

УДК 616.314-07:[615.9:661.852'071.2]-092.9

DOI: 10.15587/2519-4798.2017.100481

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НАКОПЛЕНИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА В ПЛАЗМЕ КРОВИ, МОЧЕ И ГОМОГЕНАТАХ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ КРЫС

© В. Ф. Куцевляк, Н. П. Бобровская, К. Н. Беликов, Т. В. Шеина

*Актуальным остается изучение токсического действия соединений свинца на твердые ткани зубов, поскольку свинец отнесен ВОЗ к глобальным загрязнителям окружающей среды. В исследовании методом атомно-абсорбционной спектроскопии проведен сравнительный анализ накопления ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов контрольной группы крыс и в группе крыс получавших ацетат свинца в течении 1, 2 и 3 месяцев и выявлена наибольшая концентрация спустя три месяца*

**Ключевые слова:** свинец, атомно-абсорбционный спектрометр, плазма крови, моча, гомогенат твердых тканей зубов

### 1. Введение

Воздействие тяжелых металлов, относящихся к глобальным загрязнителям окружающей среды, среди которых свинец ВОЗ включен в список приоритетных, является ведущим фактором в развитии большого числа болезней человека [1]. Многие заболевания, которые ранее диагностировались только как следствие воздействия профессиональных вредностей, теперь регистрируются и среди всего населения [2].

Мощными источниками загрязнения окружающей среды различными вредными веществами, в том числе металлами и их солями, являются предприятия цветной металлургии и их промышленные отходы [3].

Негативное воздействие на здоровье населения простирается от рабочего, соприкасающегося непосредственно со свинцом в производственном процессе, до всего населения, как через загрязнение окружающей среды, так и через потребительские товары, содержащие в своем составе свинец (кафель, керамика, хрусталь, краски и пр.) [4].

Известно, что структура заболеваемости в определенной мере зависит и от природных, в первую очередь климатических условий, а также от вида промышленности, качественного состава выбросов и их концентрации в воздушном пространстве (промышленные отходы, выхлопные газы от автотранспорта) [5]. Кроме того, в организм человека свинец в значительном количестве поступает с водой и продуктами питания [6].

### 2. Обоснование исследования

Большинство исследований посвящено клиническим аспектам токсического действия свинца на нервную [7], сердечно-сосудистую [8], иммунную системы [9], почки [10], печень [11], желудочно-кишечный тракт [12], репродукцию [13], онкологию [14]. Стоматологическое здоровье неразрывно связано с уровнем общего здоровья человека.

Длительное действие на организм вредных химических веществ, в частности свинца, даже в предельно допустимых концентрациях, проникно-

вание их во внутреннюю среду, приводит к нарушению адаптационных, барьерно-детоксикационных и выделительных систем. Однако роль свинца в развитии патологических процессов в полости рта и, в частности, твердых тканей зубов изучены недостаточно, хотя зубы являются удобным объектом для оценки уровня его накопления. Трудности возникают в связи с неравномерным распределением металла, зависимостью от типа зубов, возраста, профессии и других факторов [15]. Описаны случаи появления свинцовой каймы на деснах, отложение сернистого свинца на языке, мягком небе, слизистой оболочки губ и щек, развитие кариеса, пародонтита, а также изменения в костной ткани челюстей, артропатии [16].

На сегодняшний день нет углубленных исследований по вредному токсическому воздействию свинца на твердые ткани зубов, что и определяет необходимость дальнейшего изучения данного вопроса.

### 3. Цель исследования

Проведение сравнительного анализа количественного наличия ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов крыс с целью изучения информативности показателей для оценки состояния аккумуляции и метаболизма ацетата свинца в зависимости от степени его накопления.

### 4. Материалы и методы исследования

Для изучения степени количественного накопления соединений свинца в гомогенатах твердых тканей зубов в эксперименте на крысах проведено комплексное исследование плазмы крови, мочи и гомогенатов твердых тканей зубов у 36 белых беспородных крыс-самцов массой тела 200–250 г. Условия содержания: групповое в помещении вивария Харьковской медицинской академии последипломного образования при температуре воздуха 25–27 °С (лето), влажности более 40 %, световом режиме день/ночь. Животных использовали в исследованиях после окончания карантина, то есть через 30 дней после поступления в виварий. Крыс взвешивали и осматривали перед началом проведения эксперимен-

та. Использовали животных одинакового возраста с интактными зубными рядами. Животные в течение эксперимента находились на стандартном водно-пищевом рационе вивария, со свободным доступом к воде и пище, дышали городским воздухом, поступающим из приточно-вытяжной вентиляции вивария.

В эксперименте использовали ацетат свинца производства «Макрохим» (Украина).

Животные были разделены на 2 группы: 1-я – контрольная (12 крыс), получавшая обычную воду на протяжении 1 месяца, до забора проб на исследование, 2-я (24 крысы) – опытная, животные получали ацетат свинца в дозе 10 мг/кг массы тела животного в виде 1 % раствора интрагастрально с питьевой водой ежедневно в течение 1, 2 и 3 месяцев. В опытной группе выделено три подгруппы по продолжительности затравки животных ацетатом свинца.

Исследования на животных проводили с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных и в соответствии «Общих этических правил экспериментов над животными», утвержденных I Национальным конгрессом по биоэтике 20.10.2001 (г. Киев) и закона Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477- IV от 21.02.2006 г.

Забор мочи производили в течение дня с помощью эксикатора, собранная моча замораживалась. По окончании срока наблюдения производили эвтаназию животных под хлороформным рауш-наркозом. Из сердечной артерии брали кровь, её центрифугировали и замораживали. Затем из нижней челюсти вычленили гомогенат твердых тканей зубов, их отделяли от остатков костной ткани и затем фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина.

Измерения выполнялись на атомно-абсорбционном спектрометре iCE 3500 (Thermo Scientific, США). Спектрометр укомплектован двумя блоками атомизации – пламенным и электротермическим. Технические характеристики:

- диапазон длин волн – 180...900 нм;
- двухлучевая оптическая схема Стокдейла в пламенном варианте;
- однолучевая оптическая схема в электротермическом варианте;
- Эшелле монохроматор;
- коррекция фонового поглощения – Зеemanовская либо при помощи дейтериевой лампы, в отделе аналитической химии функциональных материалов и объектов окружающей среды (зав. отделом, канд. хим. наук Беликов К. Н.) Государственного научного учреждения «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины.

Определение количественного содержания ацетата свинца в образцах плазмы крови крыс измеряли в электротермическом варианте атомно-абсорбционной спектрометрии с предварительным разложением плазмы крови при помощи микроволновой установки MDS-2000 (CEM Corporation, США). Встроенный компьютер позволял программировать

пятистадийный процесс обработки проб, каждая стадия которого не превышала 60 минут при максимальных значениях давления и температуры. Способ градуировки – метод стандартных добавок. Анализируемые растворы, добавки раствора с известным содержанием свинца и раствор химического модификатора дозировались в графитовую кювету при помощи автосамплера. Регистрация сигналов, построение градуировочного графика и расчет концентрации ацетата свинца в анализируемых растворах осуществляли программным обеспечением спектрометра.

Образцы мочи крыс (0,5 мл) помещали в стеклянные химические стаканы объемом 50 мл, прибавляли по 2,5 мл концентрированной  $\text{HNO}_3$  (65 %) и по 2,5 мл деионизированной воды. Растворы нагревали на электроплитке до кипения и выдерживали в течение 5 мин. Полученные растворы охлаждали до комнатной температуры, количественно переносили в мерные колбы объемом 10 мл и доводили до метки деионизированной водой. Выполняли измерения количественного содержания ацетата свинца в электротермическом варианте атомно-абсорбционной спектрометрии с регистрацией сигналов, построением градуировочного графика и расчетом концентрации ацетата свинца, которое осуществлялось программным обеспечением спектрометра.

Для определения количественного содержания ацетата свинца в гомогенатах твердых тканей зубов крыс изготавливали навески зубов массой 0,04–0,25 мг, помещали их в стеклянные химические стаканы объемом 50 мл, добавляли по 3 мл концентрированной  $\text{HNO}_3$  (65 %) и по 2 мл деионизированной воды, нагревали до полного растворения образцов, не допуская сильного вскипания и разбрызгивания растворов, охлаждали до комнатной температуры и количественно переносили в мерные колбы объемом 10 мл, доводили до метки деионизированной водой и перемешивали. Градуировку выполняли по методу градуировочного графика. Для чего готовили градуированные растворы, содержащие азотную кислоту в количестве, эквивалентном пробам и добавки стандартного раствора свинца. Концентрация свинца в градуированных растворах (мг/л): 0,1; 0,2; 0,4 и 0,6. Для приготовления использовали стандартный раствор свинца с концентрацией 1 мг/мл. Измерения производили в пламени ацетилен-воздух при длине волны 217,0 нм. Регистрация сигналов, построение градуировочного графика и расчет концентрации свинца в анализируемых растворах осуществлялись программным обеспечением спектрометра.

Полученные количественные показатели наличия ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов обрабатывали статистически с помощью программы STATISTICA 6.1 для оценки погрешности и достоверности полученных результатов. Для определения степени отличий тех или иных выборок был использован t-критерий Стьюдента.

## 5. Результаты исследования

В плазме крови контрольной группы крыс методом электротермического атомно-абсорбционного анализа определено незначительное количество ацетата свинца ( $0,055 \pm 0,003$  мкг/мл) табл. 1.

Таблица 1  
Количественные показатели атомно-абсорбционного анализа содержания ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов крыс

Группа животных	Кол-во	Материал исследования		
		Плазма крови мкг/мл	Моча мкг/мл	Гомогенат твердых тканей зубов мкг/г
Контроль	12	$0,055 \pm 0,003$	$0,062 \pm 0,001$	$11,7 \pm 0,4$
1 месяц	8	$0,086 \pm 0,002$ $p < 0,05$	$0,165 \pm 0,005$ $p < 0,05$	$18,4 \pm 0,5$ $p < 0,05$
2 месяц	8	$0,12 \pm 0,006$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$0,173 \pm 0,002$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$18,9 \pm 0,1$ $p_1 < 0,05$
3 месяц	8	$0,18 \pm 0,02$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	$0,175 \pm 0,003$ $p_3 < 0,05$	$19,4 \pm 0,6$ $p_3 < 0,05$

Примечание:  $p$  – достоверность отличий между показателями контроля и 1-го месяца;  $p_1$  – достоверность отличий между показателями контроля и 2-го месяца;  $p_2$  – достоверность отличий между показателями 1-го и 2-го месяца;  $p_3$  – достоверность отличий между показателями контроля и 3-го месяца;  $p_4$  – достоверность отличий между показателями 2-го и 3-го месяца

Свинец, как микроэлемент содержится в плазме крови и нельзя исключать его поступление в организм крысы с пищей, водой, а также из атмосферного воздуха окружающей среды. Рядом с виварием, где находились крысы, проходит улица с постоянным движением машин, что не исключает воздействие на крыс выхлопных газов автотранспорта.

В моче контрольной группы крыс также, как и в крови определено небольшое количество ацетата свинца ( $0,062 \pm 0,001$ ), оно несколько выше, чем в крови, но это различие недостоверно ( $p > 0,05$ ). Моча является одним из путей выведения тяжелых металлов из организма, этим и объясняется большее количество выведение ацетата свинца у крыс.

В гомогенатах твердых тканей зубов крыс контрольной группы обнаружен ацетат свинца в количестве  $11,7 \pm 0,4$  мкг/г, что достоверно многократно больше, чем в плазме крови и моче, что объясняется кумуляцией металла в зубах и медленным его выведением.

Через месяц затравки крыс ацетатом свинца в плазме крови опытной группы установлено  $0,086 \pm 0,002$  мкг/мл металла, что достоверно выше его содержания по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). В моче крыс было существенное повышение содержания

ацетата свинца по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). В гомогенатах твердых тканей зубов количество ацетата свинца составило  $18,4 \pm 0,5$  мкг/г, что достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Ацетат свинца в крови является решающим показателем его воздействия на организм, а выведение его с мочой в течение 3 месяцев проведено с целью подтверждения хронической свинцовой интоксикации. В гомогенатах твердых тканей зубов с целью определения величины аккумуляции.

Спустя 2 месяца затравки крыс ацетатом свинца выявлено достоверное повышение его содержания в плазме крови ( $0,12 \pm 0,006$ ) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) и с первым месяцем затравки ( $p < 0,05$ ). В моче крыс также определено значительное достоверное повышение его содержания ( $0,173 \pm 0,002$ ) по сравнению с контролем и с первым месяцем затравки ( $p < 0,05$ ). В гомогенатах твердых тканей зубов крыс выявлено достоверное повышение ацетата свинца ( $18,9 \pm 0,1$ ) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Через 3 месяца затравки крыс ацетатом свинца в плазме крови установлено достоверное увеличение его содержания ( $0,18 \pm 0,02$ ) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), а также со вторым месяцем ( $p < 0,05$ ). В моче крыс также выявлено достоверное увеличение содержания ацетата свинца ( $0,175 \pm 0,003$ ) по сравнению с контролем. В гомогенатах твердых тканей зубов крыс через 3 месяца выявлено достоверное увеличение его содержания ( $19,4 \pm 0,6$  мкг/г) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

## 6. Обсуждение результатов исследования

В результате проведенного исследования можно утверждать, что опасный токсикант – свинец даже с хронической низкодозовой нагрузкой присутствует в организме животного, что подтверждается показателями анализа крови и мочи. Несмотря, на низкодозовое внешнее введение ацетата в виде 1 % водного раствора в дозе 10 мг/кг массы тела животного в крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов крыс его концентрация была выше показателей контрольной группы начиная с 1-го месяца затравки и достигало наибольших величин к концу 3-го месяца.

Изучение токсического действия соединений свинца на твердые ткани зубов является актуальным и важным, поскольку свинец отнесен ВОЗ к глобальных загрязнителям окружающей среды (тяжелым экотоксикантам) и проблема влияния его на здоровье человека, в частности, на органы полости рта приобрела всемирное значение.

Для выявления видимых структурных изменений в гомогенатах твердых тканях зубов в результате действия на них ацетата свинца необходимо проведение морфологических исследований.

Для успешного решения проблем патологии твердых тканей зубов, связанных с негативным воздействием тяжелых металлов, и в частности, свинца необходимы дальнейшие систематические исследования не только экспериментальные, но и клинические.

## 7. Выводы

1. На основании полученных сравнительных данных количественного накопления ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов крыс методом атомно-абсорбционного анализа установлено, что в контрольной группе крыс уже было наличие ацетата свинца в результате содержания его как микроэлемента, и поступления в организм с пищей, водой и из атмосферного воздуха окружающей среды.

2. В проведенном исследовании определено накопление малых доз ацетата свинца в плазме крови, моче и гомогенатах твердых тканей зубов по мере увеличения срока затравки крыс.

3. Полученные данные свидетельствуют о наибольшем количественном содержании ацетата свинца в гомогенатах твердых тканей зубов крыс в сроки спустя 3 месяца затравки, что свидетельствует о его кумуляции.

## Литература

1. Tchounwou, P. B. Heavy Metal Toxicity and the Environment [Text] / P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, D. J. Sutton // *Experientia Supplementum*. – 2012. – P. 133–164. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4\_6
2. Трахтенберг, I. М. Свинець – небезпечний полютант. Проблема стара і нова [Текст] / I. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха, С. П. Луговський, I. С. Чекман // *Сучасні проблеми токсикології, хорчової та хімічної безпеки*. – 2015. – № 3. – С. 14–24.
3. Kianoush, S. Clinical toxicological, biochemical and hematologic parameters in lead exposed workers of a car battery industry [Text] / S. Kianoush, M. Balati-Mood, S. R. Mousavi et. al. // *Iran J. Med. Sci.* – 2013. – Vol. 38, Issue 1. – P. 30–37.
4. Вертелецкая, М. И. Структура, клинические особенности соматической патологии у рабочих свинцового производства [Текст] / М. И. Вертелецкая, К. А. Семенова, Л. П. Авраменко, Т. В. Болотнова // *Академический журнал Западной Сибири*. – 2015. – № 1 (56). – С. 10–11.
5. Кротенко, И. С. Влияние на здоровье населения выбросов вредных веществ автотранспорта [Текст]: науч.-практ. конф. / И. С. Кротенко, Л. Н. Мовчан, В. Е. Альшевская, Н. Л. Зверева // *Екологія Харківщини: стан, проблеми, перспективи*. – 2011. – С. 126.
6. Єрем, Т. В. Характеристика вмісту деяких важких металів у продуктах харчування, що становлять раціон мешканців Закарпатської області [Текст] / Т. В. Єрем // *Довкілля та здоров'я*. – 2015. – № 4. – С. 23–25.
7. Mason, L. H. Pb Neurotoxicity: Neuropsychological Effects of Lead Toxicity [Text] / L. H. Mason, J. P. Harp, D. Y. Han // *BioMed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–8. doi: 10.1155/2014/840547
8. Сушанло, Р. Ш. Влияние свинцовой интоксикации и гипоксии на сердечно-сосудистую систему (литературный обзор) [Текст] / Р. Ш. Сушанло // *Сибирский мед. ж.* – 2016. – Т. 31, № 3. – С. 33–38.
9. Mishra, K. P. Lead exposure and its impact on immune system: A review [Text] / K. P. Mishra // *Toxicology in Vitro*. – 2009. – Vol. 23, Issue 6. – P. 969–972. doi: 10.1016/j.tiv.2009.06.014
10. Вепрюк, Ю. М. Возрастные особенности ионорегулирующей функции почек при воздействии солями алюминия и свинца в условиях гипофункции шишковидной железы [Текст] / Ю. М. Вепрюк // *Здоровье и образование в XXI веке*. – 2013. – Т. 15, № 1-4. – С. 243–246.
11. Довгаль, Г. В. Морфологічні зміни в розвитку печінки щурів при впливі ацетату свинцю та за умов корекції в пренатальному періоді [Текст] / Г. В. Довгаль // *Український морфологічний альманах*. – 2014. – № 12 (1). – С. 42–44.
12. Луговской, С. П. Механизмы биологического действия свинца на пищеварительную систему [Текст] / С. П. Луговской, Л. А. Легкоступ // *Сучасні проблеми токсикології*. – 2002. – № 2. – С. 45–50.
13. Романюк, А. М. Морфологічні зміни у статевих органах (сім'яники, передміхурова залоза) в умовах впливу на організм солей важких металів [Текст] / А. М. Романюк, С. В. Сауляк, Ю. В. Москаленко, О. К. Романюк, А. О. Шкрюба // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2013. – Т. 16, № 1 (61). – С. 210–211.
14. Ильичева, С. А. Изучение канцерогенности свинца в когортном исследовании мужчин-работников типографии Москвы [Текст] / С. А. Ильичева, Д. Г. Заридзе // *Гигиена и санитария*. – 2015. – № 5. – С. 75–77.
15. Куцевляк, В. Ф. Інтенсивність карієсу зубів серед населення, що проживає в умовах підвищеного впливу солей важких металів [Текст] / В. Ф. Куцевляк, Ю. В. Лахтін // *Новини стоматології*. – 2011. – № 3. – С. 58–60.
16. Лахтин, Ю. В. Влияние солей тяжелых металлов на возникновение основных стоматологических заболеваний [Текст]: монография / Ю. В. Лахтин, Л. И. Григорьева, В. А. Полосухин, О. А. Зорина и др. – К.: Экология и здоровье населения, 2012. – С. 149–180.

*Дата надходження рукопису 14.03.2017*

**Валентина Федоровна Куцевляк**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой, кафедра стоматологии и терапевтической стоматологии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, ул. Амосова, 58, г. Харьков, Украина, 61176

**Наталья Павловна Бобровская**, аспирант, кафедра стоматологии и терапевтической стоматологии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, ул. Амосова, 58, г. Харьков, Украина, 61176  
E-mail: natusyia@mail.ru

**Константин Николаевич Беликов**, кандидат химических наук, заведующий отделом, отдел аналитической химии им. А. Б. Бланка, Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины, пр. Науки, 60, г. Харьков, Украина, 61000

**Татьяна Владимировна Шеина**, кандидат химических наук, научный сотрудник, отдел аналитической химии им. А. Б. Бланка, Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины, пр. Науки, 60, г. Харьков, Украина, 61000