

CHEMISTRY

Рівень нітратів в екосистемі Прикарпаття та вплив нітратної інтоксикації на макро- та мікроелементи у тканинах печінки, нирок та кісток білих щурів

Л. Я. Нечитайло, І. С. Базалицька, Н. С. Хопта, І. Д. Сиротинська, А. М. Ерстенюк

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна

*Corresponding autor. E-mail: nechytailo7@mail.ru

Paper received ; Accepted for publication .

Анотація. Проведено порівняльний аналіз сезонного рівня нітратів у воді джерел різних географічних зон Прикарпаття та досліджено вплив нітратної інтоксикації на біоеlementний склад організму тварин. Встановлено суттєві відмінності рівня нітратів у воді залежно від сезону та регіону. Результати дослідження показали, що нітратна інтоксикація викликає розвиток дисмікроелементозу, який супроводжується порушенням рівня макро- і мікроелементів в нирках, печінці і стегнових кістках тварин та зміни біохімічних показників плазми крові.

Ключові слова: питна вода, нітрати, біоеlementи, кісткова тканина, печінка, нирки.

Вступ. Одним із проявів антропогенного впливу на екосистему є присутність у питній воді нітратів, які впливають на екологічний потенціал регіону, а в подальшому і на стан здоров'я населення. Накопиченню нітратів у природних водах сприяє комплекс природно-кліматичних факторів, які притаманні території Прикарпаття – добрі фільтраційні та аераційні властивості ґрунту, достатньо висока температура, чергування періодів мінімального і максимального зволоження ґрунту, невелика глибина залягання ґрунтових вод, інтенсивна експлуатація водоносних горизонтів. Забруднення джерел водопостачання призводить до того, що значна кількість населення споживає воду з підвищеним рівнем нітратів [1, 2]. Відповідно до вимог глобальної системи моніторингу стану довкілля (ГСМОС/GEMS) нітрит- і нітрат-йони входять до програм обов'язкових спостережень за складом питної води.

Ряд науковців [1 – 3] досліджували вміст нітратів у водоймах рівнинної зони Прикарпаття. Однак, аналіз літературних даних не дав змогу оцінити територіальну динаміку змін рівня нітратів, зокрема, в передгірській та гірській зоні регіону, що має важливе значення для об'єктивної оцінки стану питної води. У зв'язку із цим, доцільно було дослідити сезонний рівень нітратів у водоймах, що використовуються для питних цілей. Нітрати характеризуються широким спектром токсичної дії в живому організмі: швидко всмоктуються в шлунково-кишковому тракті, частина їх у незамінному вигляді виводиться з сечею, а інша – метаболізує до нітритів та інших сполук, в тому числі і канцерогенних N-нітрозамінів у шлунку [4]. У науковій літературі представлені дані стосовно їх впливу на енергетичний обмін та окисно-відновні процеси в організмі, розвиток токсичного гепатозу, гемічної гіпоксії та утворення метгемоглобіну [5 – 7]. Однак, маловивченим залишається вплив нітратної інтоксикації на хімічний склад живих організмів.

Мета – дослідити особливості сезонного перерозподілу рівня нітратів у питній воді передгірської і гірської зон регіону та з'ясувати вплив нітратної інтоксикації на біоеlementний склад печінки, нирок та стегнових кісток щурів, показники фосфорно-

кальцієвого обміну, активність фосфатаз та концентрацію гідроксипроліну у плазмі крові тварин.

Матеріали і методи. Об'єкт досліджень – джерела водопостачання різних географічних зон Прикарпаття: передгірська – Коломийський, Богородчанський райони, гірська – Верховинський. Забір проб води здійснювали за сезонами (літо, осінь, весна) згідно ГОСТів 24481-80 та 23268.9-78. У відібраних взірцях води потенціометричним методом з використанням йонселективного електроду визначали концентрацію нітрат-йонів.

Нітратну інтоксикацію моделювали на білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Піддослідних тварин було поділено на дві групи: I – контрольна (інтактні, n=10) та II – дослідна (n=26), тваринам вводили натрію нітрат в дозі 1/10 LD₅₀ з питною водою протягом 10 діб. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 1-шу, 14-ту та 28-му доби після завершення введення токсиканту. Досліджували кров, печінку, нирки та стегнові кістки тварин. У роботі з тваринами керувалися принципами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в наукових цілях» (Страсбург, 1986) та закону України №3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Дослідження проводились на базі Центру біоеlementології ІФНМУ (Свідоцтво про атестацію № 037/14). Концентрацію біоеlementів у біологічному матеріалі визначали методом атомно-абсорбційної спектrophотометрії на спектrophотометрі С-115ПК, показники крові – за стандартизованими методиками з використанням наборів реактивів (активність лужної фосфатази (ЛФ 3.1.3.1) – “Філісіт”, концентрацію Кальцію та фосфатів – “Simko”; Магнію – “Lachema” (Чехія); активність кислої фосфатази (КФ 3.1.3.2) – “Вітал” (Росія); концентрацію гідроксипроліну визначали окисненням його H₂O₂ до піролу в лужному розчині за наявності Cu²⁺ (О. Я. Склярів, 2002).

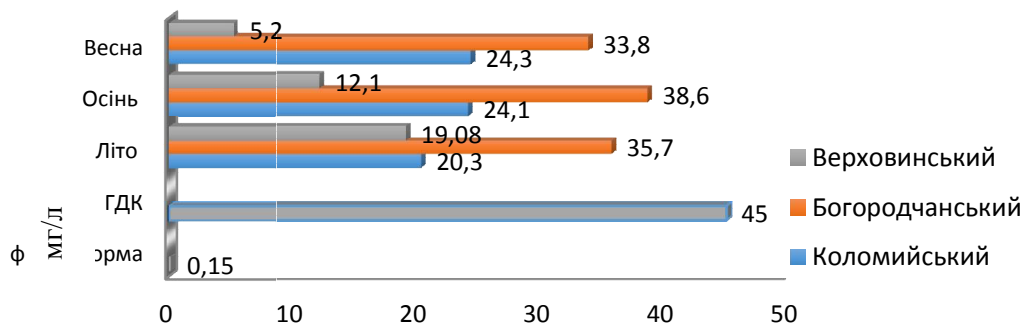
Отримані результати статистично оброблялися із застосуванням пакету програм «STATISTICA». Використовувалися стандартні показники варіаційної

статистики, такі як середнє значення (M), стандартне відхилення середнього значення (m). Для визначення достовірності відмінностей використовували коефіцієнт Стьюдента. Достовірними вважалися дані при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

У даній роботі наведено результати спостережень за рівнем нітратів у питній воді передгірської та

гірської зон Прикарпаття. Нами встановлено наступну закономірність зміни рівня нітратів у передгірській зоні: влітку цей показник коливався в межах 20,3-35,7 мг/л, восени – 24,1-38,6 мг/л, навесні зафіксовано найвищий рівень 24,3-39,1 мг/л. Стосовно нітратів у гірській зоні (мал. 1), то слід відмітити значне збільшення їх вмісту влітку та восени, весною спостерігалось зменшення рівня нітратів до 5,2 мг/л.



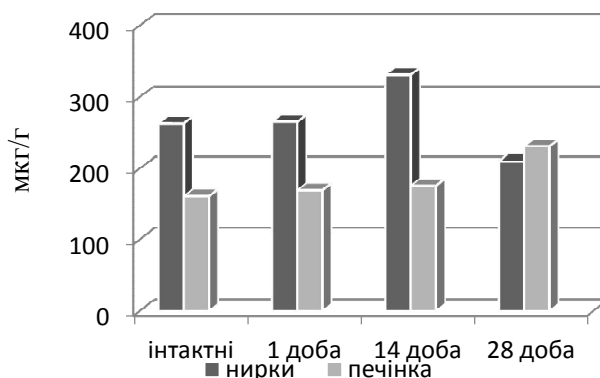
Мал. 1. Сезонна динаміка змін рівня нітратів у питній воді передгірської та гірської зон

Отже, результати дослідження вказують на те, що в передгірській зоні зростання концентрації нітратів спостерігалось більшою мірою у весняний період порівняно з літнім і осіннім. У гірському районі цей показник влітку був вищий, ніж у весняно-осінній період. Зростання рівня нітратів у водоймах Прикарпатського регіону може бути зумовлено надмірним використанням мінеральних добрив, а також забрудненням водойм рідкими відходами тваринницьких комплексів і господарсько-побутовими стічними водами [1, 2]. Незважаючи на те, що отримані показники вмісту нітратів у питній воді були нижчі гранично допустимої концентрації, слід акцентувати увагу на зростанні їх рівня вище фізіологічної норми у передгірській зоні в 135-260 разів та гірській – у 35-127 разів, оскільки саме підвищення відносно норм має істотний вплив на живі організми. Надмірне накопичення нітратів у питній воді призводить до порушення оптимальних співвідношень мікроелементного складу води передгірської та гірської зони регіону. За результатами власних досліджень хімічного складу водних об'єктів Прикарпатського регіону було встановлено [6] порушення вмісту мікроелементного складу водойм,

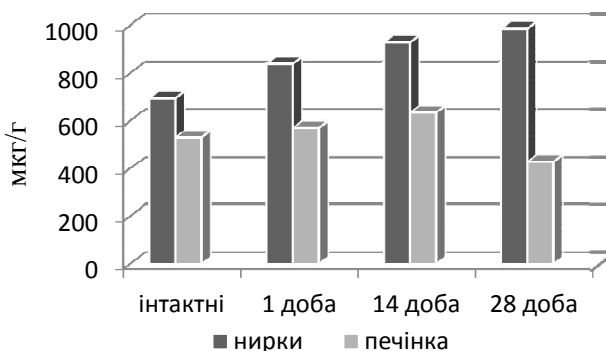
зокрема, зниження рівня таких життєво важливих біоелементів, як Купрум (Cu), Цинк (Zn), Хром (Cr) та Ферум (Fe).

Отримані дані послужили підґрунтям до вивчення впливу нітратної інтоксикації на біоелементний склад організму лабораторних тварин. Результати проведених нами досліджень вказують на порушення рівня Cu та Zn в тканинах печінки та нирок шурів, уражених натрію нітратом. Зокрема, в нирковій тканині тварин, які зазнали нітратної інтоксикації, найбільш істотні зміни вмісту Cu спостерігались на 1-шу і 14-ту добу (зростання в 1,2 рази). Стосовно вмісту Cu у печінці, то слід відмітити, що рівень цього мікроелементу зростав найбільше на 14-ту і 28-му доби – у 1,2-1,5 рази вище показників інтактних тварин (мал. 2).

Рівень Znu печінці та нирковій тканині був вищим відносно контрольних значень протягом всього експерименту. Зокрема, на 28-му добу перевищував у 1,4 рази показники контрольної групи тварин (мал. 3). У печінці вміст Zn збільшувався на 14-ту добу – в 1,2 рази, проте на 28-му був нижчим за значення інтактних тварин.



Мал. 2. Вміст міді в тканинах нирок та печінки шурів.



Мал. 3. Вміст цинку в тканинах нирок та печінки щурів.

У тварин з нітратним ураженням виявлено порушення біоелементного складу кісткової тканини (табл. 1): рівень Са достовірно знижувався на 27% уже на 1-шу добу і до кінця експерименту був нижчим за контрольні показники на 14%. Вміст Mg

зростав на 26% на 1-у добу спостереження, а потім знижувався до контрольних показників. Рівень Zn і Cu був нижчим за показники інтактних тварин протягом усього періоду спостереження, зокрема, Zn – на 20-24%, а Cu на 28-у добу – у 5,3 рази.

Таблиця 1. Елементний склад золи стегнових кісток щурів дослідних груп (M ± m)

Елемент	Групи тварин			
	I – інтактні (n=10)	II (уражені NaNO ₃)		
		1-ша доба (n=9)	1-ша доба (n=9)	1-ша доба (n=9)
Са, мг/г золи	330,9±6,2	241,9±2,3**	283,2±1,3**	284,3±1,3**
Mg, мг/г золи	38,1±1,4	48,1±1,6*	42,0±1,6*	37,3± 1,1
Zn, мкг/г золи	458,6±37,2	364,3±12,1**	350,5±24,3*	411,9±23,3*
Cu, мкг/г золи	17,9±0,9	10,7±1,3**	8,7 ±0,6**	3,4±0,7**

Примітка. Тут і табл. 2. * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 – ступінь вірогідних змін порівняно з показниками інтактної групи тварин.

Одержані результати за умов експериментальної нітратної інтоксикації свідчать про порушення не тільки в окремих органах і тканинах, але й загалом в організмі тварин, на що вказують показники плазми крові (табл. 2). Найбільш істотних змін зазнавала концентрація Кальцію, зокрема, на 28-му добу знижувалась на 17 % нижче контрольних значень. Як відомо, рівень цього важливого макроелементу

є однією із строго контрольованих констант гомеостазу. На 1-шу добу після завершення введення токсиканту спостерігалось достовірне зростання рівня фосфатів – на 82% відносно інтактних тварин. На 14-у добу концентрація фосфатів достовірно не відрізнялась від контрольних значень, а наприкінці експерименту знову підвищувалась на 20 %.

Таблиця 2. Біохімічні показники плазми крові щурів дослідних груп (M ± m)

Досліджувані показники	Групи тварин			
	I – інтактні (n=10)	II (уражені NaNO ₃)		
		1-ша доба (n=9)	14-та доба (n=9)	28-ма доба (n=8)
Кальцій, ммоль/л	2,34±0,08	2,43±0,14	2,11±0,09*	1,93±0,08*
Фосфати, ммоль/л	1,33±0,05	2,42±0,23**	1,29±0,09*	1,60±0,04*
Активність ЛФ, мкмоль/с·л	15,07±0,08	11,61 ±1,94*	9,26 ± 0,74*	5,90±0,56**
Активність КФ, мкмоль/с·л	0,93±0,23	0,97 ± 0,17	1,79 ±0,10**	0,46 ±0,05**
ЛФ/КФ	16,20±0,35	11,92 ±1,12*	5,18 ±0,72***	13,11±1,13*
Гідроксипролін, ммоль/л	28,31±2,79	26,67±1,01	32,11±3,64*	22,31±1,57*

Активність ЛФ достовірно знижувалась протягом усього періоду спостереження порівняно з інтактними тваринами, найбільш істотно на 28-му добу – у 2,6 рази. Одночасно концентрація активатора ензиму – Mg²⁺ знижувалася на 45-55%, що частково може пояснити зменшення активності ЛФ. Зміни активності КФ були різноспрямованими: на 1-шу добу активність ензиму достовірно не відрізнялася від показників

інтактних, на 14-ту – різко підвищувалась (у 1,92 рази), на 28-му – була на 51 % нижчою за відповідний контрольний показник. Збалансованість процесів остеосинтезу і резорбції лежать в основі ремоделювання кісткової тканини та нормального перебігу метаболічних процесів у ній. Відображенням гармонії цих процесів може бути відношення активностей ЛФ/КФ [8, 9]. Цей індекс достовірно знижувався

протягом усього періоду спостереження, найнижчі значення фіксувались на 14-у добу. На тлі таких змін встановлено порушення обміну в органічній матриці кістки, що підтверджується зростанням на 14-ту добу концентрації в плазмі крові гідроксіпроліну – маркерної амінокислоти катаболізму колагену.

Такі дані дають підстави стверджувати, що за умов нітратної інтоксикації найістотніші порушення мінерального та органічного матриксу кісткової тканини тварин спостерігаються на 14-ту добу.

Висновки:

1. Питна вода передгірських і гірських районів Прикарпаття характеризується високим вмістом

нітратів, рівень яких найвищий у весняний період в передгірському регіоні.

2. Проведені нами дослідження показують, що в організмі експериментальних тварин за умов нітратної інтоксикації спостерігається розвиток дисмікроелементозу, який супроводжується порушенням рівня есенціальних мікроелементів (Cu та Zn) в нирках та печінці, що має важливе значення для регуляції обмінних процесів.

3. Порушення біоелементного складу стегових кісток та біохімічних показників плазми крові тварин за умов нітратної інтоксикації засвідчує метаболічні зміни у кістковій тканинці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Трахтенберг І. М. Біологічні наслідки забруднення навколишнього середовища нітратами та нітратами / І. М. Трахтенберг, В. В. Бабієнко // Інтегративна антропологія. – 2013. – № 1. – С. 37-39.
2. Котій К. В. Якість питної води з різних джерел водопостачання / К. В. Котій, Б. В. Зюман // Нові технології. – 2013. – № 1-2. – С. 110-113.
3. Приходько М. М., Приходько Н. Ф., Пісоцький В. П. Наукові основи басейнового управління природними ресурсами. Монографія. За ред. М. М. Приходька. – Івано-Франківськ, 2006. – 270с.
4. Бондаренко Ю. Г. Медико-екологічна проблема сумарного надходження нітратів в організм людини з питною водою та харчовими продуктами та шляхи її вирішення / Ю. Г. Бондаренко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – № 1. – С. 82-86.
5. Федоренко В. І. Гігієнічні та медико-біологічні аспекти безсимптомної метгемоблоїї у дітей / В. І. Федоренко, Л. М. Кіцула // Довкілля та здоров'я. – 2014. – № 1 (68). – С. 10-14.
6. Нечитайло Л. Я., Ерстенюк Г. М. Порівняльний аналіз хімічного складу води рівнинної зони Прикарпаття // Вісник національного університету «Львівська Політехніка». Серія: хімія. – 2011. – № 700. – С. 282-287.
7. Должкова К. П. Вплив пригнічення та індукції NO-синтази на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію / К. П. Должкова, В. О. Костенко // Проблеми екології та медицини. – 2010. – Т. 14, № 1-2. – С. 35-38.
8. Хопта Н. С. Стан кісткової тканини щурів за умов надходження нітритів та корекція порушень екстрактом артишоку / Н. С. Хопта // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 124-131.
9. Afzal F. Endotelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity / F. Afzal, J. Polak, L. Buttery // J. Pathol. – 2009. – V. 202, N 4. – P. 503-510.

REFERENCES

1. Trachtenberg I. M. Biological effects of environmental pollution with nitrates and nitrites. / I. M. Trachtenberg, V. V. Babiyeko // Integrative antropohiia. – 2013. – N 1. – С. 37-39.
2. Kochiy K.V. The quality of drinking water from various water sources. / K. V. Kochie, B. V. Zyuman // New Technologies. – 2013. – N 1-2. – S. 110-113.
3. Prykhodko N. N., Prykhodko N. F., Pisotsky V. P. Scientific basis of basin management of natural resources. The book, edited by M. Prykhodko. – Ivano-Frankivsk, 2006. – 270 p.
4. Bondarenko Y. G. Medical - environmental problem of total nitrogen supply the body with drinking water and food and ways to solve it / J. G. Bondarenko // Actual problems of transport medicine. – 2011. – N 1. – P. 82-86.
5. Fedorenko V. I. Hygiene and medical-biological aspects metgemohlobiyi asymptomatic in children. / V. I. Fedorenko, L. M. Kitsula. // Environment and Health. – 2014. – N 1 (68). – P. 10-14.
6. Nechitaylo L. Y, G. M. Erstenyuk Comparative analysis of the chemical composition of water plain area Carpathians. // Journal of National University "Lviv Polytechnic". Chemistry Series. – 2011. – N 700. – P. 282-287.
7. Dolzhkova K. P. Effect of inhibition and induction of NO-synthase on the biochemical composition of the bone of the lower jaw fracture when playing it on the background of chronic intoxication with sodium nitrate / P. K. Dolzhkova, V. Kostenko // Problems of Ecology and Medicine. – 2010. – Vol. 14, N 1-2. – P. 35-38.
8. Khopta N. S. State of rat bone tissue at condition of nitrite intoxication and correction of violation by artichoke extract / The Animal Biology. – 2015. – Vol. 17, N 3. – P. 124-131.
9. Afzal F. Endotelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity / F. Afzal, J. Polak, L. Buttery // J. Pathol. – 2009. – Vol. 202, N 4. – P. 503-510.

The level of nitrates in ecosysteme Precarpathian regions and their intoxication effects about essential elements concentration in tissues, liver, kidney and bones of white rats

L. Y. Nechitaylo, I. S. Bazalytska, N. S. Khopta, I. D. Syrotynska, A. M. Ersteniuk

Abstract. Comparative analysis of seasonal levels of nitrates in water sources of different geographical zones of Precarpathian region is carried out. We investigated the influence of nitrate toxicity in essential elemental composition of animals. In our investigation we came a conclusion that there is significant difference in the level of nitrates in water simple collected from different regions in different seasons. The results of investigation also showed us that the nitrate intoxication causes the development of dismicroelementosis, accompanied by violation of the standard levels of essential elements in the kidney, liver and femur of animals with the changes in biochemical parameters of blood plasma.

Keywords: drinking water, nitrate, essential elements, bone tissue, liver, kidney.

Уровень нитратов в экосистеме Прикарпатья и влияние нитратной интоксикации на макро- и микроэлементы в тканях печени, почек и костей белых крыс

Л. Я. Нечитайло, И. С. Базалицкая, Н. С. Хопта, И. Д. Сиротинська, А. М. Эрстениук

Аннотация. Проведен сравнительный анализ сезонного уровня нитратов в воде источников различных географических зон Прикарпатья и исследовано влияние нитратной интоксикации на биоэлементный состав организма животных. Установлены существенные различия уровня нитратов в воде в зависимости от сезона и региона. Результаты исследования показали, что нитратная интоксикация вызывает развитие дисмикроэлементоза, который сопровождается дисбалансом макро- и микроэлементов в почках, печени и бедренных костях, а также изменениями биохимических показателей плазмы крови.

Ключевые слова: питьевая вода, нитраты, биоэлементы, костная ткань, печень, почки.