



Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

ДРОЗДОВА ЕЛЕНА ВАЛЕНТИНОВНА – ЗАМЕСТИТЕЛЬ ДИРЕКТОРА ПО НАУЧНОЙ РАБОТЕ, КАНДИДАТ МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ДОЦЕНТ, НПЦ ГИГИЕНЫ.

ГРЫНЧАК ВИТАЛИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ – ЗАВЕДУЮЩИЙ ЛАБОРАТОРИЕЙ ПРИКЛАДНОЙ ТОКСИКОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, КАНДИДАТ МЕДИЦИНСКИХ НАУК, НПЦ ГИГИЕНЫ.

Научная сессия БГМУ,
Минск, 25.01.2022 г.

Актуальность

Действующая нормативно-правовая база в Республике Беларусь позволяет осуществлять эффективный надзор за приоритетными химическими веществами в различных объектах среды обитания.

Но, несмотря на то, что существующие гигиенические нормативы имеют научное обоснование, на современном этапе развития знаний о механизмах действия, токсикокинетике, токсикодинамике химических соединений, а также с учетом их комплексного поступления из различных сред, возникают вопросы о достоверности и достаточности ранее проведенного обоснования гигиенических регламентов в различных средах обитания.

В том числе подвергаются пересмотру применяемые методы расчета неопределенности для учета внутривидовой и межвидовой изменчивости при экстраполяции данных и обосновании безопасных уровней поступления химических веществ.



ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Научно обосновать и разработать экспериментальную модель гентамициновой нефропатии для оценки рисков здоровью при воздействии химических веществ на чувствительные группы населения на примере растворов с различными уровнями бария и минерализации в хроническом эксперименте.



Материалы и методы

Исследования для обоснования экспериментальной модели гентамициновой нефропатии проводили на примере растворов с различными уровнями бария и минерализации в 6-месячном эксперименте.

Для разработки модели патологии – нефропатии предварительно лабораторным животным внутрибрюшинно вводили гентамицин в течение 10 дней в дозе 70 мг/кг/день, которые были сформированы в 5 групп по 10 крыс в каждой. После развития нефропатии одна группа получала дистиллированную воду, а остальные растворы бария в концентрациях 1,3 и 70 мг/л и минерализацией 1 500 и 10 000 мг/л в режиме свободного выпаивания.

Для оценки воздействия и обоснования модели сформировали 5 групп по 10 самцов белых крыс в каждой. Контрольная группа получала дистиллированную воду в свободном питьевом режиме в неограниченном количестве. Остальные четыре группы – растворы бария в концентрациях 1,3 и 70 мг/л, минерализацией 1 500 и 10 000 мг/л.

БАРИЙ (ВА) – 2-ВОДНЫЙ БАРИЙ ХЛОРИД ЗАО «ВЕКТОН», РОССИЯ (ГОСТ 4108-72)

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ (М) – МИНЕРАЛЬНАЯ ДОБАВКА «СЕВЕРЯНКА» (ООО «ЭКО-ПРОЕКТ», РОССИЯ)



Материалы и методы

Для определения развития гипертензии у крыс до начала и по окончании эксперимента измеряли систолическое (АДс) и диастолическое артериальное давление (АДд), частоту сердечных сокращений (ЧСС) с помощью системы неинвазивного измерения кровяного давления грызунов «Систола» и платформы «Флогистон» производства ООО «Нейроботикс», Россия.

При аутопсии после одномоментной декапитации белых крыс определяли относительные коэффициенты массы (ОКМ) внутренних органов. Для изучения морфофункционального состояния организма экспериментальных животных оценивали:

■ биохимические показатели сыворотки крови и мочевыделительной системы с помощью автоматического биохимического анализатора Accent 200, Польша;

■ морфофункциональный состав периферической крови методом проточной цитометрии с использованием гематологического анализатора Mythic18, Швейцария;

■ морфологическое строение внутренних органов лабораторных животных с применением общепринятых методов.



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На протяжении эксперимента у белых крыс не наблюдалось существенных изменений в общем состоянии. Объем водопотребления всех экспериментальных групп оставался на уровне контрольных значений. При пересчете на массу тела ежедневная доза для лабораторных животных, получавших растворы бария в концентрациях 1,3 и 70 мг/л, составила 0,05 и 2,7 мг/кг соответственно.

Доза и водопотребление белых крыс и крыс с нефропатией при воздействии растворов с различными уровнями минерализации и бария в хроническом эксперименте, Me (P₂₅-P₇₅)

<i>Группы сравнения</i>		<i>Показатели, единицы измерения</i>	
Животные	Уровень воздействия, мг/л	Водопотребление, мл	Доза, мг/кг в день
белые крысы	контроль	84,6 (71,4-97,8)	—
	Ва 1,3	84,8 (71,6-98,0)	0,0500 (0,0496-0,0504)
	Ва 70	84,7 (71,5-97,9)	2,7020 (2,6770-2,7227)
	М 1500	84,6 (71,4-97,8)	—
	М 10000	85,0 (71,8-98,2)	—
белые крысы с нефропатией	контроль	85,2 (71,9-98,3)	—
	Ва 1,3	85,0 (71,7-98,0)	0,0501 (0,0483-0,0508)
	Ва 70	85,3 (72,0-98,3)	2,7090 (2,5666-2,7480)
	М 1500	91,6 (72,8-103,5)	—
	М 10000	84,5 (78,1-97,1)	—



Результаты исследований

Артериальное давление и ЧСС белых крыс и крыс нефропатией при воздействии растворов бария в хроническом эксперименте, Me (P₂₅-P₇₅)

Группы сравнения		Показатели, единицы измерения		
Животные	Уровень воздействия, мг/л	АДс, мм.рт.ст.	АДд, мм.рт.ст.	ЧСС, уд/мин
белые крысы	контроль	127 (119-130)	106 (100-108)	412 (406-423)
	Ва 1,3	125 (120-130)	105 (100-108)	414 (408-421)
	Ва 70	134 (130-140)*	116 (109-119)*	415 (408-420)
белые крысы с нефропатией	контроль	124 (120-129)	107 (105-109)	420 (417-423)
	Ва 1,3	123 (120-132)	107 (105-108)	424 (414-429)
	Ва 70	136 (131-142)**	117 (108-119)**	425 (418-428)

*Примечания: * – статистически значимые различия с контролем белых крыс при $p < 0,009$; ** – статистически значимые различия с контролем белых крыс с нефропатией при $p < 0,005$.*

Хроническая экспозиция барием в концентрации 70 мг/л инициировала статистически значимое увеличение массы тела белых крыс и крыс с нефропатией на 2,8 и 6,1 % соответственно на фоне отсутствия изменений прироста массы тела остальных опытных групп по сравнению с контрольными.



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При сравнении лейкоцитарных формул контрольных лабораторных животных, получавших гентамицин, с контрольными белыми крысами выявлен лейкоцитоз.

Экспозиция животных с почечной недостаточностью и без патологии почек барием в концентрации 70 мг/л способствовала развитию лейкоцитоза, который выражался в увеличении лейкоцитов и нейтрофилов на 19,9 и 32,0 % по сравнению с контрольными крысами и на 14,6 и 16,7 % соответственно относительно контрольной группы с нефропатией. При получении животными 70 мг/л бария выявлена тромбоцитопения в виде снижения тромбоцитов на 10,9 %, средней концентрации и содержания гемоглобина в эритроцитах, что определило понижение его в крови опытных крыс по сравнению с контрольными животными с нефропатией. Также статистически значимо выявлен лейкоцитоз у крыс с нарушенной функцией почек, получавших растворы с минерализацией 10 000 мг/л.



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Со стороны биохимических показателей крови при экспозиции барием в концентрации 70 мг/л лабораторных животных выявлено снижение содержания общего белка на 20,7 % и увеличение АСТ на 21,4 %. Воздействие на белых крыс раствора с минерализацией 10000 мг/л инициировало уменьшение концентрации мочевины в 2,7 раза по сравнению с контрольной группой.

О развитии модельной патологии – хронической нефропатии, свидетельствуют функциональные изменения у контрольных лабораторных животных в виде снижения концентрации в крови фосфора, ЛПНП, общего белка, альбумина, мочевины, а также статистически значимого увеличения мочевой кислоты на 29,8 %, креатинина, глюкозы, АСТ и АЛТ относительно контрольных белых крыс, не получавших гентамицин.

Токсическое действие бария на животных с нефропатией проявлялось более выраженным снижением общего белка, АЛТ и глюкозы, повышением концентрации креатинина. Изменения в сыворотке крови при экспозиции лабораторных животных с модельной патологией растворами с минерализацией 10000 мг/л проявлялись нарушением минерального обмена в виде статистически значимого снижения содержания фосфора и магния, а также мочевой кислоты в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой белых крыс, получавших гентамицин.



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Со стороны функционального состояния мочевыделительной системы лабораторных животных о развитии хронической гентамициновой нефропатии свидетельствует снижение суточного диуреза, разнонаправленные сдвиги белкового и минерального обменов в виде повышенной экскреции общего белка, снижение концентрации фосфора, магния, мочевины и креатинина в 1,4 и 1,3 раза в моче соответственно при $p < 0,001$ по сравнению с контрольными белыми крысами.

Хроническое воздействие бария в концентрации 70 мг/л инициировало развитие признаков протеинурии, которые были более выражены при воздействии на животных с нефропатией, а также у крыс установлено снижение содержания в моче мочевины и креатинина.

При экспозиции белых крыс растворами с минерализацией 1500 мг/л изменения со стороны показателей функционального состояния почек отсутствовали. Растворы с минерализацией 10000 мг/л способствовали развитию функциональных нарушений мочевыделительной системы в виде статистически значимого снижения в моче содержания фосфора и магния на 42,4 и 35,7 % соответственно и повышенной экскреции мочевины, которые усиливались у лабораторных животных с хронической нефропатией. Обращает внимание снижение выведения α -амилазы на 19,4 % ($p < 0,01$) с мочой по сравнению с контрольными белыми крысами с патологией почек.



Результаты исследований

Относительные коэффициенты масс внутренних органов белых крыс и крыс с нефропатией при воздействии растворов с различными уровнями минерализации и бария в хроническом эксперименте, Me (P₂₅-P₇₅)

Группы сравнения		ОКМ внутренних органов, г/кг ³			
Животные	Уровень воздействия, мг/л	Печень	Почки	Сердце	Желудок
белые крысы	контроль	32,3 (28,6-33,1)	7,4 (7,2-7,6)	3,1 (2,9-3,4)	7,3 (6,7-8,0)
	Ba 1,3	29,3 (28,3-32,1)	7,4 (7,1-7,5)	3,2 (3,1-3,4)	7,2 (6,7-7,8)
	Ba 70	30,3 (26,9-32,2)	7,3 (6,3-7,6)	3,5 (3,3-3,7)*	6,9 (6,4-7,5)
	M 1500	33,0 (31,2-35,4)	7,7 (7,0-8,2)	3,4 (3,0-3,8)	8,3 (6,2-8,9)
	M 10000	33,6 (31,9-34,4)	7,8 (7,3-8,5)	3,6 (3,4-3,8)*	7,2 (6,8-7,6)
белые крысы с нефропатией	контроль	34,0 (32,6-35,5)*	6,9 (6,4-7,4)*	3,2 (2,8-3,4)	8,5 (8,3-8,5)*
	Ba 1,3	33,6 (32,9-34,3)	7,2 (6,7-7,5)	3,2 (3,1-3,3)	8,0 (7,7-8,5)
	Ba 70	31,7 (30,4-33,9)**	6,8 (6,3-7,3)	3,6 (3,4-3,8)**	6,7 (6,4-6,8)**
	M 1500	32,4 (31,5-33,5)	6,7 (6,2-7,1)	3,2 (3,0-3,4)	7,9 (7,8-8,5)
	M 10000	33,4 (33,1-39,6)	6,4 (6,0-6,7)	3,5 (3,3-3,8)**	6,8 (6,7-7,5)**

Примечания: * – статистически значимые различия с контролем белых крыс при $p < 0,02$; ** – статистически значимые различия с контролем белых крыс с нефропатией при $p < 0,04$.

Изменения ОКМ, а также функциональные нарушения внутренних органов опытных животных подтверждаются морфологическими нарушениями.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана экспериментальная модель хронической гентамициновой нефропатии для оценки рисков воздействия химических факторов. О развитии патологии у животных свидетельствуют морфофункциональные нарушения гепатобилиарной и мочевыделительной систем.

Токсическое действие бария при воздействии на лабораторных животных в концентрации 70 мг/л проявлялось развитием лейкоцитоза, нарушением белкового обмена, повышением артериального давления, морфологическими изменениями сердца с увеличением его массы, а также признаками хронического гепатита и гастрита, пиелита, дистрофическими изменениями эпителия проксимальных канальцев почек. Экспозиция белых крыс растворами с минерализацией 10 000 мг/л способствовала нарушению минерального и белкового обменов, развитию слабо выраженных признаков повреждения почек, сердца и печени. Воздействие указанных концентраций бария и минерализации на животных с нефропатией усиливало выраженность их токсического действия, что указывает на применимость разработанной модели при обосновании гигиенических нормативов и проведении оценки рисков. Концентрации 1,3 мг/л бария и 1 500 мг/л минерализации в условия хронического эксперимента на белых крысах могут быть приняты в качестве недействующих.

Полученные данные позволяют рекомендовать применение разработанной модели для снижения неопределенности при оценке риска здоровью и гигиенического нормирования химических веществ, органами-мишенями для которых является выделительная система.

