

Макутина В.А.

Влияние иммобилизационного стресса на некоторые токсикокинетические параметры металлов (кадмия, алюминия) у самцов лабораторных крыс

ФБУН "Екатеринбургский медицинский –научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий" Роспотребнадзора, г. Екатеринбург

Makutina V.A.

Effect of immobilization stress on some toxicokinetics parameters of metals (cadmium, aluminium) in males of laboratory rats

Резюме

Проведена оценка влияния стресса на кинетику кадмия и алюминия в эксперименте на самцах лабораторных крыс. Установлено, что иммобилизационный стресс приводит к статистически значимому увеличению концентрации металлов в семенниках, головном мозге и крови самцов крыс после внутрибрюшинного введения хлорида кадмия или нитрата алюминия в дозах, соответствующих 1/10 LD50 дважды в неделю в течение сперматогенного цикла (54 дня).

Ключевые слова: стресс, токсикокинетика, кадмий, алюминий

Summary

The aim of this study was to evaluate the effects of stress on the kinetic of cadmium and aluminum on the male of laboratory rats. It is established that a short-term immobilization stress leads to a statistically significant increase in the concentration of both metals in testes, brain and blood of male rats after intraperitoneal administration of cadmium chloride or aluminum nitrate at doses corresponding to 1/10 LD50 twice a week during spermatogenic cycle (54 days).

Keywords: stress, cadmium, aluminum, toxicokinetics

Введение

Анализ сочетанного действия химических токсических агентов и нехимических стрессоров является актуальной задачей токсикологии [1]. В настоящее время накоплено значительное количество сведений литературы об изолированном влиянии соединений кадмия, алюминия и различных вариантов стресса на мужскую репродуктивную функцию [2].

Известно, что кадмий является классическим токсическим агентом для органов репродукции, реализующим свое действие непосредственно на гонады, повреждая гематотестикулярный барьер и сперматогенез, и опосредовано, через изменение нейроэндокринной регуляции процессов гамето- и стероидогенеза [3, 4]. Данные об избирательной гонадотоксичности соединений алюминия противоречивы и встречаются преимущественно в экспериментальных работах при введении больших доз металла в виде растворимых соединений [5,6]. Стресс также относится к числу факторов, влияющих на мужскую репродуктивную функцию, преимущественно за счет изменения нейроэндокринной и гормональной регуляции функции гонад [7,8].

В доступной токсикологической литературе не обнаружено сведений об эффектах сочетанного действия стресса и металлов, в частности, на мужскую репродуктивную функцию. На первом этапе наибольший интерес представляло проведение экспериментальных исследований о возможном влиянии стресса на токсикокинетические параметры кадмия и алюминия, в том числе, на изменение проницаемости специализированных гистогематических барьеров: гематотестикулярного (ГТБ) и гематоэнцефалического (ГЭБ).

Материалы и методы

Исследования проведены на половозрелых самцах крыс (82 особи) линии Вистар (питомник «Рапполово»), в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» [9]. Содержание и использование животных соответствовало стандартным условиям вивария со свободным доступом к воде и пище. Все исследования были синхронизированы по времени суток. Выделены шесть групп животных (равномерно с учетом массы тела): 1-я группа - самцы, подвергавшиеся стрессу методом кратковременной иммобили-

зации (в течение 30 минут) два раза в неделю; 2-я группа – животные, получающие кадмий в виде внутривенных инъекций хлорида кадмия ($0,3 \text{ мг Cd}^{2+}$ на кг массы тела) два раза в неделю; 3-я – животные, подвергавшиеся сочетанному действию кадмия в тех же дозировках и иммобилизационного стресса; 4-я – крысы, получающие алюминий в виде внутривенных инъекций нитрата алюминия ($3,8 \text{ мг Al}^{3+}$ на кг массы тела) два раза в неделю; 5-я – животные, подвергавшиеся сочетанному действию алюминия в тех же дозах и стресса; 6-я – контрольная группа. Дозы соединений металлов для внутривенного введения соответствовали $1/10 \text{ LD}_{50}$, входили в диапазон "минимально действующих" по параметрам общей токсичности [10, 11]. По окончании сперматогенного цикла (54 дня) часть животных каждой группы была умерщвлена передозировкой анестетика. Образцы семенников, головного мозга и цельной крови использовали для определения концентрации металлов на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA 665 «Shimadzu».

Математическую и статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного пакета «Statistica 6.0» с использованием непараметрического U-критерия Уилкоксона-Манна-Уитни [12, 13].

Результаты и обсуждение

Полученные результаты исследований по оценке содержания кадмия и алюминия в семенниках, головном мозге и в цельной крови представлены в таблице 1 и таблице 2 соответственно. Анализ полученных данных свидетельствует, что общий характер распределения изученных металлов в семенниках, мозге и крови самцов крыс (при сопоставимых уровнях и видах затравки) соответ-

ствует данным литературы [10, 11]. Так, при изолированном поступлении кадмия и алюминия регистрируется следующее увеличение концентраций в исследуемых органах и тканях: головной мозг > семенники > кровь в соотношениях 1: 0,1: 0,02 и 1: 0,05: 0,02 соответственно. Кинетические показатели стабильности гистогематических барьеров (соотношение концентраций вещества в цельной крови и в исследуемых органах) составили при введении кадмия для ГЭБ ~ $17,6 \times 10^{-3}$, ГТБ ~ $195,6 \times 10^{-3}$, при поступлении алюминия данное соотношение составило для ГЭБ ~ $16,4 \times 10^{-3}$, ГТБ ~ $318,6 \times 10^{-3}$. Анализ стандартизованных величин накопления металлов (доли от введенной дозы на грамм массы органа и общую массу животного) показал практически одинаковые величины в семенниках самцов при воздействии обоих металлов (таблицы 1 и 2), при значительном возрастании доли содержания алюминия в головном мозге и крови по сравнению с кадмием.

Проведение затравки в сочетании с иммобилизационным стрессом в условиях данного эксперимента принципиально не изменило общего характера накопления кадмия и алюминия в изученных органах и крови. Вместе с тем на фоне стресса зарегистрировано статистически значимое увеличение содержания металлов во всех изучавшихся органах. Так, дополнительное накопление алюминия у стрессированных животных в семенниках, головном мозге и крови достигало 40, 54, 30%; кадмия - 37, 22 и 66% соответственно (таблица 1, таблица 2).

Выводы

Таким образом, согласно полученным данным, на фоне стресса у самцов лабораторных крыс зарегистрировано статистически значимое увеличение накопления

Таблица 1. Уровни накопления кадмия (Cd^{2+}) в семенниках, головном мозге и в крови самцов крыс в условиях эксперимента

Показатель/ группа, воздействие	Контроль	Стресс	Кадмий	Кадмий+стресс
Семенник:				
Концентрация Cd (мкг/гр)	н.о.	н.о.	$0,184 \pm 0,016$	$0,220 \pm 0,030^*$
% от введенной дозы Cd на грамм массы органа	н.о.	н.о.	$3,147 \pm 0,168$	$3,756 \pm 0,113^*$
% от введенной дозы Cd на массу тела животного	н.о.	н.о.	$0,031 \pm 0,002$	$0,038 \pm 0,005^*$
Головной мозг:				
Концентрация Cd (мкг/гр)	н.о.	н.о.	$2,047 \pm 0,136$	$2,802 \pm 0,248^*$
% от введенной дозы Cd на грамм массы органа	н.о.	н.о.	$34,995 \pm 2,328$	$47,902 \pm 5,955^*$
% от введенной дозы Cd на массу тела животного	н.о.	н.о.	$0,350 \pm 0,023$	$0,479 \pm 0,059^*$
Цельная кровь:				
Концентрация Cd (мкг/гр)	н.о.	н.о.	$0,036 \pm 0,013$	$0,059 \pm 0,002^*$
% от введенной дозы Cd на грамм массы ткани	н.о.	н.о.	$0,608 \pm 0,137$	$1,010 \pm 0,051^*$
% от введенной дозы Cd на массу тела животного	н.о.	н.о.	$0,006 \pm 0,002$	$0,010 \pm 0,001^*$

Примечание: н.о. – ниже порога определения вещества на приборе. Символом (*) обозначены статистически значимые различия по критерию Уилкоксона-Манна-Уитни ($p < 0,001$) между группами животных при воздействии только кадмия и воздействии кадмия в сочетании с иммобилизационным стрессом.

Таблица 2. Уровни накопления алюминия (Al³⁺) в семенниках, головном мозге и в крови самцов крыс в условиях эксперимента

Показатель группа, воздействие	Контроль	Стресс	Алюминий	Алюминий +стресс
Семенник: Концентрация Al (мкг/гр)	Следы	Следы	2,997± 0,476	4,622± 0,428*
% от введенной дозы Al на грамм массы органа	н.о.	н.о.	3,755± 0,597	5,792± 0,573*
% от введенной дозы Al на массу тела животного	н.о.	н.о.	0,037± 0,006	0,058± 0,005*
Головной мозг: Концентрация Al (мкг/гр)	н.о.	н.о.	58,222± 4,074	81,493± 7,059*
% от введенной дозы Al на грамм массы органа	н.о.	н.о.	72,960± 5,107	102,121± 9,974*
% от введенной дозы Al на массу тела животного	н.о.	н.о.	9,952± 0,696	13,930± 1,360*
Цельная кровь: Концентрация Al (мкг/гр)	Следы	Следы	0,955± 0,104	1,238± 0,475*
% от введенной дозы Al на грамм массы ткани	н.о.	н.о.	1,196± 0,131	1,744± 0,151*
% от введенной дозы Al на массу тела животного	н.о.	н.о.	0,012± 0,001	0,017± 0,001*

Примечание: н.о. – ниже порога определения вещества на приборе. Символом (*) обозначены статистически значимые различия по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни ($p < 0.001$) между группами животных при воздействии только алюминия и воздействии алюминия в сочетании с иммобилизационным стрессом.

токсических металлов – кадмия и алюминия в семенниках, головном мозге и цельной крови, что может свидетельствовать об усилении эффектов. В связи с тем, что ГТБ и ГЭБ являются специализированными гистогематическими барьерами организма, изменение их проницаемости для токсических соединений под влиянием стресса может вызвать сдвиги зависимости доза-эффект, клеточные повреждения в органах, в том числе репродуктивных, отдаленные последствия для потомства и т.д.

Очевидно, что исследования в этой области необходимы для понимания механизмов того, каким образом

нехимический стресс оказывает влияние на кумуляцию токсичных веществ, а также для определения наиболее информативных маркеров таких воздействий, что может оказаться полезным при оценке рисков. ■

Макутина В.А., отдел медицины труда, ФБУН "Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий" Роспотребнадзора, г. Екатеринбург; Адрес для переписки - 620073, г. Екатеринбург, ул. Сыромятова 14-226, тел. 89122519002, E-mail: makutina_v@rambler.ru

Литература:

- Environmental Health Criteria 225. Principles for evaluating health risks to reproduction associated with exposure to chemicals. Geneva: WHO, 2001:145.
- Никитин А.И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека. Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПБ, 2005:215.
- Environmental Health Criteria 134. Cadmium. Geneva: WHO, 1992:112.
- Hays S.M., Nordberg M., Yager W. Biomonitoring equivalents (BE) dossier for cadmium (Cd). Regulatory toxicology and pharmacology. 2008; 51: 549 - 556.
- Krewski D., Yokel R., Niebor E. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. Journal environmental health. 2007, 10 (Supplement 1): 1-269.
- Aluminum Compounds Review of toxicological literature. National institute of environmental health science. Research Triangle Park, North Carolina, 2000: 84.
- Sheiner E.K., Sheiner E., Hammel R. Effect of occupational exposures on male fertility: literature review. Industrial Health. 2003; 41:55-62.
- Sheiner E.K., Sheiner E., Carel R. The potential association between male infertility and occupational psychological stress. Journal occupational and environmental medicine. 2002, 44: 1093-1099.
- Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Ланималогия. 1993;1: 29.
- Draft toxicological profile for aluminum. U.S. department of health and human services. Division of toxicology and environmental medicine. 2006: 303.
- NIOSH criteria for a recommended standard occupational exposure to cadmium. U.S. department of health, education, and welfare. National institute for occupational safety and health. 1976:86.
- Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л., 1973: 120.
- Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. М.: Физматлит, 2006: 816.