

УДК [547.546+547.271'264]:616-001.18-099-092.9

*Р.О. Бачинський*

*Харківський національний медичний університет*

### **ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ ПРИ СПОЛУЧЕНІЙ ДІЇ ХІМІЧНИХ ТА ФІЗИЧНИХ ЧИННИКІВ (НА ПРИКЛАДІ НІТРОБЕНЗОЛУ)**

Проведено дослідження, метою якого було визначення закономірностей формування токсичних ефектів при дії нітробензолу [НБ] при зниженій температурі. Результати вивчення особливостей токсичної дії НБ у сполученні зі зниженою температурою в підгострому токсикологічному експерименті (1 міс заправочного періоду) та періоді відновлення свідчать про розвиток в організмі експериментальних тварин (статевозрілих щурах-самцях лінії WAG) патогномонічних для дії НБ зрушень за умови, що при сполученій дії хімічного чинника та зниженої температури відбувається посилення токсичного ефекту. Посилення токсичної дії НБ при сполученні зі зниженою температурою встановлено як за критеріями загальної токсичності (інтегральні та гематологічні показники, показники функціонального стану сперматозоїдів), так і за результатами оцінки морфологічних показників (сім'яники, печінка, селезінка, нирки, наднирники, щитоподібна залоза).

**Ключові слова:** *токсична дія, нітробензол, сполучена дія, знижена температура, патогномонічні зрушення.*

Трудове та соціальне середовище, в якому відбувається діяльність людини, характеризується комплексом взаємодіючих чинників. Забезпечення інформованості фахівців про особливості кількісного і якісного впливу на організм як окремих чинників, так і їх комплексу дає можливість своєчасно аналізувати й усувати причини несприятливої дії [1, 2].

Найбільш несприятливими з точки зору масштабності можливих негативних наслідків для здоров'я людини слід визнати дію хімічних і фізичних чинників. До таких з'єднань належить і одночасна дія хімічних сполук та зниженої температури повітря. Проблема сполученої дії шкідливих речовин і зниженої температури повітря на організм й дотепер залишається маловивченою, тоді як за поширеністю й інтенсивністю дії у виробничих умовах таке сполучення не лише не поступається, але й значно перевершує багато інших комбінацій шкідливих чинників [3, 4].

Результати експериментальних і клінічних досліджень з даної проблеми, які проводилися

токсикологами України, переконливо свідчать про те, що при сполученій дії хімічних і фізичних чинників відзначається посилення пошкоджувального ефекту, в основі якого лежать певні фізіологічні та біохімічні механізми. Знання останніх надзвичайно важливе як для виявлення ефектів, що виникають, так і для розроблення ефективної профілактики порушень здоров'я людей, які перебувають у таких умовах [5, 6].

Зважаючи на зростаючий світовий попит на нітробензол [НБ] і пов'язану з цим особливу актуальність вивчення закономірностей токсичної дії на організм саме даної хімічної речовини у сполученні зі зниженою температурою нами було обрано саме нітробензол як модельний об'єкт дослідження.

Метою проведених експериментальних досліджень було визначення закономірностей формування токсичних ефектів при дії НБ у сполученні зі зниженою температурою.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили в умовах підгострого експерименту

(1 міс затравочного періоду) на лабораторних тваринах (статевозрілих щурах-самцях лінії WAG). Тварини були розподілені на 4 групи по 6 тварин у групі. Тварини 1-ї групи піддавалися сполученій дії НБ і зниженій температурі повітря  $4\pm 2$  °С. Тварини 2-ї групи піддавалися ізольованій дії тільки зниженої температури  $4\pm 2$  °С, тобто були контролем відносно тварин 1-ї групи. Тварини 3-ї групи зазнавали дії НБ при температурі повітря  $25\pm 2$  °С (нормальна температура навколишнього середовища). Тварини 4-ї групи служили контролем при температурі повітря  $25\pm 2$  °С.

Здійснювали 30-кратне введення НБ в шлунок у дозі  $1/10$  ЛД<sub>50</sub> (70 мг/кг) і експозицію тварин у двох різних термічних режимах по 4 год на день 5 разів на тиждень.

З метою виявлення змін показників, що вивчалися, їх визначення у контрольних і піддослідних тварин проводили до початку дослідження, після 5, 15 і 30 затравок НБ. Також проведено дослідження відновлення показників, що вивчалися, у період післядії (30 діб).

У токсикологічному експерименті вивчали гематологічні та інтегральні показники, показники функціонального стану сперматозоїдів, проводили морфологічні дослідження внутрішніх органів та морфометричні дослідження сім'яників.

Отримані дані опрацьовано загальноприйнятими методами статистики (середня, помилка середньої, критерій вірогідності Фішера-Стьюдента).

**Результати та їх обговорення.** При дослідженні змін гематологічних та інтегральних показників щурів у динаміці при дії НБ в умовах підгострого токсикологічного експерименту в двох різних термічних режимах, а саме при температурі  $25\pm 2$  °С (термонеутральна зона) і  $4\pm 2$  °С (зона зниженої температури – умови холодового стресу), виявлено, що в умовах сполученої дії зі зниженою температурою НБ призводив до більш виражених зрушень зазначених показників.

Для визначення можливого впливу холодового чинника на розвиток токсичного процесу було проведено порівняльну характеристику результатів між двома контрольними групами: «контроль – знижена температура» ( $t=4\pm 2$  °С) і «контроль – термонеутральна зона» ( $t=25\pm 2$  °С). При порівнянні результатів визначення рівня  $Hb_{\text{заг}}$  і  $HbO_2$  між двома кон-

трольними групами достовірної різниці впродовж всього експерименту не виявлено. Лише на 5-му етапі затравок кількість еритроцитів була достовірно меншою, а вміст MetHb достовірно більшим у крові тварин холодової контрольної групи. Також спостерігалось зниження рівня кількості ретикулоцитів у групі «контроль – знижена температура» на етапі 15 затравок ( $p<0,05$ ). Проведений аналіз підтверджує те, що ізольована дія холодового чинника не призводить до суттєвих змін показників червоної крові, типових для токсичного впливу НБ.

Разом з тим вплив НБ як в умовах термонеутральної зони, так і при холодовому стресі характеризувався вірогідними змінами цих показників порівняно з групами контролю практично упродовж усього періоду спостережень.

При цьому більш значне зниження рівнів  $Hb_{\text{заг}}$  і  $HbO_2$  встановлено у тварин, які зазнавали дії НБ при сполученні зі зниженою температурою порівняно з дією НБ в умовах термонеутральної зони на етапі 15 затравок: рівень  $Hb_{\text{заг}}$  –  $96,20\pm 3,23$  і  $107,72\pm 4,00$  г/л відповідно, ( $p<0,05$ ), рівень  $HbO_2$  –  $89,38\pm 3,61$  і  $101,37\pm 3,77$  г/л відповідно, ( $p<0,05$ ). Більш значне зниження кількості еритроцитів спостерігалось на етапі 5 затравок при дії НБ в умовах холодового стресу до  $3,19\pm 0,18\times 10^{12}/л$ , при ізольованій дії НБ до  $3,95\pm 0,16\times 10^{12}/л$ , ( $p<0,05$ ), а також на етапі 15 затравок до  $3,89\pm 0,31\times 10^{12}/л$  та до  $4,84\pm 0,17\times 10^{12}/л$  відповідно ( $p<0,05$ ). Достовірно вищим був вміст MetHb: на етапі 5 затравок  $6,38\pm 0,86$  % при дії НБ в умовах холодового стресу, і  $3,52\pm 0,18$  % при дії НБ в умовах термонеутральної зони, на етапі 15 затравок  $4,40\pm 0,20$  та  $3,59\pm 0,25$  % відповідно ( $p<0,05$ ) і на етапі 30 затравок  $4,49\pm 0,40$  та  $3,48\pm 0,28$  % відповідно, зберігаючи тенденцію до достовірності ( $0,05<p<0,1$ ). Також збільшення кількості ретикулоцитів на етапі 30 затравок спостерігалось у тварин, які зазнавали дії НБ в умовах холодового стресу ( $79,20\pm 4,07$  ‰) порівняно з тваринами, які підлягали ізольованій дії НБ ( $57,17\pm 4,25$  ‰) ( $p<0,05$ ).

Характерною була поява тілець Гейнця, як при дії НБ у сполученні зі зниженою температурою, так і при дії НБ в умовах температурного комфорту. При порівнянні двох досліджених груп тварин цей показник був ви-

щий у тварин, які підлягали дії НБ у сполученні зі зниженою температурою, статистично достовірним на етапі 5 затравок:  $54,17 \pm 5,07$ , проти  $36,17 \pm 3,88$  % ( $p < 0,05$ ) та на етапі 30 затравок, зберігаючи тенденцію до достовірності:  $66,00 \pm 4,62$ , проти  $55,00 \pm 4,83$  %.

В обох групах піддослідних тварин простежувалася стійка сульфгемоглобінемія. Впродовж усього періоду спостережень рівень даного патологічного деривату гемоглобіну був достовірно вищим при сполученій дії НБ зі зниженою температурою, порівняно з дією НБ в умовах температурного комфорту: на етапі 5 затравок –  $2,80 \pm 0,24$  і  $0,780,23$  %, на етапі 15 затравок –  $2,59 \pm 0,48$  і  $1,12 \pm 0,07$  % та на етапі 30 затравок –  $2,07 \pm 0,18$  і  $1,73 \pm 0,19$  %, відповідно ( $p < 0,05$ ).

Токсична дія НБ в обох термічних режимах призводить до незначних зрушень показників лейкоцитарної формули. Відомо, що показники лейкоцитарної формули не є патогномонічними ознаками токсичної дії НБ на кров [7].

В умовах холодового стресу НБ призводив до зменшення часу згортання крові на етапі 15 та 30 затравок, тоді як в умовах температурного оптимуму зазначених змін виявлено не було.

У період відновлення прояви токсичної дії НБ у сполученні зі зниженою температурою характеризувалися тим, що вже після 5 діб і надалі зміни, які відбувалися протягом періоду затравки, мали зворотний розвиток і досягали рівня контролю, тобто повністю відновлювалися.

Дія НБ в обох серіях дослідження призводила до зміни функціонального стану ЦНС. Зменшення здатності до сумації підпорогових імпульсів, встановлене за критерієм збільшення величини СПП, на етапі 5 затравок в обох дослідних групах відображало переважання в ЦНС процесів гальмування. При порівнянні двох дослідних груп показник СПП статистично достовірно був вищим у тварин, що піддавалися дії НБ в умовах холодового стресу порівняно з тваринами, що зазнавали дії НБ в умовах температурного комфорту на етапі 5 затравок:  $6,00 \pm 0,26$  с проти  $5,00 \pm 0,26$  с ( $p < 0,05$ ).

У тварин, які зазнавали дії НБ у сполученні зі зниженою температурою, коефіцієнти маси внутрішніх органів були вірогідно вище, ніж у тварин, що піддавалися дії НБ в

умовах термонеутральної зони: печінка, серце, нирки, селезінка і нижче – сім'яники, зберігаючи тенденцію до вірогідності.

Морфологічні дослідження внутрішніх органів тварин, які піддавалися ізольованій дії лише зниженої температури  $4 \pm 2$  °С свідчать про те, що холодний чинник (стрессор) призводив до виснаження запасів ліпідів у корі надниркових залоз, а також «енергетичних запасів» у печінці. Описані зміни в органах відбивають стан функціонального напруження, яке є відповіддю організму на холододу дію, і мають оборотний характер.

При морфологічному дослідженні внутрішніх органів лабораторних тварин, які підлягали дії НБ в умовах термонеутральної зони, зазначалося: в печінці – явища гідропічної дистрофії; в нирках – мезангіопроліферативний гломерулонефрит токсичного генезу в поєднанні з інтерстиціальним нефритом; у надниркових залозах – зниження морфофункціонального стану клітин кіркової речовини; у селезінці – гіперплазія білої пульпи і посилена макрофагальна та плазмоцитарна реакція у відповідь на антигенну дію; у сім'яниках – сперматогенні клітини, клітини Сертолі та інтерстиціальні клітини нечисленні, дистрофічно змінені, клітини Лейдіга мають ознаки апоптозу; у щитоподібній залозі – проліферація екстафолікулярного епітелію й осередкова лімфоплазмоцитарна інфільтрація стромы органа.

При морфологічному дослідженні внутрішніх органів у тварин, що піддавалися сполученій дії НБ і зниженій температурі повітря, виявлялися більш виражені дистрофічні та некротичні зміни в печінці і нирках; виснаження лімфоїдного компоненту селезінки. Морфофункціональні зміни в надниркових залозах свідчили про зниження продукції гормонів кіркової речовини залоз. У сім'яниках різке стоншення сперматогенного епітелію і дегенеративні зміни клітин, що діляться, сполучалися з повним спустошенням сім'яних каналців. Морфологічні дослідження внутрішніх органів тварин контрольних груп: «контроль – знижена температура» ( $t = 4 \pm 2$  °С) і «контроль – термонеутральна зона» ( $t = 25 \pm 2$  °С) після 1 міс постекспозиційного періоду вказували на те, що в цілому використане холодове навантаження є граничним для процесів активації адаптаційних можливостей і їх вичерпаності.

При морфологічному дослідженні внутрішніх органів тварин у період відновлення виявлено ряд змін, які підтверджують посилення проявів токсичної дії НБ в умовах сполученої дії з холодним чинником, навіть після припинення дії НБ. Так, у печінці виявлена гістологічна картина хронічного активного гепатиту; в нирках – хронічного гломерулонефриту; в наднирковій залозі – наявність гістологічної картини явної атрофізації і склерозу; в селезінці – додаткова активація лімфоїдних фолікулів; зниження морфофункціональної активності раніше морфофункціонально більш активної щитоподібної залози.

В умовах підгострого токсикологічного експерименту дія НБ у сполученні зі зниженою температурою призводила до більш значного зменшення кількості сперматогоній в каналці –  $7,30 \pm 0,5$  проти  $28,9 \pm 5,4$  і гальмуванню розвитку сперми щурів, індекс сперматогенезу склав  $0,20 \pm 0,04$  проти  $0,50 \pm 0,06$  порівняно з дією НБ в умовах термонеutralної зони. Це зумовлює більш успішну регенерацію сперматогенного епітелію у тварин, що зазнавали дії НБ в умовах температурного комфорту в період відновлення.

Результати проведених досліджень гонадотоксичної дії НБ у двох різних температурних режимах указували на те, що у тварин, які зазнавали дії НБ як в умовах температурного оптимуму, так і при холодному стресі були зареєстровані суттєві зміни, що мали аналогічний характер, але з певними відмінностями залежно від температурних умов. Коефіцієнти маси сім'яників при дії НБ в сполученні зі зниженою температурою були у 3,2 рази менше від контролю, тоді як в умовах температурного оптимуму НБ призводив до зменшення цього показника лише в 1,8 рази. Кількість мертвих форм сперматозоїдів

становила 85,47 %, патологічних форм – 87 % при дії НБ в умовах холодного стресу, в умовах температурного оптимуму – 64,2 і 43,8 %, відповідно, в порівнянні з контролем; час рухливості сперматозоїдів 9,8 і 51,5 хв, відповідно. Через 30 діб після припинення експозиції НБ відновлення функціонального стану сім'яників в обох дослідних групах не відбулося. У тварин, що зазнавали впливу НБ в сполученні зі зниженою температурою, спостерігалось подальше зменшення загальної кількості сперматозоїдів у сім'янику та збільшення мертвих форм до 95,5 %.

#### Висновки

Таким чином, зважаючи на результати проведених експериментальних досліджень, можна стверджувати, що патологічні реакції при інтоксикації НБ в умовах сполученої дії зі зниженою температурою подібні тим, які спостерігалися при дії НБ в умовах термонеutralної зони. Разом з тим, холод здатний впливати на вираженість патологічних процесів, що проявлялось посиленням токсичної дії НБ. Отже, провідна роль у проявах токсичної дії належить НБ, але в сполученні зі зниженою температурою спостерігалися значно більш виражені порушення з боку таких класичних патогномонічних ознак токсичної дії НБ на червону кров, як зниження загального та оксигенованого гемоглобіну, зниження кількості еритроцитів, мет- і сульфгемоглобінемія, поява тілець Гейнца, ретикулоцитоз. Патогномонічними можна вважати зміни показників функціонального стану сперматозоїдів, які мають більш виражений характер при сполученій гонадотоксичній дії НБ та зниженій температурі, а саме: збільшення кількості патологічних форм сперматозоїдів, значне зменшення часу рухливості сперматозоїдів та зменшення коефіцієнту маси сім'яників.

#### Список літератури

1. Кундиев Ю. И. Современные проблемы комбинированного действия на организм производственных и социально-бытовых факторов (обзор литературы) / Ю. И. Кундиев, А. О. Наваткиян, В. В. Кальниш // *Врачебное дело.* – 1993. – № 5–6. – С. 35–41.
2. Основные показатели физиологической нормы у человека (руководство для токсикологов) / [Трахтенберг И. М., Тычинин В. А., Сова Р. Е. и др.] ; под ред. И. М. Трахтенберга. – К. : «Авиценна», 2001. – 372 с.
3. Чащин В. П. Труд и здоровье человека на севере / В. П. Чащин, И. И. Деденко. – Мурманск, 1990. – 104 с.

4. Кустов В. В. Комбинированное действие промышленных ядов / В. В. Кустов, Л. А. Тиунов, Г. А. Васильев. – М. : Медицина, 1975. – 256 с.
5. Кундиев Ю. И. Профессиональное здоровье в Украине. Эпидемиологический анализ / Ю. И. Кундиев, А. М. Нагорная. – К. : «Авиценна», 2007. – 396 с.
6. Кундиев Ю. И. Химическая безопасность в Украине // Ю. И. Кундиев, И. М. Трахтенберг. – К. : «Авиценна», 2007. – 72 с.
7. Василенко Н. М. Токсикология ароматических аминов и нитросоединений бензольного ряда – продуктов анилиноокрасочной промышленности : автореф. дис. на соискание учен. степени д-ра мед. наук : спец. 14.00.07 «Гигиена» / Н. М. Василенко. – Киев, 1980. – 45 с.

***Р.О. Бачинский***

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ ДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (НА ПРИМЕРЕ НИТРОБЕНЗОЛА)**

Проведено исследование целью которого являлось определение закономерностей формирования токсических эффектов при действии нитробензола (НБ) в сочетании со сниженной температурой. Результаты изучения особенностей токсического действия НБ в сочетании со сниженной температурой в подостром токсикологическом эксперименте (1 мес. затравочного периода) и периоде восстановления свидетельствуют о развитии в организме экспериментальных животных (половозрелых крысах-самцах линии WAG) патогномоничных для действия НБ сдвигов при условии, что при сочетанном действии химического фактора и сниженной температуры имеет место усиление токсического эффекта. Усиление токсического действия НБ при сочетании со сниженной температурой установлено как по критериям общей токсичности (интегральные и гематологические показатели, показатели функционального состояния сперматозоидов), так и по результатам оценки морфологических показателей (семенники, печень, селезенка, почки, надпочечники, щитовидная железа).

***Ключевые слова:*** токсическое действие, нитробензол, сочетанное действие, сниженная температура, патогномоничные сдвиги.

***R.O. Bachinskiy***

**FORMATION REGULARITIES OF THE TOXIC EFFECTS UNDER THE COMBINED ACTION OF CHEMICAL AND PHYSICAL FACTORS (THE CASE OF NITROBENZENE)**

Determination of formation regularities of toxic effects of nitrobenzene (NB) along with low temperature has been performed. The results of the study of the peculiarities of the toxic effects of NB along with low temperature in the subacute experiment (one month of exposure period) and in the recovery period testify the development of the manifestations which are pathognomonic for the action of nitrobenzene in the organism of patterns (mature male Wistar WAG rats) provided that toxic effect intensification takes place under the combined action of chemical factor and low temperature. Intensification of the toxic effects of nitrobenzene along with low temperature has been determined by the criteria of general toxicity (integral and haematological parameters and parameters of functional status of sperma), and by the results of morphological parameters (seminal vesicles, liver, spleen, kidneys, atrabiliary capsules, and thyroid gland).

***Key words:*** toxic effect, nitrobenzene, combined action, low temperature, pathognomonic manifestations.