

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что кобальт и вольфрам обладают эмбриотоксическим и мутагенным действием, а кобальт и гонадотоксическим эффектом. Комбинированное действие этих веществ приводит к ослаблению отдаленных последствий их неблагоприятного влияния на организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каплун З.С. Токсикология редких металлов // М., 1963. - С. 164 – 176.
2. Надеенко В.Г., Ленченко В.Г. // Гиг. и сан. - 1977. - № 7. - С. 30 – 34.
3. Ревнова Н.В. Профессиональная патология при воздействии металлов // М., 1981. - С. 34 – 41.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЛУТАМИНАТА НАТРИЯ И САПАРАЛА НА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЧАСТИЦ МАЛОРАСТВОРИМЫХ СОЕДИНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Т.Д. Дегтярева, Л.И. Привалова, Б.А. Кацнельсон, О.Ю. Береснева,
С.А. Денисенко, Г.Ш. Бухарова

ЕМНЦ профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий

Основной формой, в которой токсичные металлы воздействуют на организм в условиях горнорудного и металлургического производства, являются аэрозоли малорастворимых химических соединений (главным образом, оксидов и сульфидов). Для детей, проживающих вблизи этих производств или транспортных магистралей, аналогичное значение имеет попадание в организм как аэрозолей тех же соединений, загрязняющих атмосферу, так и загрязненных токсичными металлами почвенно-пылевых частиц.

Естественная защита организма от воздействия любых малорастворимых частиц, прежде всего, связана с механизмами их элиминации из дыхательных путей, в которых важную роль играет альвеолярный фагоцитоз и которые нарушаются при цитотоксическом повреждении альвеолярных макрофагов [2]. Накопление в легочной ткани металлосодержащих частиц создает депо, постоянное растворение которого поддерживает поступление токсичных металлов в кровь и вне периодов экспозиции. Поэтому представляется целесообразным поиск средств биологической профилактики, которые способны повышать не только устойчивость организма в целом к резорбтивной токсичности металлов, но и устойчивость макрофага к цитотоксичности частиц малорастворимых соединений этих металлов.

В задачу данной работы входила оценка возможности цитопротекторного действия глутамината натрия или растительного адаптогена сапарала в условиях повреждения макрофагов частицами малорастворимых соединений свинца, хрома, мышьяка, марганца и фтора. Как было показано ранее, оба этих биопротектора в той или иной мере обладают способ-

ностью повышать общую защитную реактивность организма к токсическому действию перечисленных элементов [3].

Для оценки цитопротекторного действия глутамината натрия и сапарала проведены две серии экспериментов. В первой из них в опытах *in vivo* изучали цитопротекторное (антицитотоксическое) действие препаратов против повреждающего действия следующих малорастворимых соединений токсичных металлов: свинца оксид, кальция фторид, тетрамышьяка тетрасульфид, железа-ортоарсенат дигидрат, кальция ортоарсенат тригидрат, бария хромат, марганца оксид. Для этого использовали культуру крысиных перитонеальных макрофагов, которые инкубировались в течение 30 – 50 минут при 37 °С в трис-НСI-буфере (рН 7,4) с суспензиями пылей. Воздействие глутамината в концентрации $3,4 \times 10^{-3}$ М или сапарала в концентрации 10^{-6} г/мл осуществлялось путем 60-минутной преинкубации перитонеальных макрофагов с биопротектором. Показателем цитотоксического эффекта являлась потеря макрофагами жизнеспособности по включению красителя трипановый синий [1].

Во второй серии в опытах *in vivo* лабораторным крысам ежедневно в течение 5 – 6 недель давалась в питье глутаминовая кислота, нейтрализованная бикарбонатом натрия (1,5 % раствор по глутаминовой кислоте). Затем проводили оценку цито- и пульмонотоксического действия частиц по сдвигу клеточного состава жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) у крыс через 24 часа после интратрахеального введения взвеси, содержащей 10 мг соответствующего соединения в 1 мл стерильного физраствора [1]. Наиболее информативным показателем в данном тесте является число нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) в БАЛ и его отношение к числу альвеолярных макрофагов (АМ) [2].

В таблице 1 приводятся обобщенные результаты опытов по исследованию эффективности преинкубации перитонеальных макрофагов с глутаминатом натрия при последующей инкубации этих же макрофагов с изучаемыми частицами. Как видно из представленных данных, все изученные малорастворимые соединения в той или иной степени являются цитотоксичными для макрофагов, и процент жизнеспособных клеток в культуре, инкубируемой с частицами, в сравнении с контрольной культурой снижается статистически значимо. Судя по этому критерию, наиболее цитотоксичен оксид свинца.

Как видно из той же таблицы 1, преинкубация крысиных перитонеальных макрофагов в среде, содержащей глутаминат натрия, с последующей инкубацией этих же макрофагов с цитотоксичными суспензиями, дала статистически значимое увеличение процента жизнеспособных клеток по отношению к наблюдаемому при действии оксида свинца, фторида кальция и ортоарсената кальция без такой преинкубации. В экспериментах с тетрасульфидом мышьяка и арсениопиритом цитопротекторный эффект проявлялся лишь на уровне тенденции.

Таблица 1

Влияние преинкубации крысиных перитонеальных макрофагов с глутаминатом натрия ($3,4 \times 10^{-3}$ М) на их резистентность к цитотоксическому действию частиц малорастворимых соединений

Воздействие	Концентрация частиц мг/мл	% жизнеспособных клеток в культуре ($\bar{x} \pm s_x$)		
		Контроль	Частицы	Глутаминат + частицы
PbO	8	91,4±0,70	41,5±2,60*	51,4±2,10**
CaF ₂	10	88,6±1,05	51,5±2,05*	58,4±1,91**
As ₄ S ₄	8	87,0±0,88	59,5±2,33*	64,3±2,15*
FeAsO ₄ ·2H ₂ O	8	86,8±1,22	71,8±2,45*	74,2±2,90*
Ca ₃ (AsO ₄) ₂ ·3H ₂ O	8	79,8±1,65	69,3±2,13*	77,3±2,02*
Глутаминат натрия	—	88,5±1,43	—	—

Примечание: в данной и последующих таблицах "*" – отличие статистически значимо от группы "контроль"; "**" – отличие статистически значимо от группы "частицы" (P<0,05)

Как видно из таблицы 2, при аналогичной постановке экспериментов статистически значимый защитный эффект сапарала проявился только в отношении оксида свинца и фторида кальция, а также в некоторой степени при воздействии орто-арсената кальция. Можно предположить, что оба адаптогена обладают однотипной, но неодинаково выраженной цитопротекторной эффективностью, поскольку в отношении, например, таких соединений, как хромат бария и оксид марганца благоприятного эффекта сапарала на макрофаги в опытах *in vitro* обнаружено не было.

Таблица 2

Влияние преинкубации крысиных перитонеальных макрофагов с сапаралом (10^{-6} М) на их резистентность к цитотоксическому действию частиц малорастворимых соединений

Воздействие	Концентрация частиц мг/мл	% жизнеспособных клеток в культуре ($\bar{x} \pm s_x$)		
		Контроль	Частицы	Сапарал + частицы
PbO	8	91,7±0,93	52,2±2,69*	62,5±2,35**
CaF ₂	10	86,7±2,18	56,6±1,19*	62,6±1,93**
Ca ₃ (AsO ₄) ₂ ·3H ₂ O	8	88,5±0,95	57,5±2,04	62,5±3,81*
BaCrO ₄	8	91,9±1,48	50,9±1,64*	52,2±1,11*
MnO ₂	4	91,8±1,44	50,6±3,46*	50,1±1,47*

Поэтому цитозащитное действие *in vivo* было изучено только для того из протекторов, который оказался более эффективным *in vitro*, то есть для глутамината натрия. Результаты этих экспериментов представлены в таблице 3. Как видно из нее, наиболее выраженная защита глутаминатом натрия наблюдалась при действии PbO и CaF₂. Так, отношение числа ней-

трофильных лейкоцитов (НЛ) к числу альвеолярных макрофагов (АМ) под влиянием цитотоксичных свинецсодержащих частиц было статистически значимо (при $P < 0,001$) повышено по сравнению с контрольными показателями, но на фоне действия глутамината натрия этот эффект был значимо ниже: $0,35 \pm 0,04$ в контроле, $4,99 \pm 0,58$ при действии PbO у пивших воду и $3,59 \pm 0,29$ при таком же действии у пивших раствор ГН ($P < 0,05$).

Таблица 3
Влияние питья 1,5 % раствора глутамината натрия (ГН) на цитологический состав жидкости бронхо-альвеолярного лаважа (БАЛ) после однократного интратрахеального введения некоторых малорастворимых частиц

Частицы	Группа крыс	Число клеток, $\times 10^6$			Отношение НЛ/АМ
		Всего	Альвеолярных макрофагов	Нейтрофильных лейкоцитов	
	Глутаминат натрия (ГН)	$0,40 \pm 0,053$	$0,073 \pm 0,010$	$0,33 \pm 0,044$	$0,22 \pm 0,015$
PbO	Контроль	$1,29 \pm 0,19$	$0,93 \pm 0,15$	$0,29 \pm 0,04$	$0,35 \pm 0,04$
	Частицы	$12,3 \pm 2,35^*$	$2,10 \pm 0,38^*$	$9,97 \pm 1,97^*$	$4,99 \pm 0,58^*$
	ГН + частицы	$10,2 \pm 1,40^*$	$2,18 \pm 0,32^*$	$7,68 \pm 1,11^*$	$3,59 \pm 0,29^*$
CaF_2	Контроль	$0,89 \pm 0,110$	$0,60 \pm 0,087$	$0,26 \pm 0,059$	$0,45 \pm 0,094$
	Частицы	$3,46 \pm 0,87^*$	$0,73 \pm 0,21$	$2,67 \pm 0,63^*$	$3,93 \pm 0,35^*$
	ГН + частицы	$4,25 \pm 0,98^*$	$1,18 \pm 0,27$	$3,0 \pm 0,80^*$	$2,62 \pm 0,40^*$
$Ca_3(AsO_4)_2 \times 3H_2O$	Контроль	$0,31 \pm 0,046$	$0,26 \pm 0,058$	$0,04 \pm 0,027$	$0,18 \pm 0,06$
	Пыль	$0,67 \pm 0,083$	$0,40 \pm 0,047$	$0,26 \pm 0,065^*$	$0,77 \pm 0,25^*$
	ГН + частицы	$1,32 \pm 0,13^*$	$0,81 \pm 0,06^*$	$0,51 \pm 0,12^*$	$0,65 \pm 0,17^*$

Интратрахеальное введение 10 мг фторида кальция крысам, получавшим в питье глутаминат натрия, вызвало более значительную мобилизацию альвеолярных макрофагов при том же числе нейтрофильных лейкоцитов в БАЛ по сравнению с крысами, пившими воду. При этом отношение НЛ/АМ было значимо снижено (соответственно, $2,62 \pm 0,40$ против $3,93 \pm 0,35$, $P < 0,05$, контрольный показатель $0,45 \pm 0,04$). Эти различия могут свидетельствовать о снижении цитотоксического разрушения АМ малорастворимыми частицами.

У крыс, получивших арсенат кальция и пивших глутаминат, было резко повышено по сравнению с группами "частицы" и "контроль" как число альвеолярных макрофагов, так и нейтрофильных лейкоцитов, но при этом отношение НЛ/АМ, как и в предыдущих двух случаях, было несколько снижено ($0,65 \pm 0,17$ и $0,77 \pm 0,25$), хотя это снижение и не являлось статистически значимым.

В целом, результаты экспериментов *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют о том, что глутаминат натрия повышает резистентность как перитонеальных, так и альвеолярных макрофагов к действию частиц оксида свинца, фторида натрия и орто-арсената кальция.

Одной из причин цитотоксичности фагоцитируемых малорастворимых частиц изученных соединений металлов так же, как и при действии кварцевых частиц [2], по-видимому, является мембранолитическое действие, осуществляемое в силу тех или иных механизмов в результате прямого контакта частицы с клеточной мембраной и с мембранами фаголизосом. Поэтому именно специфический мембраностабилизирующий эффект глутамината, обусловленный активацией цикла Кребса и связанного с ним окислительного фосфорилирования [4], оказывается в той или иной степени важным для защиты макрофага от цитотоксичности как диоксида кремния, так и оксида свинца, фторида кальция и малорастворимых соединений мышьяка. Однако, если для наиболее эффективного торможения развития силикоза, в котором повреждение макрофага является ключевым звеном, такой мембраностабилизирующий эффект необходим и достаточен, цитотоксичность исследованных веществ может быть связана также с растворением металла в цитозоле и определяться иными механизмами – как специфичным для каждого из них, так и общим. Вероятно, именно поэтому защитный (антицитотоксический) эффект глутамината при действии разных цитотоксичных частиц выражен неодинаково.

В совокупности с полученными нами результатами ряда экспериментов, свидетельствующих о благоприятном влиянии перорального введения глутамината и сапарала на токсикокинетику и токсикодинамику изучаемых токсикантов [3], обнаруженное цитопротекторное действие глутамината натрия и сапарала повышает значение этих адаптогенов для индивидуальной биологической защиты организма от действия цитотоксичных пылей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Использование клеточных систем "ин витро" и "ин виво" для ускорения гигиенической регламентации малорастворимых промышленных аэрозолей. Методические рекомендации № 01-19/24-17 // Екатеринбург, 1995. - 28 с.
2. Кацнельсон Б.А., Алексеева О.Г., Привалова Л.И., Ползик Е.В. Пневмокониозы: патогенез и биологическая профилактика // Екатеринбург, 1995. - 325 с.
3. Кацнельсон Б.А., Дегтярева Т.Д., Привалова Л.И. Принципы и методы биологической профилактики профессиональной и экологически обусловленной патологии от воздействия неорганических веществ // Екатеринбург, 1999. - 106 с.
4. Морозова К.И. Глутаминовая кислота как фактор торможения цитотоксического и фиброгенного действия двуоксида кремния: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1984. - с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕРОВОДОРОДНЫХ ВАНН ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Т.Д. Дегтярева

ЕМНЦ профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий

В первичных механизмах токсического действия многих металлов важную роль играет их избирательная способность вступать в химическое