

УДК 613.633:621

## ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЫЛИ ПРОИЗВОДСТВА ПО ОБРАБОТКЕ ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ

© 2013 г. Б. А. Петров, Е. Н. Онучина, С. Б. Петров, П. И. Цапок

Кировская государственная медицинская академия, г. Киров

В работе приведены результаты экспериментального исследования по изучению биологического действия пыли производства по обработке цветных металлов как наименее изученного загрязнителя атмосферного воздуха населенных мест. Эксперимент проведен на 30 беспородных белых крысах. Исследуемая пыль вводилась экспериментальным животным интратрахеальным способом из расчета 6,25 мг в 1,0 мл физиологического раствора при экспозиции в 6 месяцев. Животным контрольной группы вводилось эквивалентное количество физиологического раствора. Установлено, что биологическое действие пыли, входящей в состав атмосферных выбросов предприятия по обработке цветных металлов, при хроническом воздействии в малых дозах наряду с резорбтивно-токсическим эффектом характеризуется активизацией процессов свободнорадикального окисления, дестабилизацией системы антиоксидантной защиты и формированием иммунопатологических процессов.

**Ключевые слова:** хронический эксперимент, металлургическая пыль, общетоксическое действие, процессы липопероксидации, антиоксидантная активность, иммунопатологические процессы.

В структуре атмосферных выбросов предприятия по обработке цветных металлов преобладает пыль, образующаяся в процессе пирометаллургической переработки вторичного сырья. По данным эколого-гигиенических исследований [5], среднегодовые концентрации взвешенных частиц в атмосферном воздухе района размещения данного производства превышают величину референтной концентрации ( $RfC = 0,075 \text{ мг/м}^3$ ) в 1,7–3,5 раза.

В задачи настоящего исследования входило изучение в условиях хронического эксперимента биологического действия атмосферной пыли производства по обработке цветных металлов как наименее изученного в отношении действия на организм загрязнителя атмосферного воздуха населенных мест.

### Методы

В эксперименте изучалась металлургическая пыль, отобранная из газоходной системы плавильного цеха предприятия по обработке цветных металлов перед выбросом в атмосферу. Вещественный состав исследуемой пыли: оксид цинка (60,7 %), оксид меди (19,7 %), оксид железа (2,5 %), диоксид кремния (1,2 %). Содержание оксидов марганца, никеля, свинца и хрома от сотых до тысячных процента. Исследуемая пыль имела следующий дисперсный состав: частицы размером до 1 мкм составляли 23,2 %, от 1 до 2 мкм — 47,6 %, от 2 до 5 мкм — 22,8 %, свыше 5 мкм — 6,4 %.

Растворимость содержащихся в пыли цинка, меди, никеля, свинца в физиологическом растворе определялась в фильтрате после 10-дневной экспозиции в термостате (37 °C) методами атомно-абсорбционной спектроскопии, капиллярного электрофореза.

В исследовании *in vitro* хемилюминесцентным методом было проведено исследование по изучению способности металлургической пыли стимулировать активность фагоцитов и вызывать образование свободных радикалов. О влиянии частиц пыли на генерацию активных форм кислорода мононуклеарными фагоцитами (МФ) судили по изменению показателя общей светосуммы (S) за 60 секунд инкубации суспензии МФ и пылевой взвеси в термостатической кювете.

Эксперимент проведен на 30 беспородных белых крысах с исходной массой 170 — 200 г. Исследуемая пыль вводилась экспериментальным животным (15 крыс) интратрахеальным способом однократно из расчета 6,25 мг в 1,0 мл физиологического раствора. Животным контрольной группы (15 крыс) интратрахеально вводилось эквивалентное количество физиологического раствора. После введения исследуемого материала и в последующие дни гибель животных не наблюдалась. Через 6 месяцев животные забивались декапитацией. Экспериментальное

исследование проведено с учетом национальных и международных правил по условиям содержания и использования лабораторных животных и этических принципов медико-биологических исследований с участием животных.

При оценке общетоксического действия, процессов липопероксидации и состояния антиоксидантной системы у животных определялись: содержание в плазме крови общего белка, мочевины, билирубина, глюкозы, общих липидов, общего и свободного холестерина (ХС), В-липопротеидов, ферментов — аспартатаминотрансферазы (AST), аланинаминотрансферазы (ALT), начальных и конечных продуктов перекисного окисления липидов, церулоплазмينا.

Хемилюминесцентным методом на приборе Emilite EI 1105 определяли интенсивность процессов липопероксидации по показателям светосуммы вспышки за определенный отрезок времени ( $S_{30 \text{ сек}}$ ,  $S_{60 \text{ сек}}$ ) и антиоксидантную активность плазмы крови (АОА) по отношению максимального показателя фотовспышки ( $I_{\text{max}}$ ) к светосумме ( $S_{60 \text{ сек}}$ ) [6].

Оценка функционального состояния системы гуморального иммунитета, степени активности иммуннопатологических процессов включала определение в сыворотке крови иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG, IgE), циркулирующих иммунных комплексов — ЦИК.

Статистическая обработка результатов экспериментального исследования проводилась с использованием программы SPSS for Windows, версия 18. Оценка нормальности распределения показателей в опытной и контрольной группах выполнена посредством критериев Колмогорова — Смирнова и Shapiro-Wilk. Поскольку данные критерии не выявили статистически значимых различий с нормальным распределением, изучаемые показатели представлены средней арифметической и стандартной ошибкой ( $M \pm m$ ). В качестве метода оценки статистической значимости различия величин в сравниваемых группах применен критерий Стьюдента для независимых совокупностей. Критическим уровнем значимости ( $p$ ) проверки статистических гипотез принят уровень  $p < 0,05$ .

### Результаты

По данным физико-химических исследований, пыль производства по обработке цветных металлов характеризуется относительно низкой (от 0,4 до 3,8 %) растворимостью содержащихся в ней химических элементов в физиологическом растворе.

Как показали результаты исследования *in vitro*, уровень общей S через 60 секунд после начала инкубации в образце, содержащем суспензию МФ и взвесь пыли, в 2,3 раза превышает уровень общей светосуммы контрольного образца (разница статистически значима —  $p < 0,05$ ).

В табл. 1 приведены результаты биохимических исследований по оценке интегральных показателей общей токсичности изучаемого образца пыли.

Таблица 1  
Биохимические показатели плазмы крови экспериментальных животных ( $M \pm m$ )

Показатель	Опытная группа	Контрольная группа
Общий белок, г/л	79,60±3,10*	68,8±2,30
Мочевина, ммоль/л	4,74±0,32*	3,64±0,28
Билирубин, мкмоль/л	34,30±1,88*	15,53±0,87
Глюкоза, г/л	3,18±0,13*	3,82±0,20
Общие липиды	3,68±0,09*	2,35±0,08
Общий ХС, ммоль/л	2,64±0,06*	1,93±0,05
Свободный ХС, ммоль/л	0,88±0,04*	0,52±0,03
В-липопротеиды, г/л	1,42±0,11*	0,61±0,09
ALT, мккат/л	0,27±0,03*	0,18±0,01
AST, мккат/л	0,44±0,04*	0,24±0,03
AST/ALT	1,63±0,08*	1,33±0,05

Примечание. \* — различия с контролем статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Как видно из данной таблицы, у животных, затравленных пылью производства по обработке цветных металлов, по сравнению с животными контрольной группы отмечается статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение содержания в плазме крови общего белка, мочевины, билирубина, общих липидов, В-липопротеидов, общего и свободного ХС, ферментов AST и ALT, значения коэффициента Ритиса (AST/ALT), снижение уровня глюкозы.

Из приведенных в табл. 2 данных по характеристике процессов липопероксидации видно, что у животных опытной группы по сравнению с контролем отмечается статистически значимое увеличение таких показателей хемилюминесценции плазмы крови, как  $S_{30 \text{ сек}}$ ,  $S_{60 \text{ сек}}$  ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2  
Характеристика процессов липопероксидации и антиоксидантной активности ( $M \pm m$ )

Показатель	Опытная группа	Контрольная группа
( $S_{30 \text{ сек}}$ , имп.)	1142,8±42,4*	698,2±30,5
( $S_{60 \text{ сек}}$ , имп.)	2386,2±52,4*	1118,6±44,8
Диевые конъюгаты, усл. ед.	0,190±0,01*	0,102±0,005
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	2,78±0,14*	0,72±0,28
АОА ( $I_{\text{max}}/S_{60 \text{ сек}}$ )	0,039±0,003*	0,094±0,005
Церулоплазмин, г/л	132,4±10,2*	104,4±9,52
Витамин Е, мг/л	3,84±0,29*	7,52±0,51

Примечание. \* — различия с контролем статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

В плазме крови животных опытной группы по сравнению с животными контрольной группы наблюдается статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение уровня диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот, малонового диальдегида.

При оценке антиоксидантной активности у живот-

ных опытной группы по сравнению с контролем отмечается статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение показателя АОА ( $I_{\max} / S_{60\text{сек}}$ ), уровня содержания в плазме крови витамина Е и церулоплазмينا.

Как видно из приведенных в табл. 3 данных иммунологических исследований, у животных опытной группы по сравнению с контролем отмечается статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение в плазме крови уровней IgA, IgM и увеличение уровней IgG, IgE, ЦИК.

Таблица 3  
Показатели гуморального иммунитета у экспериментальных животных ( $M \pm m$ )

Группа животных	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л	IgE, г/л	ЦИК, ед.
Опытная	0,168 $\pm$ 0,006*	0,197 $\pm$ 0,007*	1,827 $\pm$ 0,02*	0,162 $\pm$ 0,035*	17,25 $\pm$ 1,18*
Контрольная	0,218 $\pm$ 0,003	0,282 $\pm$ 0,01	1,375 $\pm$ 0,08	0,075 $\pm$ 0,001	5,83 $\pm$ 0,14

Примечание. \* — различия с контролем статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

### Обсуждение результатов

Согласно современным представлениям, общим в механизме токсического действия тяжелых металлов является их способность влиять на белковый, жировой и углеводный обмен, окислительно-восстановительные процессы, вызывать повреждения ДНК, окислительный стресс, индикатором которого являются повышенный уровень диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Следует отметить, что тяжелые металлы обладают исключительно высокой способностью к кумуляции [1, 7, 8].

Результаты биохимических исследований по оценке интегральных показателей общей токсичности пыли производства по обработке цветных металлов свидетельствуют об ее выраженном резорбтивно-токсическом действии, которое проявляется в виде нарушения со стороны белкового, жирового и углеводного обмена. Несмотря на низкую растворимость содержащихся в исследуемой пыли тяжелых металлов, постоянное их поступление в организм подопытных животных при длительной экспозиции способствует проявлению токсического эффекта.

Современные представления о молекулярных и клеточных механизмах патогенного действия пылевых частиц связаны с пагубным воздействием на фагоцитирующие их мононуклеарные и полиморфно-нуклеарные лейкоциты благодаря способности стимулировать избыточное длительное образование активных форм кислорода [2, 3]. По данным исследования *in vitro*, пыль производства по обработке цветных металлов способна стимулировать активность фагоцитов и вызывать образование свободных радикалов, обладающих высокой химической активностью.

Свободные радикалы, реагируя с ненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав мембранных липидов, инициируют цепную реакцию их перекисидации. Одним из биофизических эффектов

липоперекисидации является появление хемилюминесценции при рекомбинации пероксидных радикалов с образованием неустойчивого тетроксидов, распад которого сопровождается выделением кванта света [4]. В нашем эксперименте об интенсификации процессов липоперекисидации при воздействии исследуемого образца пыли свидетельствует статистически значимый повышенный уровень такого показателя хемилюминесценции плазмы крови, как общая светосумма.

Активизация процессов липоперекисидации подтверждается также статистически значимым увеличением уровней содержания в плазме крови животных опытной группы начальных и конечных продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот, малонового диальдегида.

Статистически значимое снижение в плазме крови животных опытной группы показателя АОА ( $I_{\max} / S_{60\text{сек}}$ ) и уровня содержания одного из основных антиоксидантов — медьсодержащего белка церулоплазмينا свидетельствует о значительном ослаблении активности системы антиоксидантной защиты при хроническом воздействии исследуемой пыли. О дестабилизации системы антиоксидантной защиты свидетельствует также статистически значимое снижение в плазме крови животных опытной группы уровня содержания витамина Е.

По данным иммунологических исследований, металлургическая пыль при хроническом воздействии вызывает сенсibilизацию организма подопытных животных, сопровождающуюся иммуносупрессией и развитием иммунопатологических процессов.

Таким образом, биологическое действие пыли, входящей в состав атмосферных выбросов предприятия по обработке цветных металлов, при хроническом воздействии в малых дозах наряду с резорбтивно-токсическим эффектом характеризуется активизацией процессов свободнорадикального окисления, дестабилизацией системы антиоксидантной защиты и формированием иммунопатологических процессов.

### Список литературы

1. Батян А. Н., Фрумин Г. Т., Базылев В. Н. Основы общей и экологической токсикологии. СПб.: СпецЛит, 2009. 352 с.
2. Величковский Б. Т. Молекулярные и клеточные механизмы защиты органов дыхания от неблагоприятного воздействия // Гигиена и санитария. 2001. № 5. С. 16–20.
3. Величковский Б. Т., Петров Б. А. Производственные аэрозоли в металлургии цветных металлов. Киров, 2003. 132 с.
4. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. 1998. № 7. С. 43–51.
5. Петров С. Б., Онучина Е. Н., Петров Б. А. Эколого-эпидемиологическое исследование по оценке влияния атмосферных выбросов // Экология человека. 2012. № 3. С. 11–15.
6. Цапков П. И., Кудрявцев В. А. Билюминесцентный анализ интенсивности перекисного окисления липидов // Информационный листок № 160–95 Кировского ЦНТИ. Киров, 1995. 2 с.

7. Rangelova K., Bonini M., Mason R. (Bi)sulfite Oxidation by Copper,Zinc-Superoxide Dismutase: Sulfite-Derived, Radical-Initiated Protein Radical Formation // *Environ. Health Perspect.* 2010. Vol. 118, N 7. P. 970–975.

8. Whitfield J., Dy V., McQuilty R., Heath A. Genetic Effects on Toxic and Essential Elements in Humans: Arsenic, Cadmium, Copper, Lead, Mercury, Selenium, and Zinc in Erythrocytes // *Environ. Health Perspect.* 2010. Vol. 118, N 6. P. 776–782.

#### References

1. Batyan A. N., Frumen G. T., Bazylev V. N. *Osnovy obschey i ekologicheskoy toksikologii* [Bases of the common and ecological toxicology]. Saint Petersburg, 2009, 352 p. [in Russian]

2. Velichkovskiy B. T. Molecular and cellular mechanisms of protection of respiratory organs from an adverse effect. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2001, no. 5, pp. 16-20. [in Russian]

3. Velichkovskiy B. T., Petrov B. A. *Proizvodstvennyye aeroli v metallurgii tsvetnykh metallov* [Aerosols in metallurgy of non-ferrous metals]. Kirov, 2003, 132 p. [in Russian]

4. Vladimirov Yu. A. Free radicals and antioxidants. *Vestnik RAMN* [Newsletter of Russian Academy of Medical Sciences]. 1998, no. 7, pp. 43-51. [in Russian]

5. Petrov S. B., Onuchina E. N., Petrov B. A. Ecological and epidemiological research according to influence of atmospheric emissions of the city industry and power stations on population health. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2012, no. 3, pp. 11-15. [in Russian]

6. Tsapoc P. I., Cudryavtsev V. A. Bioluminescent analysis of intensity of lipids peroxidation. *Inf. Listok N 160-95 Cirovscogo TSNTI* [Newsletter no. 160-95 of Kirov Scientific and Technical Information Center]. 1995, 2 p. [in Russian]

7. Rangelova K., Bonini M., Mason R. (Bi)sulfite Oxidation by Copper, Zinc-Superoxide Dismutase: Sulfite-Derived, Radical-Initiated Protein Radical Formation. *Environ. Health Perspect.* 2010, vol. 118, no. 7, pp. 970-975.

8. Whitfield J., Dy V., McQuilty R., Heath A. Genetic Effects on Toxic and Essential Elements in Humans: Arsenic, Cadmium, Copper, Lead, Mercury, Selenium, and Zinc in Erythrocytes. *Environ. Health Perspect.* 2010, no. 6, vol. 118, pp. 776-782.

#### ASSESSMENT OF BIOLOGICAL EFFECT OF DUST OF NON-FERROUS METALS PROCESSING PRODUCTION

B. A. Petrov, E. N. Onuchina, S. B. Petrov, P. I. Tsapoc

Kirov State Medical Academy, Kirov, Russia

Results of a pilot experiment on studying of biological effect of dust of non-ferrous metals processing production as the least studied pollutant of conglomerations' atmospheric air have been presented. The experiment was conducted with use of 30 outbred white rats. The studied dust was administered in the experimental animals by the intratracheal way in the dose 6.25 mg per 1.0 ml of on exposition 6 months. The animals of the control group were administered equivalent quantity of normal saline solution. It has been established that biological effect of the dust which was a part of the atmospheric emissions of the non-ferrous metals processing enterprise during chronic influence in small doses, along with the resorptive-toxic effect, was characterized by activation of processes of free radical oxidation, destabilization of the system of antioxidant protection and formation of immunopathological processes.

**Keywords:** chronic experiment, metallurgical dust, general toxic action, lipoperoksidation processes, antioxidatic activity, immunopathological processes

#### Контактная информация:

Петров Борис Алексеевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья и ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» Минздрава России

Адрес: 610027, г. Киров, ул. Карла Маркса, д. 112

Тел. (8332) 35-70-95

E-mail: bapetrov@mail.ru