

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ  
УКРАИНСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МЕДИЦИНЫ ТРАНСПОРТА

На правах рукописи

ДОРЕНСКИЙ ВЛАДИМИР СЕРГЕЕВИЧ

ТОКСИКО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ НИТРАТОВ И  
НИТРИТОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДОЧНО-  
КИШЕЧНОГО ТРАКТА  
(экспериментальное исследование)

(14.00.07 - гигиена)

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Одесса - 1994



Дисертація являється рукописом

Робота виконана в Україні  
медицини

**Научні керівники:**

доктор медических наук, професор Гоженко Анатолій Іванович

доктор медических наук, професор Войтенко Анатолій Михайлович

**Офіційні опоненти:**

доктор медических наук

Розанов Всеволод Анатольевич

доктор медических наук

Башмакова Наталія Васильевна

**Ведущая організація:**

Київський інститут удосконалення лікарів МЗ України

Захита состоится «.....» \_\_\_\_\_ 1994 г. на заседании специализированного совета К 074.22.01 при Украинском научно-исследовательском институте медицины транспорта МЗ Украины (270039, г.Одесса, ул. Свердлова, 92)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Украинского научно-исследовательского института медицины транспорта МЗ Украины

Автореферат разослан «.....» \_\_\_\_\_ 1994 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета

Ненжмакова Н.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ.** Нитраты, нитриты и другие азотсодержащие соединения в настоящее время привлекают особое внимание гигиенистов. Это связано с тем, что увеличение применения азотных веществ в промышленности и в сельском хозяйстве привело к возрастанию уровня кислородсодержащих азотных соединений в окружающей среде. Основная часть этих соединений накапливается в почве и воде в виде нитрат-нитритных ионов и солей аммония (В.Н.Ж. Florin, G. Neale, J. H. Cummings, 1989; О.И.Цыганенко, М.В.Набока, В.С.Лапченко и др., 1989; И.С. Чекман, Л.И.Казак, 1993; В.П.Реутов, С.Н.Орлов, 1993).

Значительное накопление нитратов и нитритов в почве, в грунтовых водах, пищевых продуктах и кормах стало причиной ряд заболеваний среди людей и животных (Н.И.Опополь, 1986; Я.И.Ажиба, В.П.Реутов, Л.П.Каюшин, 1990; О.И.Цыганенко, 1990; ).

Гигиенистами разработаны нормативы, по установлению предельно допустимых концентраций в воде нитратов и нитритов (Р.Д.Габович, Л.С.Припутина, 1987).

Следует отметить, что имеющиеся в литературе работы по изучению патогенеза нитрат-нитритной интоксикации посвящены, в основном, состоянию системы красной крови, обмена веществ, сердечно-сосудистой, дыхательной и выделительной систем (М.М.Середенко, 1987; А.И.Гоженко, А.С. Федорук, 1987-1993; В.И.Метелица, 1993). В то же время, встречаются лишь единичные работы, в которых приводятся немногочисленные данные о влиянии различных доз нитратов и нитритов на функции органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Между тем, органы пищеварительной системы являются связующим звеном между организмом и внешней средой, что позволяет предположить возможность многообразных нарушений их функций в условиях нитрат-нитритной интоксикации.

Так же известно, что нитритные ионы, попадая из кишечника в кровь, приводят к образованию вначале нитрозогемоглобин, трансформирующегося в метгемоглобин, неспособный осуществлять обратное связывание кислорода, в результате чего наступает гемическая гипоксия. Метгемоглобинемия, в свою очередь, вторично может оказывать патологическое влияние на органы желудочно-кишечного тракта. Особенно значительно может страдать тонкая кишка, т.к. она относится к органам с наиболее высоким уровнем окислительного метаболизма и здесь осуществляется активный транспорт всех нутриентов из просвета кишечника во внутреннюю среду организма.

Однако в литературе практически отсутствуют сведения о характере влияния нитратов и нитритов на функциональное состояние и особенности функционирования желудочно-кишечного тракта при острой и хронической нитрат-нитритной интоксикациях, не выявлены его компенсаторные возможности в этих условиях. Не исследовано влияние различных доз нитратов и нитритов, не установлены окончательно пути и скорость выведения нитрат-нитритных ионов из организма при поступлении их через желудочно-кишечный тракт.

Следовательно, изучение состояния, механизмов нарушения и компенсации желудочно-кишечных тракта может способствовать более обоснованной и глубокой токсико-гигиенической оценке действия нитрат-нитритных ионов на организм человека и животных.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ.** Изучить влияние кислородсодержащих неорганических соединений азота на некоторые показатели функционального состояния желудочно-кишечного тракта у крыс для совершенствования гигиенического нормирования нитратов и нитритов.

**ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.** 1. Используя различные методические подходы изучения обмена натрия, калия и воды в ЖКТ, выяснить и уточнить патогенность нитрат-нитритных ионов.

2. Изучить влияние нитратов и нитритов на функциональное состояние органов желудочно-кишечного тракта в опытах на крысах *in vivo*, *in situ* и *in vitro* исследовать действие их различных доз на обмен натрия, калия и воды в различных участках кишечника.

3. Исследовать интенсивность и направленность транспорта натрия и воды в тонкой и толстой кишке как в условиях острого воздействия, однократных доз нитратов и нитритов при введении в желудок, так и при хронической интоксикации этими соединениями.

4. На экспериментальных моделях (изолированная перфузирванная петля кишки и аккумулирующий препарат её слизистой) оценить влияние нитратов и нитритов на тонкий кишечник, уточнить и обосновать дозы этих соединений, вызывающие нарушения транспорта натрия, калия и воды.

5. Изучить влияние метгемоглобинемии и гемической гипоксии, вызванных поступлением нитрат-нитритных ионов в организм, на транспорт натрия, калия и воды в тонкой кишке.

6. Провести сравнительное изучение влияния нитратов и нитритов на функциональное состояние ЖКТ.

7. Изучить динамику метгемоглобинемии у крыс при острой интоксикации нитратами после введения в желудок.

9. Исследовать влияние введения в желудок нитратов и нитритов на функциональное состояние почек у крыс.

10. Изучить в эксперименте при острых интоксикациях выведение нитрат-нитритных ионов почками у крыс.

- НАУЧНАЯ НОВИЗНА:**
- впервые раскрыты характер и степень нарушения функции желудочно-кишечного тракта, которые происходят при попадании в организм животных различных доз нитрат-нитритных ионов;
  - впервые в гигиенических исследованиях использованы методы *in situ* перфузированной петли кишечника и *in vitro* аккумулялирующего препарата слизистой тонкой кишки для изучения нитрат-нитритных интоксикаций;
  - впервые показано, что при острой и хронической интоксикации нитритами и нитратами выявляются признаки нарушения состояния водно-солевого баланса в желудочно-кишечном тракте;
  - впервые установлено, что в патогенез нарушения функций ЖКТ играет роль как непосредственное действие нитратов и нитритов на слизистую пищеварительной системы, так и последствия вторичного действия гемической гипоксии, вызванной нитритной метгемоглобинемией;
  - впервые установлено, что наиболее выраженным и постоянным нарушением функций ЖКТ при нитрат-нитритной интоксикации является угнетение транспорта натрия и воды, преимущественно в желудке, в 12-перстной и тощей кишке;
  - впервые установлено, что нарушение функционального состояния ЖКТ с угнетением инсорбции натрия при нитритной интоксикации и при гемической гипоксии, особенно тяжелой и средней тяжести, наблюдается не только в период нахождения нитратов в пищеварительной системе, но и в течение ближайших 24 часов после введения нитрита натрия;
  - проведено сравнительное изучение токсичности нитратов и нитритов на ЖКТ;
  - исследована динамика метгемоглобинемии и концентрации нитрат-нитритных ионов в крови после введения этих соединений *per os*;
  - впервые изучено функциональное состояние почек при введении в желудок нитратов и нитритов;
  - впервые обоснована методика оценки экологической нагрузки нитратами и нитритами по изучению их экскреции с мочой.

#### **ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ.**

Разработанные методы и дифференцированный подход к изучению влияния нитрат-нитритных ионов на органы ЖКТ позволяют более эффективно и быстро обнаруживать действия антиалиментарных факторов

на организм человека и животных, что дает возможность более точного нормирования содержания нитратов и нитритов, а так же различных химических веществ в пищевых продуктах и воде.

Данные о состоянии, механизмах нарушения, компенсации функции ЖКТ могут способствовать углублению имеющихся в литературе представлений о патогенезе нитрат-нитритных интоксикаций. Наряду с этим, знание характера нарушений функции желудочно-кишечного тракта может послужить основой для совершенствования диагностики и профилактики интоксикаций нитратами, нитритами и другими метгемоглобин-образователями.

Разработанная методика оценки величины экологической нагрузки нитратами и нитритами позволяет осуществлять массовый скрининг населения при гигиенических исследованиях.

**ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.** 1. Для гигиенического нормирования веществ, поступающих в организм человека *per os*, могут успешно использоваться методики *in situ* - перфузированной петли тонкой кишки и *in vitro* - аккумулялирующего препарата тонкой кишки.

2. Нитриты и нитраты оказывают влияние на функциональное состояние ЖКТ, изменяя характер и интенсивность транспорта воды, натрия и калия в слизистой оболочке в зависимости от дозы вводимых веществ.

3. Токсическое действие нитритов и нитратов на ЖКТ является следствием их непосредственного влияния и системных эффектов (метгемоглобинемии и гемической гипоксии)

4. Почки животных эффективно выводят нитрат-нитритные ионы из организма при острых и хронических интоксикациях, несмотря на патологические изменения в них, что позволяет доступно и достоверно оценивать экологическую нагрузку по величинам экскреции этих ионов.

**АПРОВАЦИЯ РАБОТЫ.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции "Актуальные вопросы гигиены и экологии транспорта" (Ильичевск, 1992), на Одесской областной научной конференции, посвященной морфологии, физиологии, патологии пищеварения (Одесса, 1993), на Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта" (Одесса, 1993), на Всероссийской научной конференции "Фармакология водно-солевого обмена" (Чебоксары, 1993), на заседаниях отдела профпатологии, профилактики и реабилитации Украинского НИИ "Медицина транспорта" по изучению влияния нитрат-нитритной интоксикации на органы желудочно-кишечного тракта.

**ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.** По теме диссертации опубликовано 20 работ, утверждено 2 рационализаторских предложения и одно изобретение. Внедрены методические указания "Методы изучения почек при токсико-гигиенических исследованиях"

**ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ.** Работа изложена на 150 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 таблицами, 26 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, описания методик и материала, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, указателя литературы, в котором приводятся 200 источников, в том числе 150 отечественных и 50 зарубежных авторов.

Работа выполнена согласно теме, утвержденная Ученым Советом Украинского НИИ "Медицина транспорта" МЗ Украины.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 1. Материалы исследования и условия эксперимента.

В опытах на 88 белых нелинейных крысах массой от 150 до 200 г. изучено функциональное состояние желудочно-кишечного тракта и некоторые показатели водно-солевого обмена при нитрат-нитритных интоксикациях. Все животные до и после воспроизведения моделей содержались в условиях вивария на рационе с постоянным содержанием минеральных веществ и свободном доступе к воде. Опыты проводили в специальном помещении при температуре 18-20°C, относительной влажности 40%-60% и освещенности 250 люкс.

Подготовка животных к экспериментам, все инвазивные вмешательства, обезболивание и выведение из опыта осуществлялись в соответствии с приказом МЗ СССР №755 от 12.08.77г. "О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных". Оперативное вмешательство осуществляли на фоне нембуталовой анестезии (40 мг/кг). С целью исключения возможного влияния на показатели деятельности органов пищеварительной системы сезонных и суточных биоритмов, каждая опытная серия крыс сравнивалась со своим параллельно поставленным контролем, в том числе близким по массе тела.

## II. Экспериментальные модели.

Острую нитритную интоксикацию воспроизводили однократным введением зондом в желудок 0,01% и 0,1% водных растворов нитрита натрия из расчета 5% от массы тела, вызывая гипоксию легкой и средней тяжести. (Ф.Н.Субботин, 1963; Н.Ф.Иваницкая, 1976; М.М.Середенко, 1987; А.И.Гоженко, А.М.Войтенко, 1991).

При введении нитрита натрия дозой 75 мг/кг массы тела тем же способом, вызывали тяжелую гипоксию (Г.Ф.Иваницкая, 1975; М.М.Середенко, 1987; А.С.Федорук, 1991).

Исследования функций желудочно-кишечного тракта проводили в течение первых двух часов после введения нитрита натрия, в период непосредственного влияния нитрита натрия на желудок и тонкую кишку и образования в крови максимального количества метгемоглобина и через 24 часа. (А.М.Уголев, 1985; М.М.Середенко, 1987).

Хроническую интоксикацию и гемическую гипоксию средней степени тяжести вызывали свободным питьем крысами 0,03% раствором нитрита натрия в течение трех месяцев. Так же этим же раствором поили беременных крыс и продолжали поить потомство до трех месяцев.

## III. Исследование деятельности желудочно-кишечного тракта.

Изучение процессов транспорта воды и электролитов производили в кишечнике в условиях целостного организма, т.е. в опытах *in vivo*, а также использовали метод перфузии различных участков кишечника - *in situ* (А.М.Уголев и соавт., 1981).

Перед началом исследования петлю кишки длиной 15-20 см промывали 20 мл р-ра перфузата. Перфузию петель кишечника проводили теплым (37°C) изотоническим раствором со скоростью 0,22 мл/мин. Транспортные процессы в кишечнике регистрировали в течении 2 часов после 30 мин. стабилизации.

Определение абсорбции или энтеросорбции воды и минеральных веществ производили путем измерения их концентрации в растворе до и после перфузии. В качестве показателей водно-солевого баланса у опытных и контрольных крыс в тканях желудочно-кишечного тракта и в их внутреннем содержимом определяли содержание натрия, калия с расчетом их натрий-калиевого коэффициента (НКК) и воды. Исследовали концентрацию натрия, калия, белка и осмотически активных веществ в плазме крови. Содержимое воды в тканях находили методом высушивания навески ткани при температуре 105°C до постоянного веса и выражали в процентах. Натрий и калий в тканях определяли после предварительной экстракции пон-

селективным методом на приборах фирмы "Radelkis". Готовили стандартные растворы для определений с содержанием обоих электролитов, концентрацию выражали в ммоль/кг сырого веса. Концентрацию осмотически активных веществ в плазме крови определяли криоскопическим методом на ОМКА-1-01, концентрацию белка в плазме крови - рефрактометрическим методом. Ионметрическим методом определяли водородный показатель среды (рН) и спектрометрическим - хлориды, креатинин.

Исследования *in vitro* производили на вывернутых, заполненных 10% сахарным раствором „кишечных мешочках“ крыс, на аккумулирующем препарате слизистой (АПС) (А.М.Уголев, Б.З.Зарипов, 1979).

Таблица 1

Состав инкубирующего раствора для аккумулирующего препарата тонкого кишечника

Наименование в-ва	Единицы измерения	Контроль	Опыт
NaCl	мМоль/л	135	131
NaNO <sub>3</sub>	мМоль/л	-	14
KCl	мМоль/л	4,4	4,4
CaCl <sub>2</sub>	мМоль/л	2,5	2,5
MgSO <sub>4</sub>	мМоль/л	1,18	1,18
NaHCO <sub>3</sub>	мМоль/л	5,0	5,0
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	мМоль/л	1,84	1,84
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	мМоль/л	0,46	0,46
Глюкоза	мМоль/л	12,2	12,2

Поддерживали температуру 37°C, аэрацию среды, рН - 7,4 (А.М.Уголев, 1979; Р.Б.Косуба, 1990).

#### IV. Обработка результатов исследования.

Расчеты транспорта воды и электролитов производили на 1 см<sup>2</sup> поверхности кишечника. Проницаемость клеток для различных веществ оценивали с использованием коэффициента их распределения между органами тела и плазмой крови, который определяется по формуле:

$$Q = \text{Сорг} / \text{Спл}, \quad \text{где}$$

Q - коэффициент распределения;

Сорг - концентрация вещества в органе, ммоль/кг;

Спл - концентрация вещества в плазме, ммоль/л

О функционировании тонкого кишечника судили по величине и составу химуса, полученному при часовой перфузии участка тонкого кишечника. Для этого рассчитывали "относительный" химус (химус / перфузат \* 100%), а также величину балансового потока в отделе пищеварительного тракта каждого из исследуемых нутриентов по формуле:

$$M_{\text{хим}} = C_{\text{хим}} * V_{\text{хим}}, \text{ где}$$

$M_{\text{хим}}$  - величина балансового потока вещества;

$C_{\text{хим}}$  - концентрация вещества в химусе;

$V_{\text{хим}}$  - объем химуса.

По величине потока креатинина определяли кишечный клиренс креатинина:

$$C_{\text{кр}} = M_{\text{кр хим}} / P_{\text{кр}}, \text{ где}$$

$P_{\text{кр}}$  - концентрация креатинина в плазме крови.

Далее рассчитывали абсорбцию воды в кишечнике:

$$R_{\text{H}_2\text{O}} = (V_{\text{пер}} + C_{\text{кр}}) - V_{\text{хим}}, \text{ где}$$

$V_{\text{пер}}$  - объем перфузата.

Учитывая абсорбцию воды, определяли транспорт и абсорбцию нутриентов в перфузированном участке тонкого кишечника:

$$T_n = [C_{\text{кр}} - (V_{\text{пер}} - V_{\text{хим}})] * P_n;$$

$$P_n = (V_{\text{пер}} - V_{\text{хим}}) * P_n - (M_{\text{н пер}} - M_{\text{н хим}}), \text{ где}$$

$T_n$  - транспорт нутриента;

$P_n$  - концентрация нутриента в крови.

#### V. Изучение функции желудочно-кишечного тракта и почек в условиях хронического эксперимента.

При изучении длительного воздействия нитратов и нитритов на организм животного или отдаленных последствий, опыты проводились в специальных "метаболических клетках", приспособленных для кормления, поения животных и сбора мочи.

Для сравнения состояния транспорта натрия, калия и воды в кишечнике и в почках в различные периоды гемической гипоксии исследовали некоторые показатели водно-солевого обмена в этих органах. Опытным животным добавляли в воду нитрит натрия, концентрация которого составляла 0,03%. Крыс кормили зерном, сбор мочи и учет выпитой жидкости производился за 24 часа. Рассчитывали относительный диурез: отношение величины диуреза к количеству потребленной жидкости, выраженное в процентах.

В моче определяли концентрации натрия, калия, осмотически активных веществ (ОАВ), белка, титруемых кислот, аммиака и креатинина

(А.И.Гоженко, В.С.Кришталь, А.С.Федорук 1989; ). В крови дополнительно определяли кислотно-основное состояние (КЩС) ионометрическим способом при помощи ОР - 215 фирмы "Radelkis", гемоглобин определяли по методу Сали, мет.гемоглобин определяли фотоэлектроколлометрическим методом описанным Н.Ф.Боярчуком (1966).

Функцию почек оценивали по выделению ряда веществ с мочой. Так, экскреция креатинина рассчитывалась по формуле (Наточин Ю.В., 1974):

$$Ec_{cr} = U_{cr} \times V, \text{ где}$$

$U_{cr}$  - концентрация креатинина в моче,

$V$  - диурез.

Таким же образом рассчитывали экскрецию с мочой за сутки титруемых кислот, аммиака, белка, натрия, калия и других веществ.

Расчитывали клиренс креатинина как показатель клубочковой фильтрации:

$$C_{Kt} = U_{Kt} \times V / P_{Kt}$$

и фильтрационную фракцию осмотически активных веществ:

$$FF_{Oav} = C_{Kt} \times P_{Osm}, \text{ где}$$

$P_{Osm}$  - концентрация осмотически активных веществ в плазме крови.

Расчет канальцевой реабсорбции производили клиренсным методом по креатинину:

$$R_{\%} = (K-1) \times 100 / K, \text{ где } K = U/P$$

В пробах концентрацию креатинина определяли тестами фирмы "Lachema".

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 1. Влияние максимально недействующих доз нитрат-нитритных ионов на органы пищеварительной системы и организм в целом.

В проведенных экспериментах на крысах по методу С.Ф.Согі (1924) выявлено, что нитриты, вводимые в виде водных растворов зондом через желудок дозы 70 и 210 мкмоль/кг массы тела, вызывают незначительное повышение метгемоглобина в крови (3-7%), соответствующие гемической гипоксии легкой степени тяжести (Рис. 1)

При исследовании содержимого просвета желудка через два часа после введения раствора нитрита натрия в максимально недействующей дозе были обнаружены изменения в содержании воды и электролитов: количество воды увеличилось на 10,3%, калия - на 11,5%, а содержание хлоридов уменьшилось на 8,4%. Водородный показатель (рН) желудочного сока снижался в зависимости от количества поступивших нитритных ионов в организм - чем

больше нитритных ионов поступало в жел. дох, тем ниже была кислотность желудочного содержимого. Все показатели изменялись с увеличением дозы нитрита натрия. В содержимом кишки как тонкой, так и толстой существенных отличий не обнаружено.

В крови у крыс, испытывавших нитрат-нитритное воздействие МНД, метгемоглобин составил  $3,4 \pm 0,47\%$ , (легкая метгемоглобинемия), содержание  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  не отличалось от контроля. Все основные показатели кислотно-щелочного равновесия (КЩР) крови не изменились ( $\text{pH} = 7,378 \pm 0,038$ ;  $\text{pCO}_2 = 28,3 \pm 0,65$  к.па и т.д.) и соответствовали контролю.

Из выше изложенных данных следует, что при действии МНД нитритов нарушений в водно-солевом обмене в органах ЖКТ не происходит, с исключением незначительных сдвигов некоторых показателей в желудке.

В опытах *in situ* на изолированной петле тонкой кишки обнаружено, что нитритные ионы, в дозах, которые считаются максимально недействующими, благоприятно влияют на ионный обмен между просветом кишечника и кровью. При введении МНД водного раствора нитрита натрия в полость изолированного участка кишечника, скорость инсорбции натрия увеличилась на 6%, а калия - на 22%, усиливалась хотя и незначительно, реабсорбция воды, составив 2,3 мл/час (Таблица 2). Нитрат-нитритные ионы усиленно секретировались в просвет кишечника.

Таким образом, нитрат-нитритные ионы в максимально недействующих дозах вызывают легкую метгемоглобинемию, а также оказывают стимулирующее влияние на транспортные процессы и обмен натрия, калия и воды в кишечнике.

## II. Влияние нитрат-нитритных растворов предельно допустимых концентраций на водно-солевой обмен ЖКТ

При введении крысам зондом в желудок раствора нитрита натрия в предельно допустимой концентрации, тем самым у крыс вызывали среднюю степень интоксикации по образованию метгемоглобина ( $50 \text{ мг/кг}$  массы тела), через два часа были обнаружены незначительные изменения в их поведении, цианоз, а при вскрытии на всех органах ЖКТ отчетливо регистрировалась гипермия.

В химусе было обнаружено снижение pH, увеличение содержания воды в слизистых тонкой и толстой кишки на 2-4% и натрий-калиевого коэффициента.

Если при нитрат-нитритной интоксикации легкой степени тяжести нитриты на органы ЖКТ оказывают своё действие непосредственно, то при средней тяжести интоксикации добавляется еще ряд компонентов, которые

оказывают вторичные негативные действия - это метгемоглобинемия (MetHb=37-45%), уменьшение кислородной емкости крови, компенсированный метаболический ацидоз.

В опытах на перфузированном, изолированном участке тонкой кишки установлено: увеличение объема содержимого в 10 раз; содержание ионов натрия в 4 раза; калия в 6 раз; концентрация эндогенного креатинина увеличилась в 5 раз. Скорость транспорта натрия в кишечнике в 5 раз выше контрольного показателя, а реабсорбция воды - в 7 раз выше (Таблица 3).

Об увеличенном проникновении ионов  $\text{Na}^+$  и воды через слизистую оболочку свидетельствуют опыты *in vitro*, на аккумулярующем препарате тонкой кишки (вывернутые мешочки). После 30 минутной инкубации "вывернутого мешочка" в азированном растворе Рингера, содержащий нитрит натрия 0,1%, увеличилась масса мешочка на 58,6%, содержание воды выше на 2-4% и натрия на 25,2<sup>0</sup> (Рис 2). Натрий-калиевый коэффициент возрос до 0,22.

Таким образом, нитриты, действуя на слизистую тонкого кишечника, способствуют усиленному проникновению натрия и воды внутрь клеток, тем самым увеличивая транспорт этих нутриентов из полости в кровь и наоборот.

### III. Влияние нитрат-нитритной интоксикации и гемической гипоксии тяжелой степени тяжести на водно-солевой обмен в ЖКТ.

Введение животным нитрита натрия в дозе 3,5 мМоль/кг приводило к более значительным нарушениям: у крыс развивается тяжелое гипоксическое состояние с выраженным цианозом видимых слизистых оболочек, тахипное, летальный исход наступил на 20 минуте. При вскрытии обнаружены кровяные излияния в печени, почках, селезенке, сердце, легких, слизистой желудочно-кишечного тракта. В брюшной полости, в просвете кишечника отчетливо выделялись участки, заполненные кишечным газом, в тимусе обнаружена кровь, в грудной полости увеличено количество серозной жидкости.

При этом метгемоглобин достигал 58-70% (тяжелая степень метгемоглобинемии). Развивался некомпенсированный ацидоз, рН крови составил  $7,268 \pm 1,231$ . Парциальное давление кислорода понизилось до  $3,82 \pm 1,601$  кПа, произошло уменьшение концентрации карбонатного иона и углекислого газа, величина избытка буферных оснований составила  $-16,1 \pm 2,39$  мМоль/л. В крови обнаружено отклонение от нормы клия, натрия

и резкое увеличение концентрации нитратов и нитритов, в эритроцитах обнаружено увеличение натрия в 5 раз.

При исследовании транспортных процессов в желудочно-кишечном тракте обнаружены целый ряд изменений: достоверное увеличение содержания в просвете кишечника натрия, калия, креатинина и воды, по сравнению даже с крысами при нитритной интоксикации средней степени тяжести. В содержимом желудка концентрация натрия оказалась  $72,0 \pm 1,75$  мМоль/л, калия -  $7,4 \pm 1,23$  мМоль/л. Химус кишечника содержал примесь крови, рН содержимого равнялся  $7,423 \pm 0,035$ , концентрация натрия -  $148 \pm 22,79$  мМоль/л, калия -  $27,9 \pm 5,64$  мМоль/л и креатинина -  $879 \pm 15,12$  мкМоль/л. В толстой кишке каловые массы не сформировались и находились жидком виде (Таблица 4).

Содержание воды в слизистой кишечника было снижено по сравнению с контролем на 40%, натрий увеличился в слизистой желудка на 28% и калий снизился на 19%. В тонкой кишке калий снизился на 48%, в слизистой толстой кишки натрий оказался увеличен на 12%, содержание калия уменьшилось на 40%.

Таким образом, попавшие нитритные ионы в просвет желудочно-кишечного тракта, оказывают сильное непосредственное токсическое влияние на функциональное состояние ЖКТ, а также действуют опосредованно через систему крови (метгемоглобинемия, нарушения КЩС).

Следовательно, при острой нитритной интоксикации тяжелой степени механизмы адаптации оказываются не эффективными, в результате у животных развиваются тяжелые нарушения, приводящие к смертельному исходу.

Несколько по иному действовали нитраты. Введение крысам 3% раствора нитрата калия в количестве 5% от массы тела, приводило к значительным изменениям функции почек, так крысы, получившие водную нагрузку в дозе 5% от массы тела, относительный диурез составил  $52,86 \pm 12,43\%$ , экскреция в расчете на 1 кг массы тела,  $\text{Na}^+$  -  $105,7 \pm 16,38$  мкМоль,  $\text{K}^+$  -  $148,01 \pm 12,72$  мкМоль, крысы получившие хлоридную нагрузку в той же дозе, относительный диурез равнялся -  $69,23 \pm 5,17\%$ , экскреция  $\text{Na}^+$  -  $5054 \pm 152,62$  ( $P < 0,001$ ) мкМоль,  $\text{K}^+$  -  $498 \pm 62,6$  мкМоль ( $P < 0,001$ ), а при нитратной нагрузке соответственно относительный диурез -  $85 \pm 8,14\%$  ( $P < 0,05$ ),  $\text{Na}^+$  -  $4843,18 \pm 98,42$  мкМоль ( $P < 0,001$ ) и  $\text{K}^+$  -  $377,17 \pm 56,7$  ( $P < 0,01$ ) мкМоль.

В плазме крови у крыс, получившие в качестве нагрузки гипотонический раствор  $\text{KNO}_3$ , снизилась концентрация ионов натрия до  $135,0 \pm 2,64$  ммоль/л и хлора до  $75,0 \pm 5,34$  ммоль/л ( $P < 0,05$ ) калий оставался на уровне контроля.

В тоже время в органах желудочно-кишечного тракта произошло увеличение Na/K-коэффициента: в слизистой желудка на 5%, 12-перстной кишки на 20%. В печени этот коэффициент снизился на 30%. Изучение нитрат-нитритных ионов на протяжении всего ЖКТ показало, что самое большее количество этих ионов содержится в тонкой кишке (95 мМоль/кг) и содержимом его сухой массы (594,3 мМоль/кг). В крови при этом концентрация нитритов составила 0,03 мМоль/л, нитратов - 0,04 мМоль/л.

#### IV. Влияние хронической нитрат-нитритной интоксикации при допустимой суточной дозе на водно-солевой обмен ЖКТ

Исследования показали, что нитраты, поступающие в организм с питьевой водой, в допустимой суточной дозе, оказывали определенное влияние на изучаемые показатели.

Так содержание метгемоглобина в крови у этих животных повысилось незначительно и находилось в пределах от 2,0% до 6,3%, против  $1,5 \pm 0,24\%$  у контрольной группы. Содержание общего гемоглобина не изменилось.

При вскрытии у 80% крыс обнаружили те же нарушения, что и при нитритной хронической интоксикации, т.е. геморрагические явления в легких, в печени и в почках.

Содержание воды в органах пищеварительной системы достоверно изменялось в 12-перстной и тонкой кишке. Были выявлены отклонения и в концентрации калий, который увеличивался в целом примерно на 20%: - в желудке, 12-перстной кишке, толстой кишке и печени. В тонкой кишке произошло снижение концентрации калия на 29% ( $P < 0,02$ ) и натрия на 3%

В плазме крови резко увеличилась концентрация нитрат-нитритных ионов в 10 раз, хлора на 20% и креатинина в 2 раза, концентрация калия повысилась с  $4,1 \pm 0,31$  мМоль/л до  $6,6 \pm 0,166$  мМоль/л ( $P < 0,02$ ).

Изучение функций почек показало, что суточный диурез был слегка повышен, но интенсивность, судя по проценту экскретированной жидкости, в большей степени, возрастала при питье 0,3% водного раствора нитрата калия. Однако, еще более значительные изменения выявлены при исследовании выделения электролитов. Повышалось выделение осмотически активных веществ (ОАВ) в 6 раз, калия в 2 раза, натрия - в 3 раза. Экскреция нитрат-нитритных ионов возрастало более, чем в 40 раз и титруемых кислот на 20%. Обнаружено усиление кислотно-выделительной способности почек. Все эти изменения происходили на фоне повышенной экскреции креатинина.

В содержимом желудочно-кишечного тракта было обнаружено увеличенное количество нитрат-нитритных ионов в 20 раз ( $P < 0,01$ ), натрия - в 5 раз и калия - в 6 раз по отношению контрольным крысам.

В опытах на изолированной петле установили за первые 30 мин. усиление всасывания воды на 28%, натрия - на 15%, а калий выделялся в просвет кишечника. В крови возрастал метгемоглобин и изменялся кислотно-щелочной баланс в сторону ацидоза. Через 40 мин. транспорт воды и натрия достиг начального уровня, т.е.  $2,15 \pm 0,087$  мл/мин  $H_2O$  и  $Na^+$  -  $7,9 \pm 0,42$  мкмоль/мин, ионы калия начали усиленно всасываться, превысив начальный уровень на 32%.

Подводя итоги результатам изучения водно-солевого обмена в желудочно-кишечном тракте, можно констатировать, что в условиях хронического нитратного воздействия особых изменений в органах ЖКТ не происходит, что дает основанием предположить о развитие адаптации к действию нитрат-нитритных ионов. С этим согласуются и результаты исследования всасывающей функции толстой кишки.

При сравнении действий нитратных и нитритных ионов в пищеварительном тракте выявлено, что нитраты в меньшей степени оказывают свое токсическое влияние на органы желудочно-кишечного тракта, а так же на другие системы органов. Всасывание нитратов и нитритов способствует повышению в плазме крови уровня нитрат-нитритных ионов с развитием метгемоглобинемии и гемической гипоксии. Последние в значительной степени усугубляют нарушения в организме, в том числе и в ЖКТ.

Выведение почками нитрат-нитритных ионов является эффективным путем уменьшения интоксикации, а определение величины их экскреции является доступным способом определения экологической нагрузки нитратами и нитритами.

## ВЫВОДЫ

1. Нитрат-нитритные ионы, попадая в организм человека и животных из внешней среды в основном через органы пищеварительной системы, оказывают свое влияние на эти органы и их функции.

2. Функциональные изменения и нарушения деятельности органов пищеварительной системы зависят от количества поступивших из внешней среды нитрат-нитритных ионов, а также от времени нахождения данных ионов в организме.

3. Нитрат-нитритные ионы, попавшие в просвет желудочно-кишечного тракта, оказывают как непосредственное токсическое влияние на функциональное состояние ЖКТ, а также действуют опосредованно через систему крови (метгемоглобинемия, нарушения КЩС).

4. При попадании максимально недействующих доз нитрат-нитритных ионов в полость тонкой кишки происходит стимуляция водно-солевого обмена: первые признаки нарушений в обмене натрия, калия и воды выявляются при действии предельно допустимых доз, при попадании более высоких доз происходит значительное нарушение изученных функций.

5. При нитрат-нитритной интоксикации средней и тяжелой степени тяжести наблюдаются комплексные отклонения как в органах желудочно-кишечного тракта, так и в выделительной системе, с нарушением транспорта натрия, калия и воды.

6. Отклонения транспортных процессов в тонкой кишке и почечных канальцах дают возможность оценить степень нарушений в организме при нитрат-нитритной интоксикации.

7. Величина суточной экскреции нитрат-нитритных ионов является доступным и эффективным способом оценки экологической нагрузки этими соединениями.

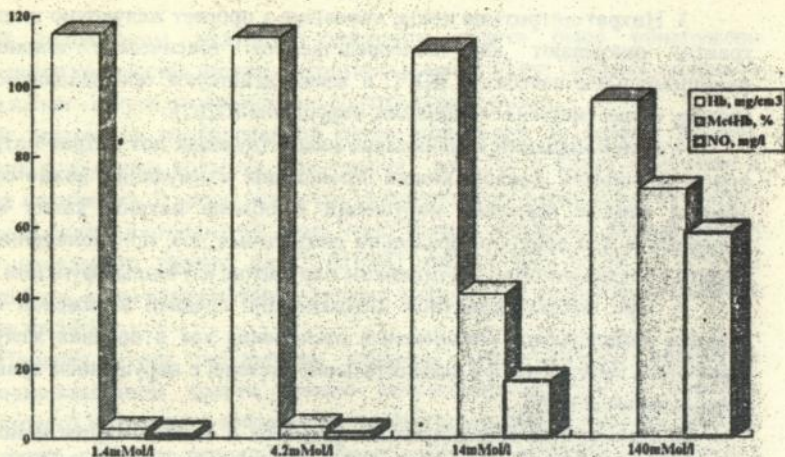


Рис. 1. Влияние различных концентраций нитрита натрия на содержание гемоглобина, метгемоглобина и нитритов в крови.

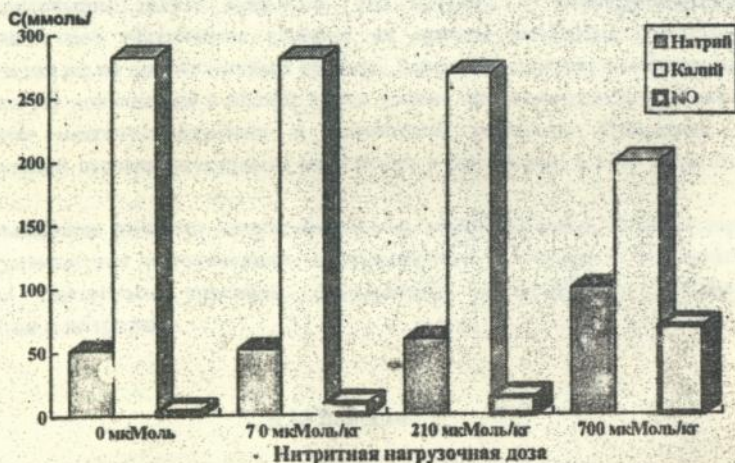


Рис. 2. Содержание Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в аккумуляирующем препарате тонкого кишечника при различных дозах нитрита натрия.

Таблица 2

Влияние максимально недействующей дозы нитрита натрия на содержимое и транспортные процессы в перфузированной петле тонкого кишечника (M±m)

Наименование показателей	Контрольный участок n=10	Опытный участок n=10
Объём перфузата, мл	1,06	1,06
Объём химуса, мл	0,352±0,05	0,238±0,04
Концентрация Na <sup>+</sup> в химусе, мМоль/л	67,46±6,2	61,06±5,7
Концентрация K <sup>+</sup> в химусе, мМоль/л	7,09±1,87	7,35±2,2
Концентрация креатинина в химусе, мкМоль/л	99,3±6,56	100,4±4,23
Реабсорбция воды, мл	2,16±0,2	21,5±0,98 P<0,001
Содержание Na в химусе, мкМоль	23,75±4,3	14,53±6,2
Содержание K в химусе, мкМоль	2,49±0,7	1,75±0,5
Кишечный клиренс креатинина	0,51±0,09	0,33±0,07
Инсорбция натрия	125,1±12,7	133,1±7,89 P<0,05
Инсорбция калия	4,99±1,2	6,38±2,7 P<0,05

n - число наблюдений

P - достоверность различий в сравнении с контрольной группой по критерию Стьюдента

Влияние предельно допустимой концентрации нитрита натрия на содержание ионов  
и воды в перфузированной петле ( $M \pm m$ )

Наименование исследований	Контроль n=10	Опыт n=10
Содержимое		
Объем, мл	0,11±0,004	1,098±0,044 P<0,001
Содержимое/Перфузат,%	10,38±4,046	103,58±21,066 P<0,002
Содержание ионов		
Na <sup>+</sup> , мкМоль	3,09±0,5	13,24±2,13 P<0,001
K <sup>+</sup> , мкМоль	1,41±0,152	7,24±2,1 P<0,02
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкМоль	0,115±0,011	18,34±5,141 P<0,01

n - число наблюдений

P - достоверность различий в сравнении с контрольной группой по критерию Стьюдента

Влияние нитритной-интоксикации тяжелой степени тяжести на pH химуса и на содержание Na и воды в органах пищеварительной системы (M±m)

Наименование исследований	Контроль n=10	Опыт n=10
pH сод.		
содержимое жс удка	4.714±0.21	7.376±1.02 P<0,01
содержимое тонкого	7.31±0.12	7.42±0.09
содержимое толстого	7.1±0.061	7.423±0.035
N <sub>2</sub> мМ/кг		
слизистая желудка	26.5±2.42	138.8±4.98 P<0,001
содержимое желудка	20.48±4.94	72.05±1.75 P<0,001
слизистая тонкого	34.5±2.09	35.1±3.03
содержимое тонкого	54.2±12.32	146.23±25.38 P<0.01
слизистая толстого	27.2±3.797	38.75±2.01 P<0,05
содержимое толстого	19.1±5.74	148.2±22.79 P<0,001
печень	12.8±1.78	29.64±6.19 P<0,02
H <sub>2</sub> O, %		
слизистая желудка	81.12±1.88	76.3±1.232 P<0,05
слизистая тонкого	79.98±1.09	80.7±1.92
слизистая толстого	77.84±2.47	82.6±2.49
печень	63.68±2.42	67.85±2.45

n - число наблюдений

P - достоверность различий в сравнении с контрольной группой по критерию Стьюдента

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Методические указания/ Методы изучения почек при токсико-гигиенических исследованиях// - Одесса. - 1991. - 23 с.(в соавт.).
2. Вплив нітриту натрію на функціональний стан органів травлення// Матер. респуб. научн. конф. "Еколого-гігієнічні проблеми харчування населення". -Киев. - 1992- С.76.(в соавт.).
3. Стан водно-електролітного балансу у шурів при гострому перегріванні та форсованій регідратації/ Физиол. журн.- 1992- Т.38.- № 2. - С. 91-96.(в соавт.).
4. Пищевая профилактика нитритной интоксикации// Тез. докл. тематической научно-практической конференции "Актуальные вопросы гигиены и экологии транспорта". - Ильичевск, 1992. - С. 23 (в соавт.).
5. Влияние хронической интоксикации нитратами на репродуктивную систему в эксперименте// Тез. докл. Пленума правления науч. общества акушеров-гинекологов Украины "Экология и репродукция". - Одесса.-1992- С13.(в соавт.).
6. Влияние нитрата натрия на абсорбцию Na, K, H<sub>2</sub>O в тонком кишечнике// Тез. докл. тематической научно-практической конференции "Актуальные вопросы гигиены и экологии транспорта". - Ильичевск, 1992- С.58.(в соавт.).
7. Патогенетичне обґрунтування шляхів корекції функціонального стану шлунку при гіпертермії// Матер. республ. научн. конф. "Еколого-гігієнічні проблеми харчування населення". -Киев, 1992- С. 188 (в соавт.).
8. Механізми порушення обміну натрію при нітритній інтоксикації та шляхи їх компенсації// Тез. допов. наук. конф. "Фундаментальні механізми розвитку паталогічних процесів". Дніпропетровськ, 1992- С. 55.(в соавт.).
9. Влияние белка рациона питания на функцию почек// тез. докл. IV Всероссийская научная конференция "Фармакология водно-солевого обмена".-Чебоксары, 1993- С.16.(в соавт.).
10. Содержание метгемоглобина крови в зависимости от нитритной динамики.//Тез докл. Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.- С.97(в соавт.).
11. Механизмы поддержания кислотно-основного равновесия при острой нитритной интоксикации// Системно-антисистемная регуляция в норме и при патологии. Научные труды III международного симпозиума. Киев, 10-13 ноябрь 1993г.- Киев:БИ,1993,С.64-65. (в соавт.).
12. Особенности влияния нитритов на гемостаз.// Тез. докл. Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.-С.94(в соавт.).

13. Влияние нитрита натрия на транспорт воды и натрия в тонком кишечнике.//Доклад на Одесской областной научной конференции, посвященной морфологии, физиологии, патологии и клинике пищеварения.-Одесса, 1993.-С.15(в соавт.).
14. Влияние гиперосмотического раствора нитрата калия на электролитный баланс желудочно-кишечного тракта и почек.//Тез.докл.Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.-С.107
15. Влияние нитритов на транспортные процессы в тонком кишечнике.// Тез.докл.Украинской межведомственной науч-но-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.- С.108
16. Влияние острой нитритной интоксикации средней тяжести на кислотно-щелочное равновесие.//Тез.докл.Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.-С.109(в соавт.).
17. Влияние острой гипертермии на функциональное состояние слизистой желудка-кишечного тракта.//Доклад на Одесской областной научной конференции, посвященной морфологии, физиологии, патологии и клинике пищеварения.-Одесса, 1993.-С.61 (в соавт.).
18. Исследование функционирования метгемоглобинредуктазной системы эритроцитов крыс в условиях *in vitro*.//Тез.докл. Украинской межведомственной научно-практической конференции "Актуальные проблемы медицины транспорта".-Одесса, 1993.-С.325(в соавт.).
19. Принципы фармакологической коррекции острой нитритной интоксикации.//Тез.докл. научно-практической конференции "Современные аспекты фармакотерапии заболеваний внутренних органов".-Одесса, 1993.- С.49-50 (в соавт.).
20. Влияние белка рациона питания на функцию почек// тез. докл. IV Всероссийская научная конференция "Фармакология водно-солевого обмена".-Чебоксары, 1993-С.116 (в соавт.).

Доренський В.С. Токсико-гігієнічні аспекти діяння нітратів та нітритів на функціональний стан шлунково-кишкового тракту

Дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук по спеціальності 14.00.07 - Гігієна. Український науково-дослідний інститут медицини транспорту, м. Одеса, 1994.

Для гігієнічного вивчення впливу нітрат-нітритних іонів, потрапляючих в організм людини та тварин *per os* використовувались методики *in vivo*, *in situ* та *in vitro*.

Нітрити та нітрати чинять вплив на функціональний стан шлунково-кишкового тракту (ШКТ), змінюючи характер та інтенсивність транспорту води, натрію та калію в слизовій оболонці в залежності від дози вводимих речовин.

Токсична дія нітрат-нітритних іонів на органи ШКТ є наслідком їх безпосереднього впливу, а також вторинних ефектів, метгемоглобінемії та гемічної гіпоксії.

Екологічне навантаження нітратами та нітритами на організм тварин оцінювали по вилічній екскреції цих речовин. Нирки ефективно виводять нітрат-нітритні іони з організму тварин при гострих і хронічних інтоксикаціях, не зважаючи на патологічні зміни в них.

Ключеві слова: нітрати, нітрити, метгемоглобінемія, шлунково-кишковий тракт, нирки, водно-сольовий обмін.

Dissertation for degree of Candidate of Biology in speciality 14.00.07 - Hygiene. Transport Medicine Reserch Institute, Odessa 1994.

The hygienic studies of the influence of nitrate-nitrite ions which get into the organism of the man and animals *per os* methods *in vivo*, *in situ* and *in vitro* were used.

Nitrites and nitrates influence the functional condition of the gastrointestinal tract (GIT), changing the character and intensity of water's transport, natrium and potassium in mucos membrane depending on doses of introduced substances.

Toxis action of nitrate-nitrite ions upon GIT organs is the result of their direct influence as well as secondary effects, methemoglobinemia and hemic hypoxia.

Ecological loading with nitrates and nitrites upon animal's organism was appreciated by the excretion of these substances. Kidneys move nitrate-nitrite ions out of animal's organism effectively under acute and chronic intoxications in spite of pathological changes in them.

Key words: nitrates, nitrites, methemoglobinemia, GIT, kidneys, aqueous-saline metabolism.

Годп. к печати 24. II. 94г. Формат 60x84 1/16.  
Об"ем 0,9уч. изд. л. 1,5п. л. Заказ № 4210. Тираж 100 экз.  
Гортипография Свесского управления по печати, цех №3.  
Ленина 49.

Abstract 111. The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

The following abstracts were prepared by the author in  
conjunction with his research on the history of the  
University of Toronto, 1827-1827.

45807a

AB 31.602