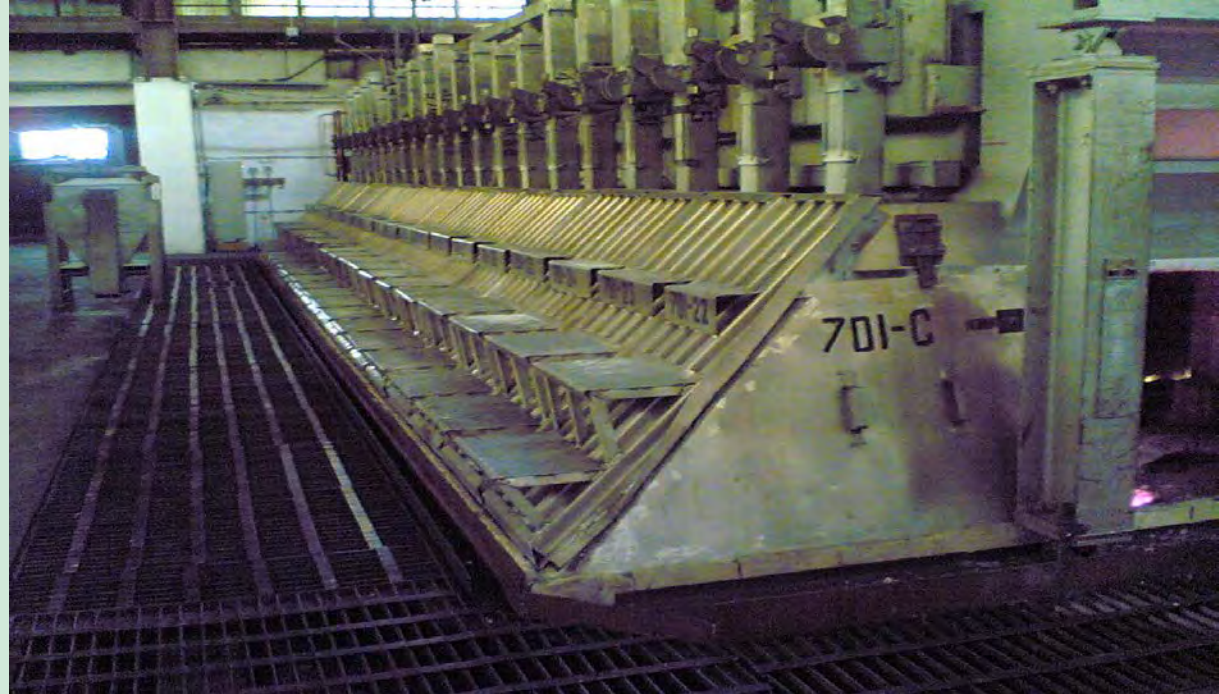




Федеральное бюджетное учреждение науки  
«Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны  
здоровья рабочих промпредприятий»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

# ***Оценка сочетанного действия фтора и постоянного магнитного поля (экспериментальные данные)***

Авторы: Цепилов Н.А., Сутункова М.П.



Одновременное воздействие на организм постоянного магнитного поля и соединений фтора наиболее характерно для рабочих, занятых в электролитическом производстве алюминия, и вместе с тем, является частным случаем общей гигиенической проблемы так называемого сочетанного вредного действия физических и химических факторов условий труда.



Эффекты токсического действия фтора на многие внутренние органы хорошо изучены и у людей в связи с развитием профессионального или эндемического флюороза, и в экспериментах на лабораторных животных и описаны в огромном числе статей, включая обобщающие (например (IPCS, 2002; Katsnelson et al., 2006)

Существует немало литературы и о действии ПМП на организм, включая авторитетные обзорные документы (Documents, 2008; SCENIHR, 2015), хотя она посвящена, в основном, эффектам более мощных ПМП, чем те, которые характерны для вышеупомянутых промышленных условий.



Предлагается большое число первично физических, а также биологически опосредованных механизмов, с которыми может быть оно связано, однако экспериментальные данные, подтверждающие соответствующие эффекты этого действия, довольно противоречивы. Ещё менее надёжно что-либо известно о вредных эффектах слабых постоянных (или крайне низкочастотных) магнитных полей и практически ничего – о комбинированном/сочетанном действии таких полей и токсических веществ.



**Цель:**

**Дать характеристику сочетанного действия фтора и постоянных электромагнитных полей для углубления научных основ оценки профессиональных рисков в электролитическом производстве алюминия**



## Задачи:

- Создать экспериментальную модель действия фторидов, постоянных электромагнитных полей и их сочетания на организм в субхроническом эксперименте на лабораторных крысах.
- Провести оценку вредных эффектов изолированного и сочетанного действия фторида и постоянного электромагнитного поля на основе большого числа интегральных и специфических показателей.
- Оценить характер сочетанного действия фторида и электромагнитных полей с применением математического моделирования.



# Группы подопытных животных

1 группа  
NaF

2 группа  
ПМП  
2 часа

3 группа  
ПМП  
4 часа

4 группа  
NaF+ПМП  
2 часа

5 группа  
NaF+ПМП  
4 часа

6 группа  
контрольная



- **Натрий фтор вводился через день внутривбрюшинно на протяжении 6 недель в дозе 5,8 мг\кг, контрольным животным проводились инъекции физ.раствора в том же объеме (4мл).**





Для экспозиции ПМП крысы помещались внутрь большого соленоида с подводом выпрямленного электрического тока, создающего постоянное магнитное поле с индукцией 25 мТл.



Основное направление силовых линий поля перпендикулярно оси тела крысы, что соответствует условиям магнитной экспозиции электролизников



**Оценка состояния организма животных проводилась с помощью:**

- Интегральных показателей**
- Биохимических показателей**
- Цитологических и цитохимических показателей**
- Показателей генотоксичности и мутагенности**
- Гистоморфологических показателей**



# Каждые две недели:

- Масса тела
- Суммационно-пороговый показатель
- Норковый рефлекс
- Сбор суточной мочи для определения объёма диуреза, плотности, содержание фтора



# При выведении животных из эксперимента

определялся ряд биохимических показателей:

- общий белок сыворотки
- альбумин
- глобулины
- триглицериды
- холестерин
- липопротеиды низкой и высокой плотности
- билирубин
- церулоплазмин
- креатинин
- восстановленный глутатион
- малонилдиальдегид (МДА)
- щелочная фосфатаза
- аланин- и аспартат-аминотрансферазы (АлТ, АсТ)
- гамма-глутамилтрансфераза
- тироксин
- трийодтиронин
- тиреотропный гормон гипофиза
- фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны
- прогестерон
- дегидроэпиандростерон сульфат
- эстрадиол
- нейрон-специфическая энолаза.



# Было проведено гистоморфологическое исследование бедренной кости

- **в контрольной группе**
  - **NaF+ПМП 4 часа**
  - **ПМП 4 часа**
- по 4 крысы от каждой группы



# Морфометрия включала в себя:

- планиметрическую оценку доли губчатой кости эпифиза, приходящейся на трабекулы (с помощью сетки Автандилова)
- измерение толщины росткового хряща, костной стенки диафиза, надкостницы
- число остеоцитов на единицу площади среза через диафиз (с помощью программы распознавания образов CellSens (Olympus, Münster, Germany)).



- Статистическая значимость различий между средне-групповыми показателями оценивалась по  $t$ -тесту Стьюдента.
- в работах по комбинированной токичности (Panov et al., 2015; Minigalieva et al., 2015; Katsnelson et al., 2015; Panov and Varaksin, 2016), для математического моделирования «сочетанного» действия ПМП и фторида используется метод построения поверхности отклика - Response Surface Methodology (RSM), который является обобщением методов, основанных на дисперсионном анализе (ANOVA) и на математической теории планирования эксперимента
- **Уравнение, описывающее функцию поверхности отклика  $Y = Y(x_1, x_2)$ , в нашем случае имеет вид:**  
 **$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2$  (1)**
- где  $y$  - показатель, по которому оценивается эффект,  $x_1$  и  $x_2$  - - дозы агентов.

Коэффициенты уравнения подбирались методом наименьших квадратов по экспериментальным данным.

Сечение поверхности на заданном уровне отклика даёт изоболограммы комбинированного действия двух факторов.



Статистические значимые сдвиги по сравнению с контрольными величинами получены по 13 показателям при действии одного фторида, только по одному при действии меньшей, но по 17 – при действии большой дозы ПМП, в то время как при сочетании этих же доз ПМП с фторидом – соответственно по 9 и 11.

Группы крыс :	Количество изменившихся показателей	Показатели		
<b>NaF</b>	<b>13</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>•масса печени</li><li>•масса селезенки</li><li>•эритроциты</li><li>•гематокрит</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•средняя концентрация гемоглобина</li><li>•ширина распределения эритроцитов</li><li>•тромбоциты</li><li>•моноциты</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•фтор в моче (после 2-х недель и 6-недель)</li><li>•среднее содержание гемоглобина</li><li>•коэффициент днк фрагментация в крови и костном мозге</li></ul>
<b>ПМП 2 часа</b>	<b>1</b>	<b>Билирубин</b>		





# ПМП 4 часа

## 17

**Норковый  
рефлекс**

**гематокрит**

**Ширина  
Распределения  
эритроцитов**

**общий белок**

**Масса  
селезенки**

**средний объем  
эритроцитов**

**церулоплазмин**

**билирубин**

**эритроциты**

**Среднее  
Содержание  
гемоглобина**

**тромбоциты**

**коэффициент днк  
фрагментация в  
костном мозге**

**гемоглобин**

**Средняя  
Концентрация  
гемоглобина**

**лейкоциты**

 <p>Группы крыс :</p>	<p>Количество изменившихся показателей</p>	<p>Показатели</p>		
<p><b>NaF + ПМП</b> <b>2 часа</b></p>	<p><b>9</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•гранулоциты</li> <li>•активность СДГ</li> <li>•моноциты</li> <li>•суммационно-пороговый показатель</li> </ul>	<p>коэффициент фрагментации в крови и костном мозге</p> <p>среднее содержание гемоглобина</p>	<p>фтор в моче (после 2-х и 6-и недель)</p>
<p><b>NaF + ПМП</b> <b>4 часа</b></p>	<p><b>11</b></p>	<p>Гематокрит</p> <p>среднее содержание гемоглобина</p> <p>средняя концентрация гемоглобина</p>	<p>лейкоциты</p> <p>моноциты</p> <p>гранулоциты</p>	<p>альбумин</p> <p>фтор в моче (после 2-х и 6-и недель)</p> <p>коэффициент днк фрагментация в костном мозге</p>



## **Однонаправленными:**

- увеличение СПП,
- снижение числа заглядываний в «норки»,
- снижение относительной массы печени,
- увеличение содержания билирубина в сыворотке,
- числа эритроцитов и гематокрита,
- гранулоцито-моноцитарный лейкоцитоз и др.

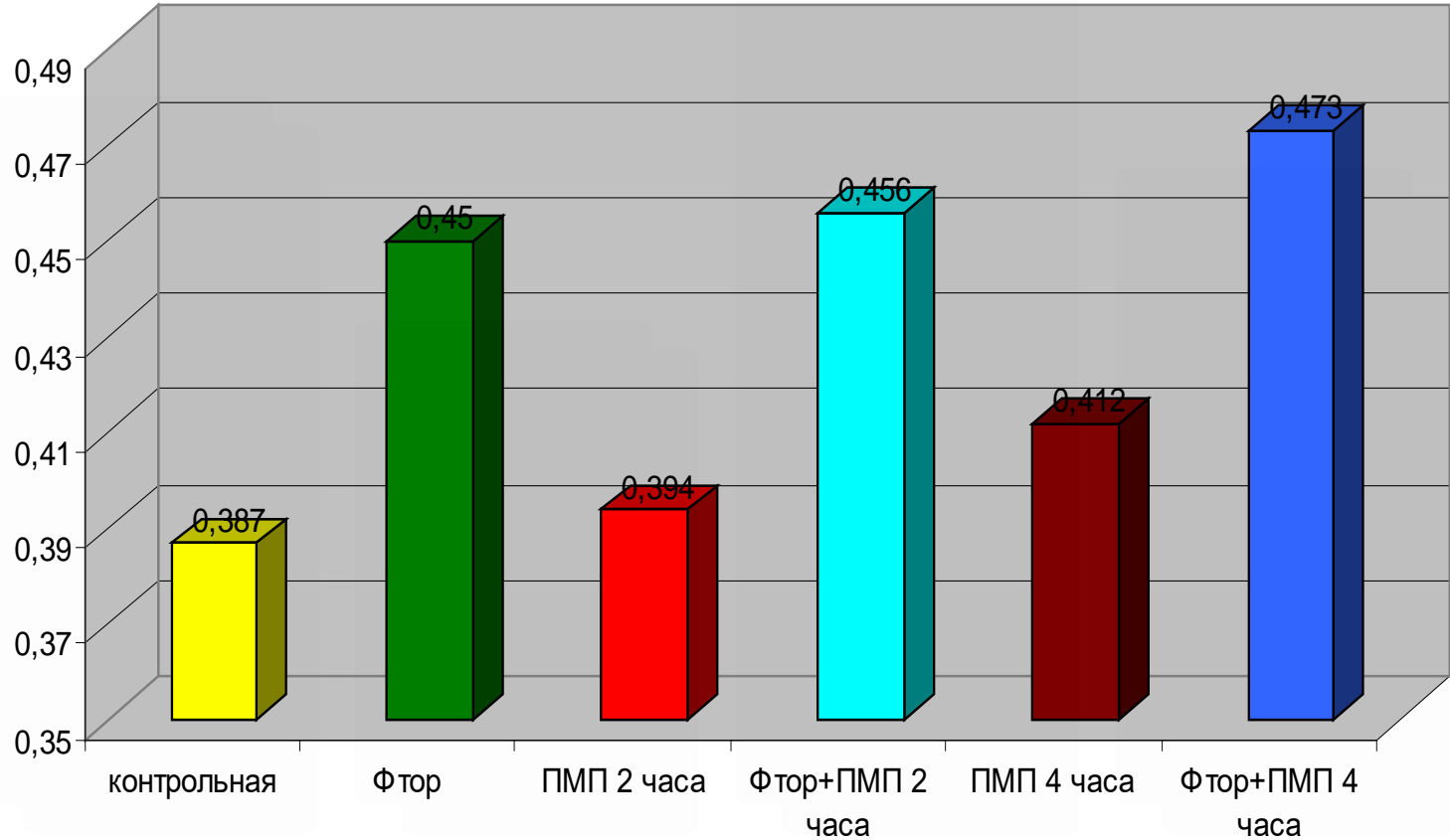


## **Противонаправленными:**

относительная масса селезёнки была  
значимо увеличена при действии  
фторида, не изменена при действии  
меньшей и значимо снижена при  
действии большей дозы ПМП.



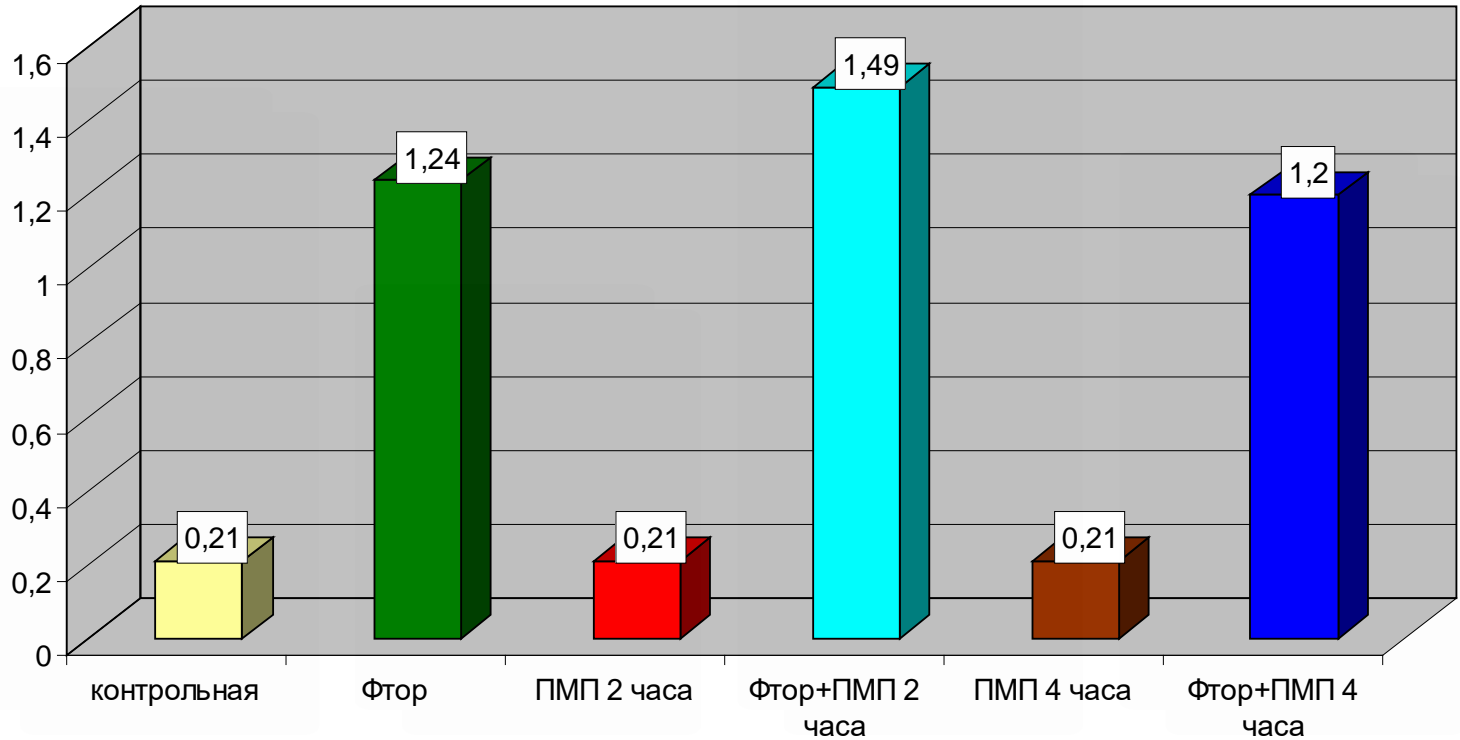
## ДНК-фрагментация, костный мозг



Оба фактора вызвали увеличение коэффициента фрагментации ДНК в клетках костного мозга (в случае ПМП – дозозависимое)  
Отметим, что ДНК-фрагментирующее действие ПМП недавно показано «ин витро» (Teodori et al., 2014)



## Фтор в моче после 6 недель эксперимента, mcg/mL



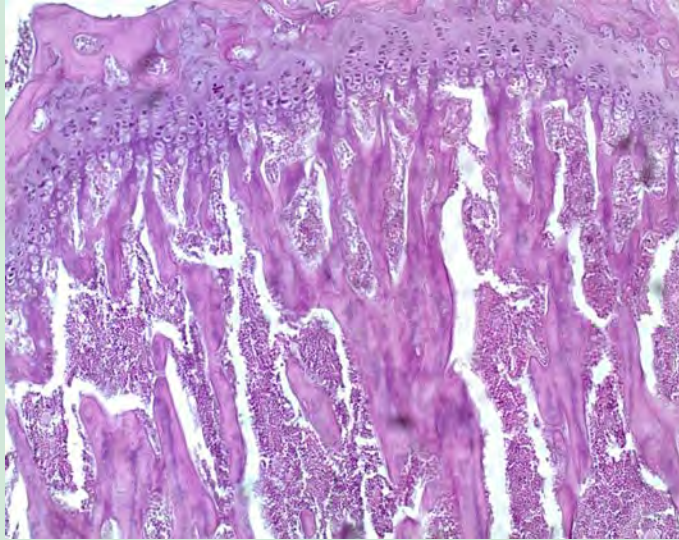
Заметное и статистически значимое увеличение концентрации фтора в моче было выявлено уже при первом измерении и сохранялось до конца эксперимента, но только в группах, получавших NaF обособленно или в сочетании с ПМП в меньшей или большей дозировке.



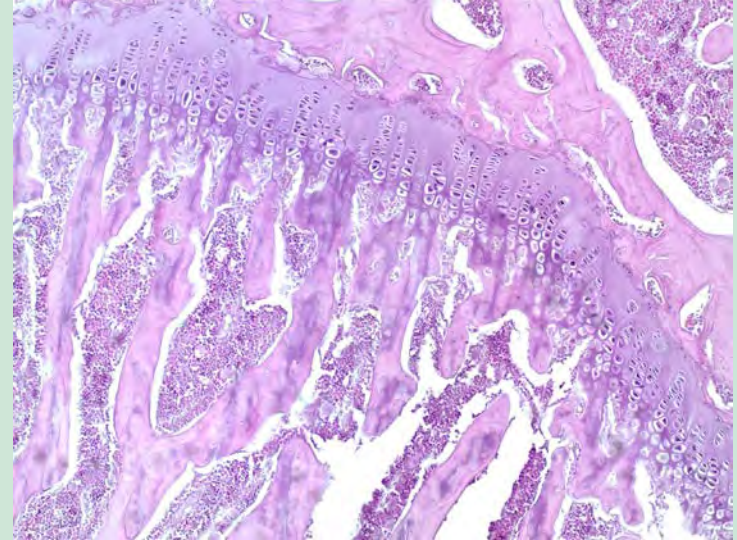
# Некоторые морфометрические показатели состояния бедренной кости крыс при обособленном и «сочетанном» воздействии фторида натрия и 4- часовых экспозиций к постоянному магнитному полю (ПМП) ( $x \pm s_x$ )

Показатели	Группы крыс:			
	Контроль ная	При действии NaF	При действии ПМП	При действии NaF + ПМП
Толщина костной стенки диафиза, мм	1,25 ± 0,02	1,25 ± 0,02	1,19 ± 0,02	1,18 ± 0,03*
Толщина надкостницы диафиза, мм	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Число остеоцитов на мм <sup>2</sup> плотной костной ткани.	28,00 ± 0,91	24,13 ± 0,77*	20,96 ± 0,66*	19,95 ± 0,86*
Толщина эпифизарной пластинки, мм	0,49 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,59 ± 0,03*	0,51 ± 0,02
Доля трабекул в губчатой костной ткани ( %% площади препарата)	36,09 ± 2,42	46,07 ± 2,53*	27,35 ± 2,37*	49,20 ± 2,30*•

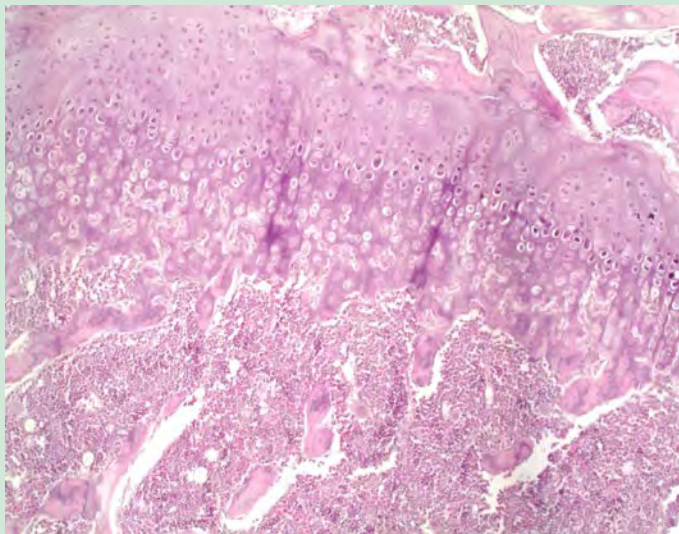
Статистически значимые отличия отмечены значками: \* любой группы от контрольной; • группы «NaF + ПМП» от группы «ПМП»



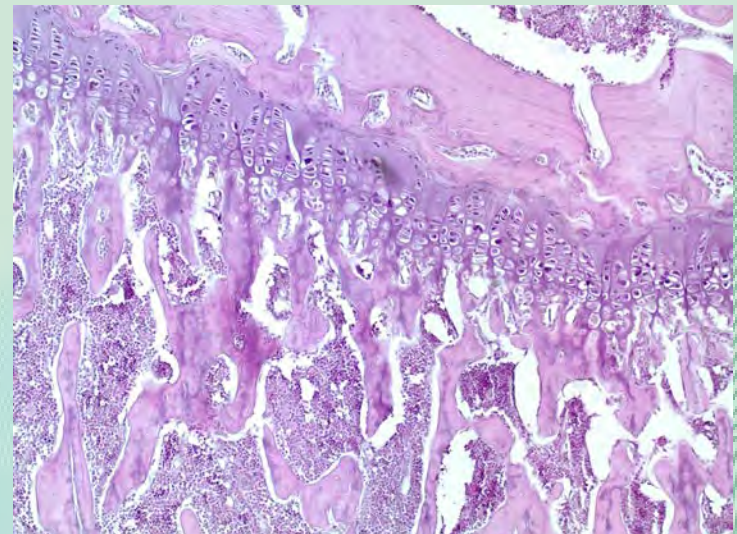
A.



B.



C.



D.

Эпифизарная ростовая пластинка (хрящ) и губчатая костная ткань метафиза бедренной кости. Увеличение x100; окраска гематоксилином и эозином.

A. У контрольной крысы; B. У крысы, подвергавшейся воздействию фторида.

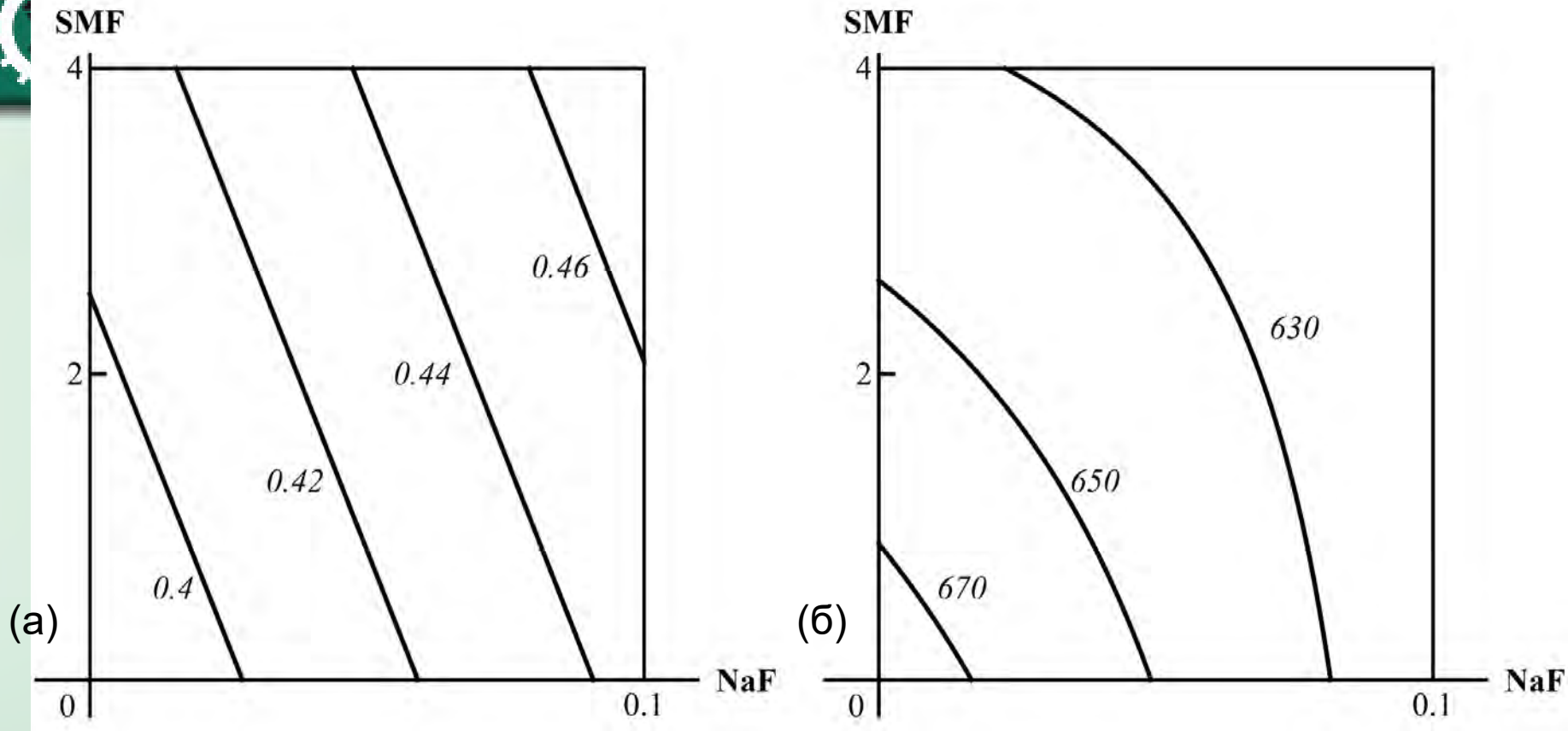
C. У крысы, подвергавшейся воздействию SMF (утолщённая ростовая пластинка; нерегулярно ориентированные и частично резорбированные трабекулы).

D. У крысы, подвергавшейся комбинированному воздействию фторида и SMF (без видимого изменения толщины ростковой пластинки; костные трабекулы неравномерной толщины).

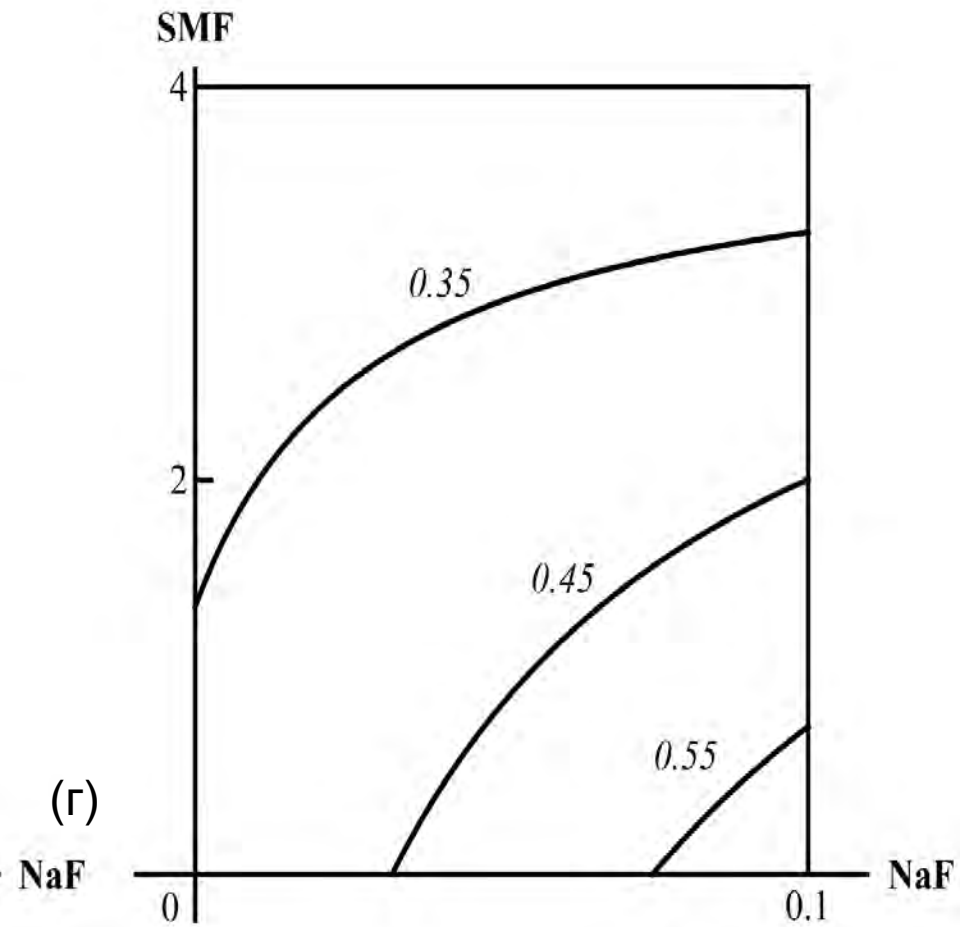
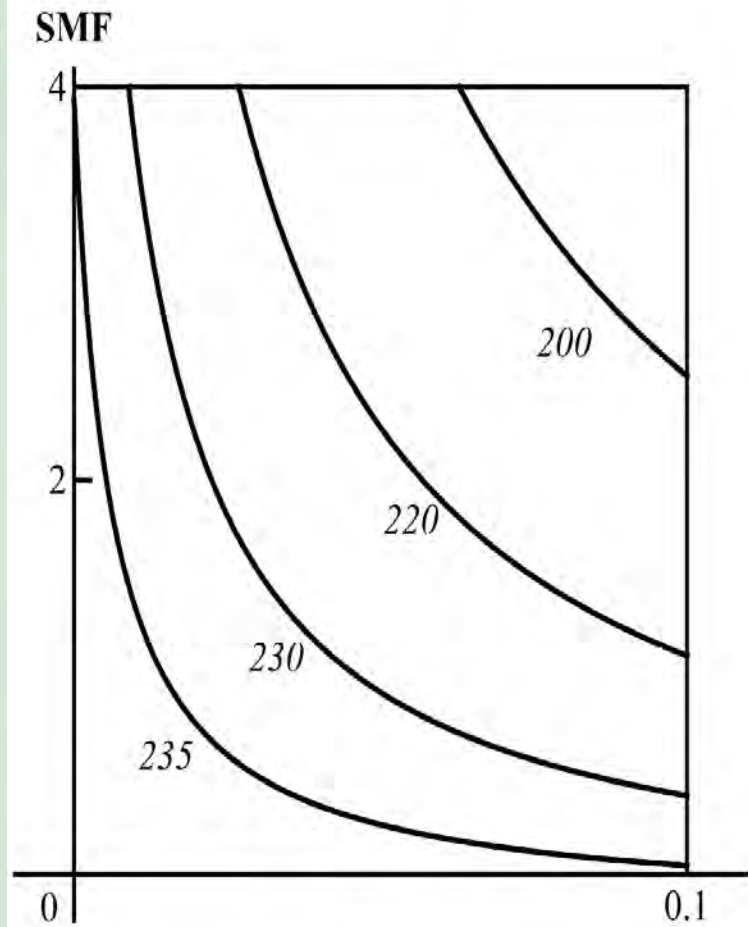




- Математический анализ выявил неоднозначность типа сочетанного/комбинированного действия в зависимости от того, по какому конкретному эффекту оно оценивается, а также от дозы фактора и уровня эффекта



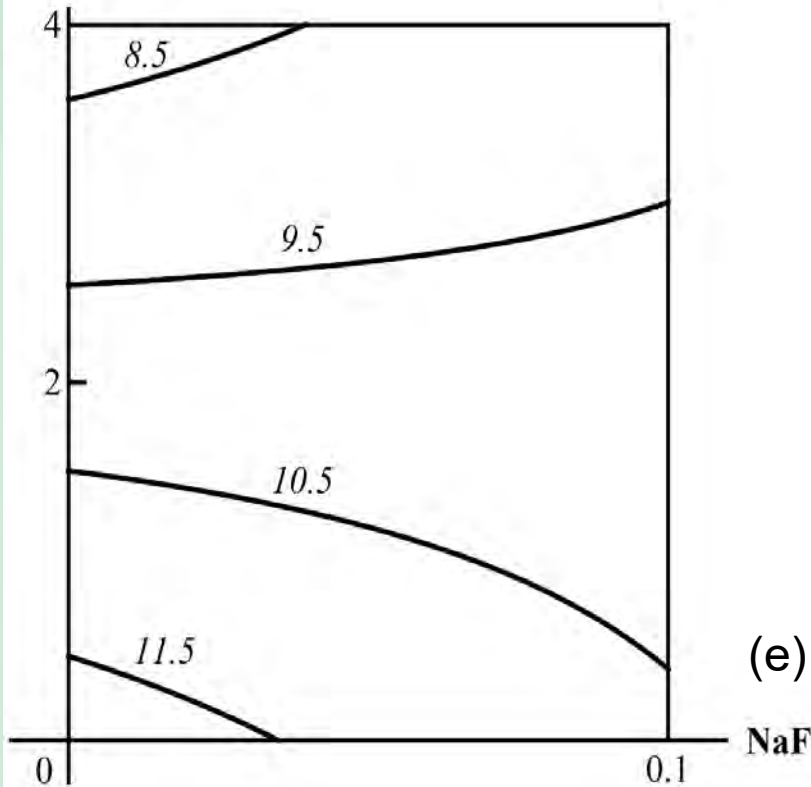
На осях дозы фторида даны в масштабе их отношения к ЛД50 а дозы ПМП – в часах разовой экспозиции. Числа на изоболах соответствуют тому уровню эффекта  $u$ , на котором проведено сечение поверхности отклика. Изоболы, построенные на основе уравнения (1) и выявившие: (а) аддитивность однонаправленного действия ПМП и NaF на коэффициент фрагментации геномной ДНК клеток костного мозга; (б) субаддитивность («скрытый» антагонизм) их однонаправленного действия на активность сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов крови;



(B) суперрадитивность однонаправленного действия (синергизм) на активность щелочной фосфатазы; (Г) противонаправленное действие («явный» антагонизм) на массу селезёнки;

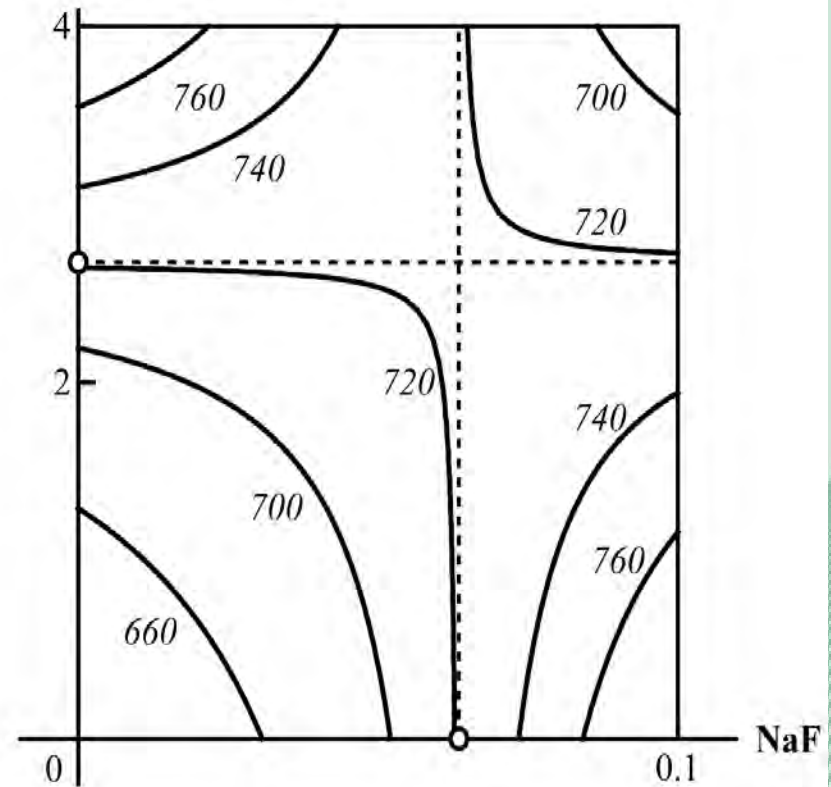


SMF



(д)

SMF



(е)

(д) аддитивность однонаправленного действия на число заглядываний в «норки» при относительно низких уровнях отклика и противонаправленное действие при относительно высоких; (е) четыре типа «сочетанного» действия факторов на число тромбоцитов в крови в зависимости как от дозы, так и от уровня отклика.



# Заключение

Судя по большому числу использованных функциональных и биохимических показателей, из которых только часть дала статистически значимые сдвиги, а также по гистологическим изменениям костной ткани и по их морфометрической оценке, субхроническая интоксикация относительно низкими дозами фторида натрия и нарушения, вызываемые в организме периодическим кратковременным воздействием постоянного магнитного поля (ПМП) относительно низкой индукции, имеют много общих черт.

Лишь по части показателей эффекта (в том числе, по относящимся к изменениям в губчатой костной ткани метафиза и в эпифизарной ростковой пластинке) действие ПМП и фторида качественно различно.



# Заключение

Математический анализ, основанный на модели поверхности отклика, показал, что в полном соответствии с ранее найденным для комбинированной токсичности разных химических веществ, сочетанное вредное действие химического и физического факторов характеризуется типологическим разнообразием в зависимости не только от того, по какому конкретному эффекту оно оценивается, но также от дозы и уровня эффекта.



# Заключение

С этой точки зрения, по всем тем показателям, по которым наблюдались статистически значимые эффекты хотя бы в одной группе крыс, могут быть определены четыре основных класса «сочетанного» действия ПМП и фторида :

- (1) преимущественно однофакторное;
- (2) однонаправленное аддитивное;
- (3) синергизм (однонаправленное супераддитивное);
- (4) антагонизм, включая как однонаправленное субаддитивное, так и все варианты противонаправленного.

При этом классы (2) и (3) в совокупности включают в себя лишь около 25% показателей. Тем не менее, высокая биологическая значимость некоторых из них (фрагментация ДНК, абсолютное число гранулоцитов и моноцитов крови, число остеоцитов в компактной кости, активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови) позволяет считать **изученное сочетание факторов представляющим в целом более высокий риск для здоровья, чем каждый из них в отдельности.**



# *Заключение*

Этот практический аспект исследования важен для рабочих в электролитическом производстве алюминия, которые подвергаются хроническому воздействию фторидов в сочетании с ПМП.





Спасибо за внимание!

