у 2,4 раза до кінця експерименту, у статевозрілих — у 2,1 раза, у старечих — у 1,6 раза. Найбільшого підвищення зазнав вміст фракції СМ<sub>2</sub> у печінці статевозрілих тварин, де він збільшився у 2,6 раза в кінці експерименту, у статевозрілих та старечих щурів це збільшення було у 1,8 та 1,9 раза відповідно.

У нирках та 12-палій кишці спостерігалась аналогічна тенденція до збільшення даного показника у всіх вікових групах і воно становило в середньому 2 рази.

Таким чином, ураження нітритом натрію збільшило ступінь ендогенної інтоксикації в організмі щурів, що проявилось нагромадженням молекул середньої маси у всіх досліджуваних органах.

**ВИСНОВКИ**

1. Ураження щурів нітритом натрію в дозі 45 мг/кг призводить до розвитку процесу метгемоглобіноутворення. Найбільш чутливими виявились тварини статевозрілого віку, у яких вміст MetHb досяг найвищого рівня.

2. Після потрапляння до організму щурів нітриту натрію відмічається збільшення вмісту NO<sup>2-</sup> йону у тканинах тварин усіх вікових груп.

3. Активізація процесів метгемоглобіноутворення та нагромадження у тканинах нітрит-йону після ураження тварин нітритами призводить до поглиблення ендогенної інтоксикації організму, про що свідчить збільшення у всіх органах вмісту молекул середньої маси.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А. Классификация гипоксических, гипо- и гиперкапнических состояний / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов // Физиологический журнал. - 2003. - Т. 49, № 3. - С. 11-16.
2. Андрейчин М.А. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму. Методичні рекомендації МОЗ України. / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко та ін. — Київ, 1998. — С. 1—31.
3. Гоженко А.И. Изменение функции почек при острой интоксикации нитритом натрия в эксперименте / А.И. Гоженко, А.С. Федорук, С.Г. Котюжинская // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2003. - № 1. - С. 28-30.
4. Иргашев Т.А., А.И Каримов. Влияние нитратов на организм человека и животных / Т.А. Иргашев, А. И. Каримов / (обзор). — Душанбе, «Нодир», — 2009. 58с.
5. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. — К.: Авіцена, 2002. — 136 с.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич — К.: Морион, 2000. — 320 с.
7. Лифшиц В.М. Биохимические анализы в клинике. Справочник / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова — Москва: «Триада-Х», 2002. — 208 с.
8. Луценко Б.О. Зміни окисного метаболізму у тканинах шлунка білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. — 2007. — Т.7, Вип. 3. — С.174-176.
9. Паніна Л.В. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / Л.В. Паніна, С.М. Терлецька, С.М.Ковальчук [та ін -// Здобутки клінічної і експериментальної медицини. — 2008. — № 2. — С. 72 — 76.
10. Паніна Л.В. Функціональний стан еритроцитарних мембран за умов нітритної інтоксикації та профілактичного застосування олії амаранту і періодичного гіпоксичного тренування / Л.В. Паніна, М.Р. Гжегоцький, О.І. Терлецька, С.М. Ковальчук // Таврический медико-биологический вестник. — 2004. — Т.7, № 1. — С. 43 — 46.
11. Проданчук Г.Н. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации / Г.Н. Проданчук, Г.М. Балан // Соврем. пробл. токсикологии. — 2007. — №1. — С. 37-45.
12. Титов В.Ю. Предполагаемый механизм развития нитрит-индуцированной метгемоглобинемии / Титов В.Ю., Петренко Ю.М. // Биохимия. — 2005. — Т.70, №4. — С. 575-587.
13. 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.
14. Шамсудинов Ш.Н. Влияние нитратов на функции почек. / Ш.Н. Шамсудинов Х.М.Сафаров, А.И Каримов.//Вестн. Педагог. ун-та.- Душанбе, 1998, № 3. -С.115.
15. Green C. Analysis of nitrate, nitrite and (<sup>15</sup>N) nitrate in biological fluids / C. Green, A. David, J. Golawski [et. al.] //Anal. Biochem. — 1982. — 126. — № 1. — P. 131-138.
16. Fan A., Steinberg V.E. Health implications of nitrate and nitrite in drinking water: an update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity //J. Regul. Toxicol. Pharmacol. — 1996. — Vol.23, №1. — P. 35-43.

УДК: 616-008+591.434:615.9]-001.5

П. Г. Лихацкий, Л. С. Фира, И.И. Герасимец, Н. И. Руснак, В. П. Пида

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

#### МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПОРАЖЕНИЯ НИТРИТОМ НАТРИЯ

Поражение крыс нитритом натрия в дозе 45 мг / кг вызывает увеличение в крови содержания MetHb, нитрит-иона во всех органах животных и усугубление эндогенной интоксикации организма. Наиболее чувствительными оказались крысы неполовозрелого возраста, что подтверждается более выраженными изменениями в исследуемых тканях.

**Ключевые слова:** нитрит натрия, крысы, метгемоглобин, нитрит-ион, эндогенная интоксикация.

UDC: 616-008+591.434:615.9]-001.5

P. G. Lyhatskiy, L. S. Fira, I. I. Gerasymets, V. P. Puda, N. I. Rusnak

I. Ya. Horbachevsky Ternopil state medical university

#### METHABOLIC ABNORMALITIES IN THE ORGANISM OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF SODIUM NITRITE DAMAGE

Damage of rats by Sodium nitrite in the dose 45 mg/kg causes an increase in the blood content of MetHb, nitrite ions in all organs of animals and deepening of the endogenous intoxication. The most sensitive immature age rats appeared to be, which is confirmed by the more pronounced changes in the studied tissues.

**Key words:** sodium nitrite, rats, methemoglobin, nitrite-ion, endogenous

Адреса для листування:

46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1  
Тернопільський державний медичний університет  
тел.: 0352-52-44-92

Надійшла до редакції:

25.06.2013 р.