

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” CONSTANȚA
FACULTATEA DE MEDICINĂ

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific

PROF.UNIV.DR.ILEANA ION

Doctorand:

Asist.Univ. Mertan (Severin) Beatrice Marcela

Constanța 2012

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” CONSTANȚA
FACULTATEA DE MEDICINĂ

**Perturbări ale metabolismului hemoglobinei prin compuși azotați
poluanți din apă și sol**

Conducător științific

PROF.UNIV.DR.ILEANA ION

Doctorand:

Asist.Univ. Mertan (Severin) Beatrice Marcela

Constanța 2012

CUPRINS

Introducere	9
-------------------	---

Partea I - Date din literatura de specialitate

1. Hemoglobina	11
1.1. Structura hemoglobinei	11
1.2. Tipuri de hemoglobină.....	14
1.2.1.Hemoglobine normale.....	14
1.2.2.Hemoglobine cu anomalii în structură.....	16
1.3. Bibliografie	18
2. Methemoglobinemia toxică	22
2.1. Formarea methemoglobinei	22
2.2. Substanțe care pot cauza methemoglobinemie	24
2.3. Date generale privind methemoglobinemia determinată de expunerea ambientală la nitrați.....	25
2.4. Situația expunerii ambientale la nitrați în România și la nivel European.....	29
2.4.1.Rețeaua de monitorizare	29
2.4.2.Rezultatele studiului privind calitatea apei.	30
2.4.3.Desemnarea zonelor vulnerabile la nitrați	31
2.5. Intoxicația acută cu nitriți	33
2.5.1.Factori favorizanți.....	33
2.5.2.Tabloul clinic	34
2.5.3.Teste de laborator... ..	35
2.5.4.Tratament.. ..	37
2.6. Intoxicația cronică cu nitriți	38
2.7. Măsuri preventive.... ..	40

2.8. Bibliografie	43
3. Stresul oxidativ	54
3.1. Principalele tipuri de specii reactive oxidante(SRO)	54
3.2. Surse intracelulare de SRO	56
3.3. Efectele SRO asupra organismului	57
3.4. Sisteme antioxidante	57
3.5. Bibliografie	59

Partea a-II-a Cercetări personale

4. Motivația temei de doctorat	64
5. Obiectivele tezei de doctorat	65
6. Materiale și metode de studiu	66
6.1. Materiale de studiu.....	66
6.1.1. Materiale de studiu pentru analiza apei	66
6.1.2. Materiale de studiu pentru analiza morbidității	66
6.1.3. Loturile de studiu	69
6.1.3.1. Caracteristicile lotului test	70
6.1.3.1.1. Structura lotului în funcție de sex și vârstă.....	70
7. Chestionar pentru caracterizarea loturilor.....	71
7.1.1.1.1. Structura lotului în funcție de venituri	73
7.1.1.1.2. Caracteristicile lotului în funcție de consumul de apă	73
6.1.3.1.5. Caracteristicile lotului în funcție de alimentație	73
6.1.3.1.6. Evaluarea stării de sănătate a persoanelor din lotul test	74
8. Caracteristicile lotului martor	76
8.1.1.1.1. Structura lotului în funcție de sex și vârstă.....	76
8.1.1.1.2. Structura lotului în funcție de venituri	77
8.1.1.1.3. Caracteristicile lotului în funcție de consumul de apă.....	77
8.1.1.1.4. Caracteristicile lotului în funcție de alimentație	77

8.1.1.1.5. Evaluarea stării de sănătate a persoanelor din lotul martor	78
8.2. Metode de studiu.....	80
8.2.1.Recoltarea probelor de apă.....	80
8.2.1.1. Recoltarea probelor de apă pentru analiza chimică	80
9. Recoltarea probelor de apă pentru analiza bacteriologică	81
9.1.1.Metode de analiză chimică a probelor de apă.....	83
9.1.1.1. Determinarea nitraților.....	83
9.1.1.2. Determinarea nitriților	86
9.1.1.3. Determinare conținutului de amoniu	88
9.1.1.4. Determinarea substanțelor organice.....	90
9.1.2.Metode de analiză microbiologică a apei.....	92
9.1.2.1. Determinarea numărului total de germeni (NTG)	93
9.1.2.2. Determinarea coliformilor totali și a Escherichiei Coli	95
9.1.2.3. Determinarea enterococilor intestinali în probele de apă	96
9.1.3.Analiza probelor de sânge.....	97
9.1.3.1. Determinarea activității Superoxid dismutazei (SOD)	97
9.1.3.2. Determinarea activității Glutation peroxidazei (GPx)	100
9.1.3.3. Determinarea statusului antioxidant total	104
9.1.3.4. Determinarea methemoglobinei.....	107
9.1.4.Metode de analiză statistică	111
9.1.4.1. Determinarea prevalenței	111
9.1.4.2. Ancheta epidemiologică tip caz-control	112
9.1.4.3. Coeficientul de corelație	115
9.2. Bibliografie	116
10. Rezultate	120
10.1. Analiza sistemelor de aprovizionare cu apă din județul Constanța	120
10.1.1. Identificarea sistemelor de aprovizionare cu apă din județul Constanța.....	120
10.1.2. Analiza calității apei din județul Constanța.....	124
10.1.2.1. Distribuția numărului total de probe de apă pe ani și medii de proveniență.....	124
10.1.2.2. Distribuția probelor în funcție de tipul sistemului de aprovizionare cu apă	126

10.1.2.3.	Distribuția pe ani a numărului total de probe de apă în raport cu probele necorespunzătoare.....	128
10.1.2.4.	Distribuția pe medii de proveniență a probelor cu valori crescute pentru nitrați	131
10.1.2.5.	Repartiția probelor necorespunzătoare în funcție de concentrația nitraților și mediul de proveniență.....	133
10.1.2.6.	Repartiția probelor necorespunzătoare în funcție de tipul sistemului de aprovizionare cu apă	136
10.1.2.7.	Localități care au frecvent concentrații mari de nitrați în apă	140
10.1.2.8.	Analiza apei pe localități.....	142
10.1.2.8.1.	Analiza apei din orașul Hârșova	142
10.1.2.8.2.	Analiza apei din orașul Techirghiol	144
10.1.2.8.3.	Analiza apei din localitatea Corbu	144
10.1.2.8.4.	Analiza apei din localitatea Târgușor	146
10.1.2.8.5.	Analiza apei din localitatea Tichilești	147
10.2.	Intoxicația cu nitriți în județul Constanța.....	148
10.2.1.	Distribuția pe ani a cazurilor de intoxicație	148
10.2.2.	Distribuția cazurilor de intoxicație în funcție de sex	149
10.2.3.	Repartiția cazurilor de intoxicație în funcție de mediul de proveniență	150
10.2.4.	Distribuția cazurilor de intoxicație în funcție de vârstă	151
10.2.5.	Distribuția cazurilor de intoxicație în funcție de tipul alimentației	152
10.2.6.	Distribuția cazurilor de intoxicație în funcție de forma clinică a bolii	152
10.2.7.	Analiza cazurilor de intoxicație în funcție de valoarea methemoglobinei.....	154
10.2.8.	Prezența bolilor asociate	154
10.2.9.	Date privind expunerea la nitrați.	156
10.3.	Analiza apei din cele două localități selectate pentru studiu	164
10.3.1.	Analiza apei din localitatea cu expunere cronică la nitrați (localitatea test)	164
10.3.1.1.	Analiza chimică a apei.	164
10.3.1.2.	Analiza microbiologică a apei	166

10.3.2. Analiza apei din localitatea cu valori normale ale nitratilor (localitatea martor) ..	168
10.3.2.1. Analiza chimică a apei	168
10.3.2.2. Analiza microbiologică a apei	169
10.4. Stabilirea modelului de morbiditate în cele două localități selectate în studiu.....	170
10.4.1. Prevalența cardiopatiei ischemice.....	170
10.4.2. Prevalența diabetului zaharat non-insulinodependent (tip 2)	172
10.4.3. Prevalența bolilor hepatice cronice	173
10.4.4. Prevalența bolilor pulmonare cronice	174
10.4.5. Prevalența neoplasmelor	175
10.4.6. Analiza dezvoltării somato-ponderale și a stării de sănătate a nou născuților	176
10.4.6.1. Distribuția nou născuților pe ani	176
10.4.6.2. Distribuția nou născuților în funcție de sex	177
10.4.6.3. Analiza nașterilor în funcție de durata sarcinii	178
10.4.6.4. Distribuția nou născuților în funcție de greutatea la naștere.....	179
10.4.6.5. Distribuția nou născuților în funcție de lungimea la naștere.....	182
10.4.6.6. Distribuția nou născuților în funcție de valoarea scorului APGAR.....	184
10.5. Evaluarea loturilor de studiu	187
10.5.1. Evaluarea methemoglobinei.....	187
10.5.2. Evaluarea unor markeri de apărare antioxidantă	191
10.5.2.1. Evaluarea statusului antioxidant total (TAS)	191
10.5.2.2. Evaluarea superoxid dismutazei (SOD)	193
10.5.2.3. Evaluarea glutatation peroxidazei (GPx).	194
10.6. Corelații între valoarea methemoglobinei și markerii apărării antioxidante	195
10.6.1. Corelații între valoarea methemoglobinei și statusul antioxidant total (TAS)	195
10.6.2. Corelații între valoarea methemoglobinei și SOD	196
10.6.3. Corelații între valoarea methemoglobinei și GPx	197
11. Discuții.....	198
12. Concluzii	213
13. Bibliografie	217

INTRODUCERE

Apa este un factor esențial pentru asigurarea și păstrarea calității vieții și a sănătății publice. Datorită posibilităților multiple de îmbolnăvire prin apă, pentru a fi considerată potabilă apa trebuie să îndeplinească o serie de condiții de calitate: organoleptice, fizice, chimice, microbiologice.

Controalele igienico-sanitare privind calitatea apei potabile au relevat în multe regiuni ale globului un conținut de nitrați ce depășește valorile maxime admise de Organizația Mondială a Sănătății.

Din acest motiv manifestări grave sunt întâlnite la sugarii alimentați artificial care fac acut și adeseori mortal așa numita “boală albastră a sugarului” sau methemoglobinemia.

În aceleași condiții de mediu (apă poluată) adulții fac intoxicații cronice, care din nefericire nu sunt sesizate la timp de pacient sau ajung să fie atribuite altor cauze, și ca atare sunt tratate incorect.

Având în vedere aceste date, prin lucrarea de față mi-am propus să analizez câteva aspecte legate de situația sănătății în relație cu calitatea apei în județul Constanța.

Cuvinte cheie: apă, nitrați , sănătate, methemoglobină, antioxidanți

1. Motivația temei de doctorat

Am ales această temă pentru că expunerea la nitrații proveniți din factorii de mediu și în special din apă reprezintă încă o problemă de sănătate publică, atât în România, cât și în multe țări din lume (Anglia, Irlanda, Franța, Belgia, Germania, Italia, Spania, Israel, USA, Canada, China, Rusia, etc.).

Importanța temei :

- Nitrații sunt substanțe chimice cu acțiune nocivă asupra organismului, iar prezența lor în apă nu trebuie să depășească o limită maximă admisă stabilită de legislația în vigoare.
- Consumul de apă cu nitrați în concentrații mari poate duce la intoxicație cu nitriți (methemoglobinemie).
- Din populația generală categoria cea mai afectată de calitatea necorespunzătoare a apei o reprezintă sugarii alimentați artificial cu lapte praf la prepararea căruia se folosește o astfel de apă.
- În țara noastră există o incidență ridicată a methemoglobinemiei , cu mortalitate semnificativă la copii sub 1 an.
- Boala se mai poate produce și prin consumul de alimente vegetale ce au fost cultivate pe terenuri intens fertilizate cu îngrășăminte chimice pe bază de azot .
- Însă aportul continuu de nitrați prin apă și alimente duce la intoxicația cronică a copilului și chiar a adultului.
- Dacă pentru cazurile de intoxicație acută cu nitrați există mai multe date de referință la noi în țară, pentru intoxicația cronică acestea sunt puține.
- Pe plan internațional pentru expunerea cronică rezultatele sunt controversate .

2. Obiectivele tezei de doctorat

Studiul își propune analizarea unor cauze favorizante ale methemoglobinemiei toxice și a efectelor asupra stării de sănătate produse de expunerea cronică la concentrațiile crescute de nitrați și nitriți din apă în vederea eficientizării profilaxiei acestei afecțiuni dificil de anticipat .

Am abordat un studiu interdisciplinar corelând datele de Fiziologie cu cele de Igienă pentru a stabili în ce măsură anumite investigații prezintă importanță pentru depistarea precoce și dimensionarea riscului pentru sănătatea umană în cazul expunerii cronice la nitrați și nitriți.

3. MATERIALE ȘI METODE DE STUDIU

Materiale de studiu pentru analiza apei

Pentru a analiza calitatea apei din județul Constanța și a identifica zonele ce prezintă depășiri la valorile maxime admise pentru nitrați și nitriți, am efectuat analize chimice și microbiologice pe probele de apă recoltate de pe raza județului Constanța, atât din mediul rural, cât și urban. Determinările s-au făcut în laboratorul Direcției de Sănătate Publică (DSP) Constanța, în perioada 2006-2011.

Pentru a putea estima consecințele expunerii cronice la concentrații crescute de nitrați am prelucrat datele având în vedere mediile de proveniență, concentrațiile indicatorilor și tipurile de sisteme de aprovizionare cu apă.

Materiale de studiu pentru analiza morbidității

Pentru studiul morbidității am analizat cazurile de intoxicație cu nitriți din județul Constanța din perioada 2006-2011, precum și cazurile de boli cronice înregistrate de medicii de familie din localitățile selectate pentru studiu, din aceeași perioadă.

Pentru analiza cazurilor de intoxicație am folosit datele preluate de la Direcția de Sănătate Publică– Constanța, din fișele de raportare a cazurilor de methemoglobinemie infantilă generate de consumul de apă.

Pentru analiza bolilor cronice am folosit datele preluate din registrul de boli cronice al medicilor de familie, din fișele de evidență a pacienților și din fișele de raportare a cazurilor către Casa de Asigurări de Sănătate Constanța.

Loturile de studiu

În studiu au fost incluse 180 de persoane selectate din mediul rural, din două localități ale județului Constanța. Toate persoanele se află în evidența medicilor de familie din localitățile respective.

Persoanele au fost împărțite în două loturi după cum urmează:

- **lotul test – format din 90 de persoane** provenite dintr-o localitate în care apa furnizată populației în sistemul centralizat de aprovizionare depășește concentrația maximă admisă pentru nitrați (localitate cu expunere cronică la nitrați – Corbu);
- **lotul martor (lot control) - format din 90 de persoane** provenite dintr-o localitate în care nivelul nitraților din apa furnizată populației în sistem centralizat se încadrează în limitele stabilite de legislația în vigoare (Limanu).

Criterii de includere în studiu

- vârsta subiectului între 18- 38 ani
- să locuiască de cel puțin 5 ani în localitatea monitorizată în studiu
- să utilizeze în scop potabil apa din sistemul centralizat de distribuție
- subiect aparent sănătos
- nefumător.

Criterii de excludere din studiu

- consum zilnic de apă îmbuteliată
- tratament cu suplimente nutritive în ultimele 3 luni
- subiect în evidență cu boli cronice.

Selectarea celor două localități incluse în studiu s-a făcut în funcție de:

- ✓ concentrația nitraților în apa furnizată populației prin sistemul centralizat de aprovizionare cu apă
- ✓ numărul de locuitori
- ✓ receptivitatea și dorința de implicare a medicilor de familie la realizarea studiului.

Metode de studiu

Pentru evaluarea calității apei am făcut determinări biochimice (nitrați, nitriți, amoniac, substanțe organice) și microbiologice (număr total de germeni, enterococi, Escherichia coli).

Pentru evaluarea loturilor de studiu am recoltat probe de sânge pentru determinarea: statusului antioxidant total, glutatation peroxidazei, superoxid dismutazei și methemoglobinei.

4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

4.1. Analiza sistemelor de aprovizionare cu apă din județul Constanța

În prima etapă a cercetării am urmărit identificarea furnizorilor și a sistemelor de aprovizionare cu apă din județul Constanța, precum și stabilirea calității apei utilizată în scop potabil atât în mediul rural, cât și în cel urban, pentru a identifica localitățile cu risc de expunere la compuși azotați poluanți (nitrați/nitriți).

4.2. Intoxicația cu nitriți în județul Constanța

Având în vedere numărul mare al localităților care au înregistrat constant concentrații crescute ale nitraților în apa de consum în perioada 2006-2010, următorul pas al cercetării mele a fost studierea cazurilor de intoxicație cu nitriți de pe raza județului Constanța.

Am analizat cazurile în funcție de distribuția pe ani, mediul de proveniență, sex, vârstă, tipul de alimentație, forma clinică a bolii, valoarea methemoglobinei, prezența bolilor asociate și caracteristicile surselor de apă folosite în alimentația pacienților.

4.3. Analiza apei din cele două localități selectate pentru studiu

Analizând calitatea apei furnizată populației în scop potabil în perioada 2006-2010 am identificat localitățile cu valori normale ale nitraților în apa furnizată prin sistemul centralizat și localitățile ce înregistrează frecvent depășiri ale normelor sanitare în vigoare pentru nitrați. Pentru continuarea studiului am selectat câte o localitate din fiecare categorie.

Analiza apei din localitatea cu expunere cronică la nitrați (localitatea test)

În perioada 2006-2012 s-au recoltat 51 de probe de apă din sistemul centralizat al localității. În cadrul analizei chimice a apei am analizat următorii parametri: nitrați, nitriți, amoniac, substanțe organice.

37 dintre probele recoltate, reprezentând 72,54% din total nu s-au încadrat în normele legale pentru nitrați. Media nitraților depășește frecvent dublul valorilor normale. Valoarea maximă (458 mg/l) se atinge în 2008 și este de nouă ori mai mare decât normele sanitare !

Din totalul probelor, 21 au înregistrat valori necorespunzătoare în ceea ce privește prezența bacteriilor coliforme. Existența acestor bacterii într-o apă destinată potabilității reprezintă un risc epidemiologic major.

Analiza apei din localitatea cu valori normale ale nitraților (localitatea martor)

În perioada 2006-2012 au fost recoltate 46 de probe de apă din sistemul centralizat al localității martor. Analiza chimică a apei a relevat faptul că toate probele se încadrează în normele sanitare stabilite pentru conținutul de nitrați.

Pentru bacteriile coliforme în perioada 2006-2012 au existat 7 probe care nu se încadrează în normele stabilite de Ministerul Sănătății. Semnificația sanitară pentru aceste modificări este aceeași ca și în cazul celeilalte localități luate în studiu.

4.4.Stabilirea modelului de morbiditate în cele două localități selectate în studiu

Pentru a stabili modelul de morbiditate *în cele două localități selectate în studiu* am analizat numărul cazurilor de boli cronice înregistrate de medicii de familie în perioada 2006-2011, perioadă în care am analizat și calitatea apei din sistemul centralizat.

4.4.1. Prevalența cardiopatiei ischemice

Studiind prevalența cardiopatiei ischemice în cele două localități rurale (fig.1) am constatat că în localitatea martor aceasta nu prezintă variații majore pe parcursul celor 6 ani de studiu, ajungând de la 1,19‰ în 2006 la 1,62‰ în 2010, menținându-se la același nivel și în 2011.

În localitatea expusă la nitrați valorile prevalenței se află într-o creștere continuă de la 1,04‰ în 2006 la 2,44‰ în 2011.

Această evoluție poate sugera faptul că o reducere a capacității sângelui de a transporta oxigenul prin formarea methemoglobinei contribuie alături de alți factori la apariția ischemiei miocardice.

Nu am găsit studii care să stabilească o relație dintre expunerea la nitrații din factorii de mediu și prevalența cardiopatiei ischemice.

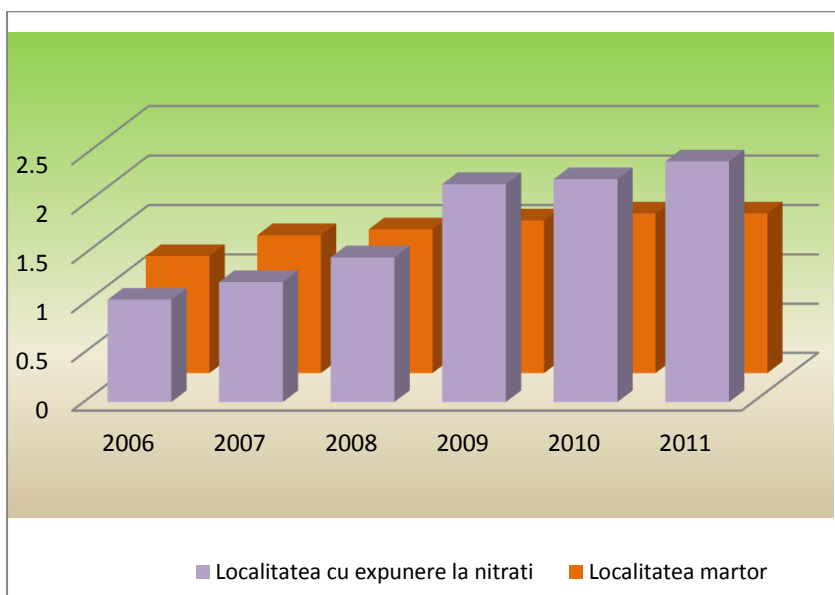


Figura 1 - Prevalența cardiopatiei ischemice

4.4.2. Prevalența diabetului zaharat non-insulinodependent (tip 2)

Urmărind prevalența diabetului zaharat tip 2 am remarcat, pe parcursul perioadei analizate, că în localitatea martor există o evoluție ascendentă în intervalul 2007 – 2010, de la 16,2% la 19,87% urmată de o stagnare a înregistrării de cazuri noi de boală (fig.2).

Pentru localitatea expusă la nitrați tendința de creștere se menține în fiecare an și este mult mai mare decât în localitatea martor. Dacă în 2006 prevalența diabetului avea o valoare de 8,15%, în 2011 ea ajunge la 20,89%. Astfel putem spune că în 2011 există aproximativ de două ori și jumătate mai multe cazuri decât în 2006.

Creșterea numărului de cazuri se corelează cu creșterea concentrației de nitrați din apa furnizată populației prin sistemul centralizat de aprovizionare.

Nu am găsit date în literatura de specialitate în legătură cu prevalența diabetului în zonele expuse la nitrați, în schimb conform studiilor privind patogeneza diabetului zaharat, stresul oxidativ este implicat în apariția și evoluția cazurilor de diabet, iar MetHb este un marker important de măsurare a stresului oxidativ la acești pacienți [1, 2].

Un studiu publicat în 2008 de specialiștii de la Centrul Național de Cercetare din Cairo demonstrează că la pacienții cu diabet zaharat non-insulinodependent concentrația MetHb este de trei ori mai mare decât la pacienții sănătoși [3].

În aceste condiții este evident că starea de sănătate a persoanelor în general și a pacienților cu diabet în special, va fi profund afectată prin expunerea la nitrați, care reprezintă un factor favorizant de oxidare a fierului feros (Fe^{2+}) din structura hemoglobinei și de conversie a acesteia în methemoglobină.

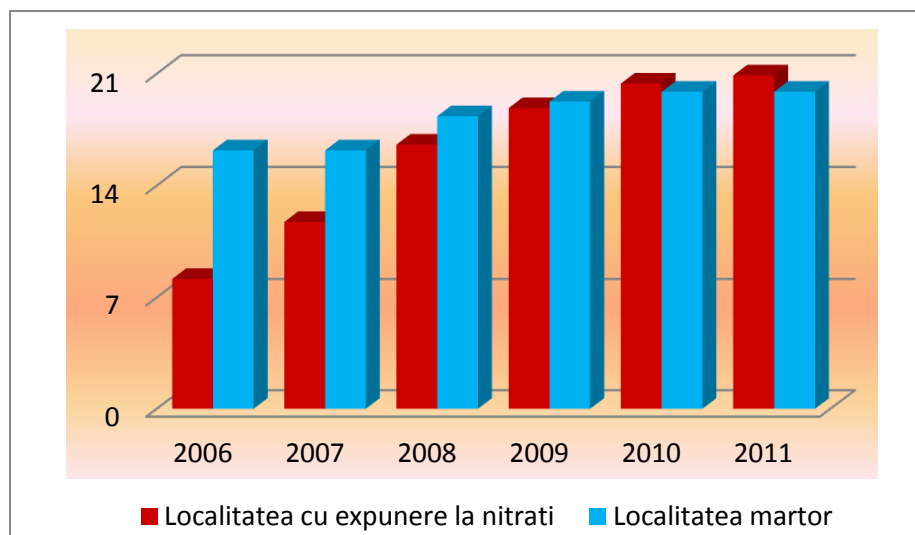


Figura 2 - Prevalența diabetului zaharat tip 2

4.4.3. Prevalența bolilor hepatice cronice

Prevalența bolilor hepatice cronice este mai mare în localitatea cu expunere cronică la nitrați (fig.3) și se află într-o continuă creștere, de la 9,1% în 2006 la 17,58% în 2010. În anul 2011 scăderea ușoară a prevalenței este determinată de decesul unor pacienți.

Pentru localitatea ce prezintă valori normale ale nitraților în apa din sistemul centralizat de distribuție a apei, prevalența bolilor hepatice cronice are valori foarte mici, între 1,2 și 2,75%.

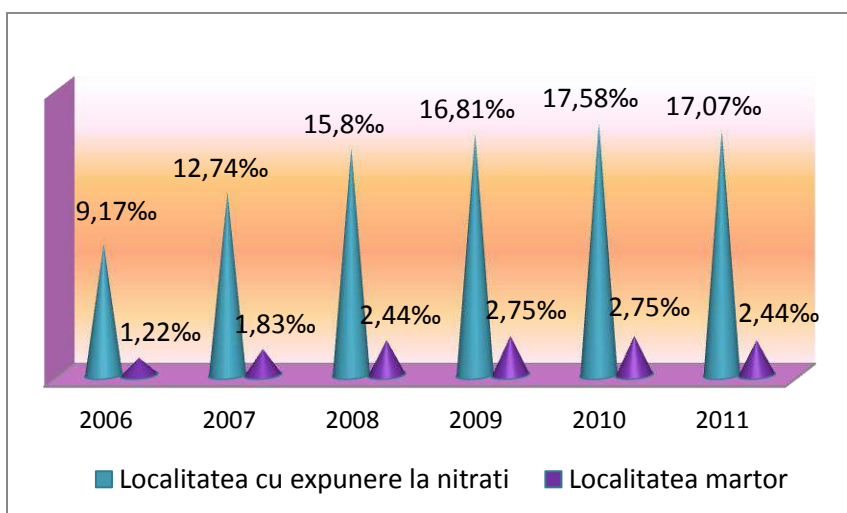


Figura 3 - Prevalența bolilor hepatice cronice

Nu există date în legătură cu hepatotoxicitatea apei cu un conținut mare de nitrați, dar diferența mare între prevalența bolilor hepatice cronice în cele două localități nu poate fi întâmplătoare.

Apa cu un conținut mare de nitrați e posibil să mai conțină structuri chimice pe care nu le urmărim sau care ne scapă și care afectează ficatul.

Pe de altă parte, apa cu nitrați este o apă care a avut la un moment dat o încărcătură organică. O astfel de apă e foarte posibil să conțină și paraziți, iar Giardia este cel mai frecvent parazit transmis prin intermediul apei. Ea se fixează la nivel intestinal, dar poate ajunge și în vezicula biliară. Ca urmare, o disfuncție biliară prin giardioză cronică va duce la o perturbare cronică și a funcției hepatice.

Putem să luăm în discuție carențe nutritive sau consum alcoolic, dar cunoscând cele două comunități prin deplasările ce le-am făcut în localitățile selectate în studiu, exclud că unii pot fi niște etilici cronici și alții nu.

Ca urmare, subiectul merită a fi cercetat mai amănunțit pe viitor, având în vedere consecințele grave ale hepatitelor cronice: ciroza hepatică și cancerul hepatic.

4.4.4. Prevalența bolilor pulmonare cronice

În cazul bolilor pulmonare cronice în localitatea cu nivel crescut de nitrați în apă, se remarcă aceeași tendință de creștere a prevalenței de la un an la altul de la 10,19‰ la 15,54‰ (fig.4). În localitatea martor prevalența bolilor pulmonare cronice are o ușoară creștere în intervalul 2006-2008, de la 7,33 la 8,25‰, după care valorile se mențin relativ constante până în 2011.

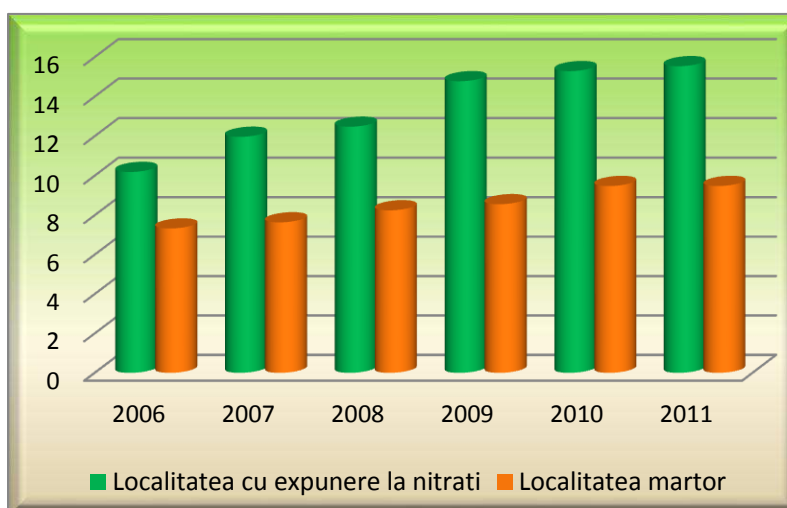


Figura 4 – Prevalența bolilor pulmonare cronice

Realizarea unui aport crescut de nitrați prin apă și alimente, crește riscul de formare a unei cantități mai mari de methemoglobină cu afectarea capacității de transport a oxigenului de la plămâni spre țesuturi, perturbându-se astfel funcționalitatea aparatului respirator.

4.4.5. Prevalența neoplasmelor

Analizând cazurile de neoplasme aflate în evidența medicilor de familie, am constatat că în localitatea expusă nivelelor mari de nitrați din apă, prevalența se află în permanentă creștere în perioada 2006-2010.

Pentru localitatea martor în același interval de timp nu se înregistrează variații majore de la un an la altul (fig.5).

Pentru anul 2011 în ambele localități apare o scădere a prevalenței neoplasmelor, ca urmare a deceselor înregistrate în rândul acestei categorii de pacienți.

Așa cum se poate remarca și în figura de mai jos pentru fiecare an luat în studiu prevalența neoplasmelor are valori de peste două - trei ori mai mari în localitatea cu expunere la nitrați comparativ cu localitatea martor.

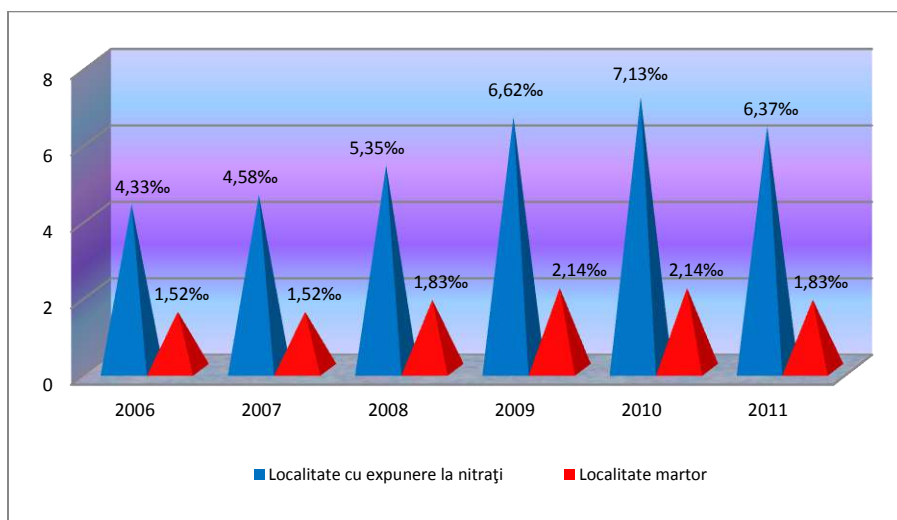


Figura 5 - Prevalența neoplasmelor

Mecanismul prin care se generează celulele tumorale are la bază formarea nitrozaminelor, compuși chimici care iau naștere prin unirea nitriților cu aminele secundare, ce rezultă din scindarea proteinelor. Procesul de formare a nitrozaminelor are loc preponderent la nivel gastric, datorită mediului acid care favorizează reacțiile chimice.

Specialiștii au opinii diferite în legătură cu rolul compușilor azotați din apă în apariția bolii canceroase, iar cele mai multe studii sunt legate de cancerul gastric. Astfel, implicarea nitraților din apă în patogeniza cancerului gastric și colo-rectal este susținută de rezultatele studiilor efectuate în America, Spania, China, Slovacia [4-8].

Pe de altă parte specialiștii din Canada susțin că nu există nici o legătură cauzală între cancerul gastric și nitrații din apă [9]. Mai mult chiar, Agenția Americană de protecție a mediului face demersuri pentru includerea nitraților și nitriților în categoria substanțelor fără potențial carcinogenic.

Având în vedere aceste date consider că orice studiu pe această temă este util pentru stabilirea exactă a rolului compușilor azotați în apariția formațiunilor tumorale.

Atât pentru cardiopatia ischemică , cât și pentru diabet, bolile pulmonare cronice, bolile hepatice cronice și neoplasme am constatat creșterea mai accentuată a prevalenței în localitatea expusă la nitrați în perioada 2006-2009, când concentrația nitraților din apa furnizată populației prin sistemul centralizat a fost pe un trend ascendent.

4.4.6. Analiza dezvoltării somato-ponderale și a stării de sănătate a nou născuților

Pentru a stabili particularitățile legate de acest aspect în cele două localități aflate în studiu, am analizat următorii parametri: durata sarcinii, sexul, greutatea și lungimea nou născutului și scorul Apgar.

După prelucrarea datelor putem spune că expunerea gravidelor la nitrații din factorii de mediu perturbă dezvoltarea somato-ponderală a produsului de concepție.

Nu am găsit studii privind dezvoltarea somato-ponderală a fătului în cazul expunerii cronice a gravidei la compuși azotați din apă. Există doar studii privind dezvoltarea fizică a copiilor cu antecedente de methemoglobinemie.

4.5.Evaluarea loturilor de studiu

4.5.1. Evaluarea methemoglobinei

În cadrul lotului test am identificat 52 persoane cu valori crescute ale MetHb, iar în lotul martor 18. Datele le-am introdus într-un tabel de contingență 2x2.

Pe baza datelor calculate valoarea OR (de 5,47 pentru un interval de încredere IC de 95%) indică faptul că riscul de apariție a unor valori crescute ale MetHb este semnificativ mai mare la persoanele care consumă apă bogată în nitrați ($p < 0,000002$)

Determinarea fracțiunii etiologice a riscului atribuibil (FRA) arată că o creștere a valorilor MetHb peste limita normală de 1% poate fi atribuită în 81,71% dintre cazuri unei expuneri cronice la nitrați.

Analizând distribuția persoanelor cu valori crescute ale MetHb în funcție de vârstă am constatat că ponderea cea mai mare se află la grupa 33-38 ani. Putem spune astfel că expunerea cronică la nitrați crește proporția de MetHb din sânge .

Date se corelează cu cele din literatura de specialitate ce indică o creștere a MetHb nu doar la copii, ci și la adulții expuși la nitrații din factorii de mediu [10].

4.5.2. Evaluarea unor markeri de apărare antioxidantă

4.5.2.1. Evaluarea statusului antioxidant total (TAS)

Determinând acest parametru la persoanele aflate în studiu am constatat o creștere a valorilor în rândul persoanelor din lotul test comparativ cu lotul martor (fig.6).

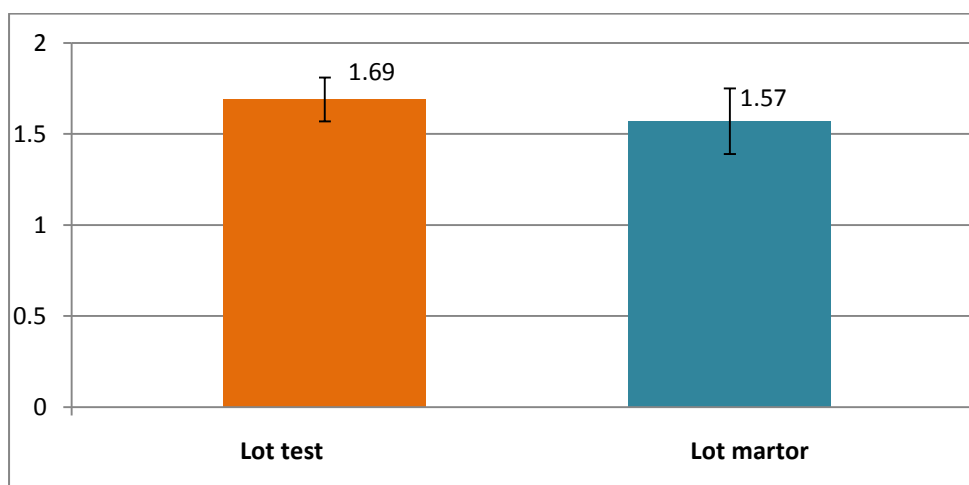


Figura 6 – Valorile medii ale TAS

Apărarea antioxidantă a organismului se realizează prin intermediul antioxidantilor endogeni și exogeni, dintre care mai importanți sunt superoxid dismutaza, glutatión peroxidaza, glutatión reductaza, glutatiónul, catalaza, peroxiredoxinele, vitaminele A, E, C, seleniul, coenzima Q, acidul uric, bilirubina, albumina, metalotioninele, melatonina, succinatul, porfirinele, arginina, citrulina, glicina, histidina, taurina, estrogenii, etc [11,12]. Acești antioxidanți neutralizează sau îndepărtează speciile reactive ale oxigenului, azotului.

Prin evaluarea statusului antioxidant total se obțin date despre activitatea globală antioxidantă a organismului și de aceea am determinat acest parametru.

4.5.2.2.Evaluarea superoxid dismutazei (SOD)

Superoxid-dismutaza reprezintă prima linie de apărare a organismului în fața stresului oxidativ.

În acest studiu, determinarea concentrației SOD eritrocitare a evidențiat o scădere a valorilor la persoanele din lotul test comparativ cu lotul martor (fig.7).

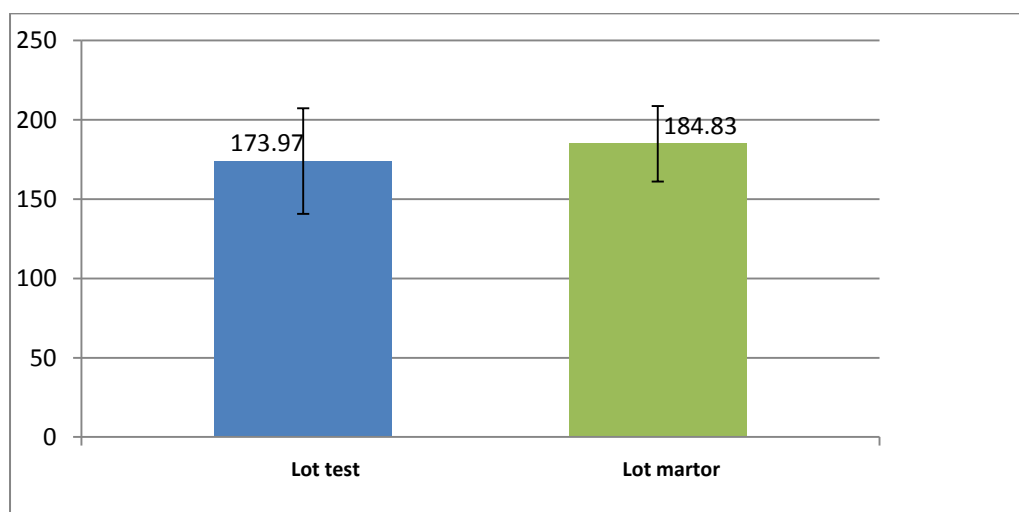


Figura 7 – Valorile medii ale SOD

Superoxid-dismutaza este principalul „scavenger” al superoxidului în celulele cu metabolism predominant aerob. Enzima catalizează dismutarea a doi radicali superoxid care se unesc și formează peroxidul de hidrogen. În felul acesta SOD controlează nivelul anionilor superoxid, împiedicând inițierea reacțiilor de formare a radicalilor hidroxil și peroxinitrit, care sunt foarte nocivi pentru organism [13, 14].

Concentrația intracelulară a enzimei influențează răspunsul organismului la efectele citotoxice ale SRO.

Studiile de specialitate relevă existența unei corelații între scăderea concentrației intracelulare a enzimei și creșterea efectelor citotoxice ale speciilor reactive ale oxigenului (SRO) [11, 13].

Ca urmare, scăderea activității SOD în expunerea cronică la nitrați favorizează producerea unor leziuni moleculare care în timp generează modificări ale stării de sănătate.

Pentru cei doi markeri de apărare antioxidantă (TAS și SOD) nu am găsit date în literatura de specialitate cu privire la modificările ce apar în cazul unui consum de apă cu nivel crescut de nitrați.

4.5.2.3.Evaluarea glutathion peroxidazei (GPx)

Glutathion peroxidaza face parte și ea din mecanismul de protecție împotriva agresiunilor oxidative.

Valorile medii ale GPx pentru cele două loturi sunt prezentate în figura 8.

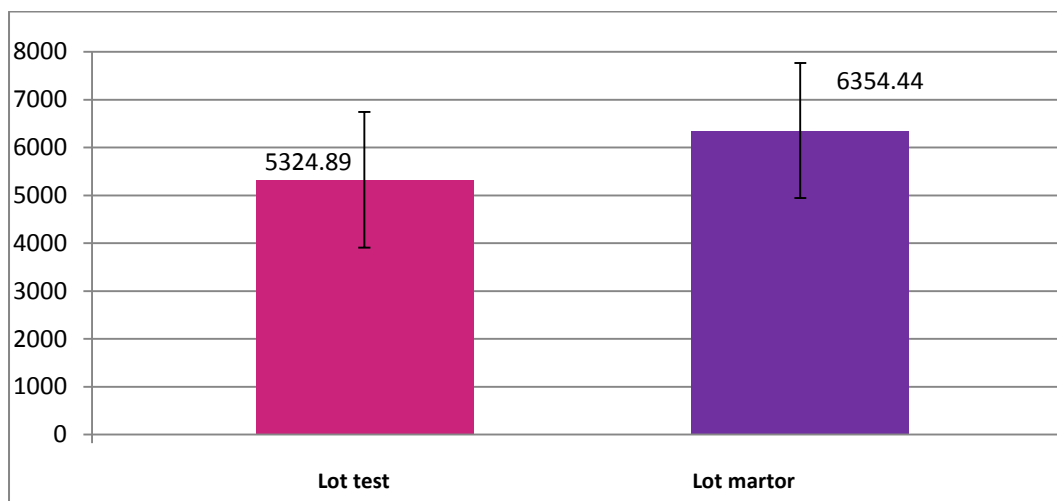


Figura 8 – Valorile medii ale GPx

4.6.Corelația între valoarea MetHb și markerii de apărare antioxidantă

4.6.1. Corelații între valoarea methemoglobinei și statusul antioxidant total (TAS)

Analizând corelația între valoarea MetHb și TAS (fig.9) am constatat că există o legătură liniară pozitivă între cele două serii de date ($r=0,44$, $p<0,0001$).

Pătratul coeficientului de corelație arată faptul că 19,5% din variația TAS se datorează relației liniare cu MetHb.

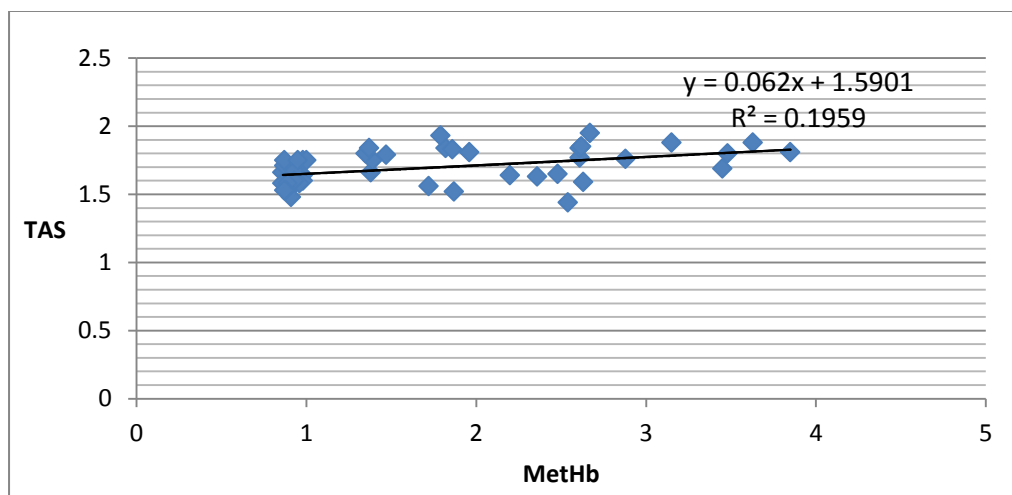


Figura 9 - Corelații între MetHb și TAS

4.6.2. Corelații între valoarea methemoglobinei și SOD

Coeficientul de corelație între valorile MetHb și cele ale SOD înregistrează în acest studiu o valoare de - 0,30 ($p < 0,003$), fapt ce sugerează că o creștere a MetHb se însoțește, în cazul expunerii cronice la nitrați, de o scădere a valorilor SOD (fig.10).

Pătratul coeficientului de corelație arată faptul că 9,4% din variația SOD se datorează relației liniare cu MetHb.

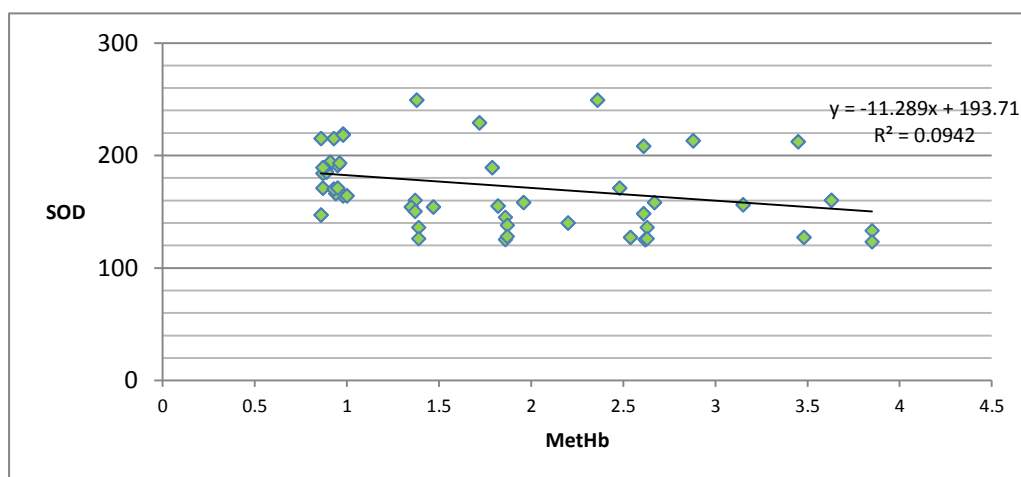


Figura 10 - Corelații între MetHb și SOD

4.6.3. Corelații între valoarea methemoglobinei și GPx

Glutation peroxidaza reprezintă de asemenea un mecanism de protecție împotriva agresiunilor oxidative. Ea intervine în reducerea peroxidului de hidrogen și a hidroperoxizilor organici [14-17].

În acest studiu am constatat că activitatea GPx scade în cazul expunerii cronice la compuși azotați.

Studiind corelația între MetHb și GPx am constatat o valoare “r” de -0,12 ($p = 0,23$), ceea ce indică o corelație slabă între valorile celor două categorii de date (fig.14).

Pătratul coeficientului de corelație arată faptul că doar 1,5% din variația GPx se datorează relației liniare cu MetHb (fig.11).

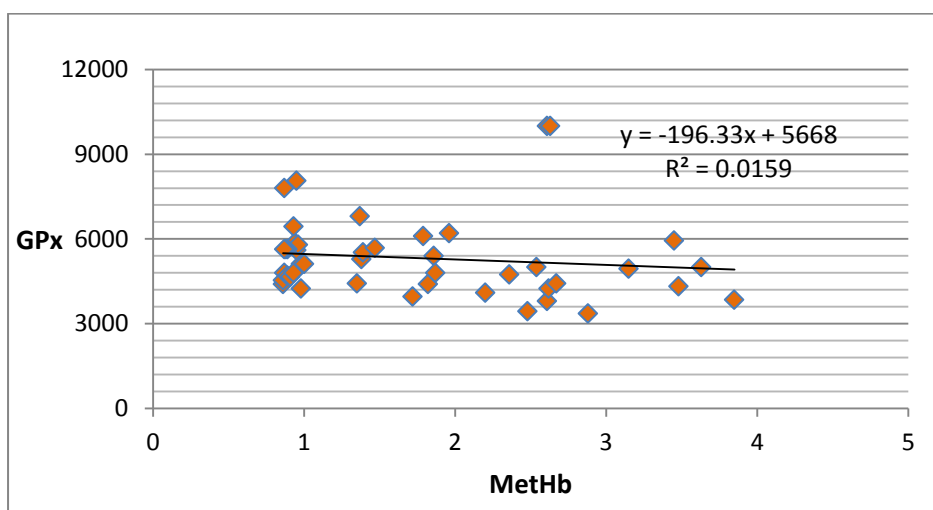


Figura 11 - Corelații între MetHb și GPx

Analizând corelația între valoarea MetHb și cei trei markeri ai apărării antioxidante am constatat o legătură semnificativă în ceea ce privește valorile MetHb și cele ale TAS și SOD.

Pentru GPx corelația este slabă. Datele sunt în concordanță cu cele constatate în 2002 de Mancaș și colaboratorii, la un lot de copii, care arată că nu există o corelație semnificativă între nivelul MetHb și GPx la pacienții expuși la nitrați comparativ cu lotul neexpus [18]. Nu am găsit date în ceea ce privește expunerea în cazul persoanelor adulte.

5. Concluzii

- În **mediul rural** se înregistrează cele mai multe cazuri de abatere de la normele sanitare privind calitatea apei;
- În sistemul individual de aprovizionare cu apă al mediului rural calitatea chimică și microbiologică a acesteia este mai frecvent necorespunzătoare normelor decât apa furnizată în sistem central;
- Și în sistemele centralizate rurale există din păcate o expunere cronică la nitrați și un risc relativ constant față de epidemia hidrică;
- În **mediul urban** parametri chimici privind calitatea apei s-au încadrat în normele sanitare în peste 90% din cazuri;
- **Analiza** probelor de apă **pe localități** demonstrează existența unor zone a căror populație este permanent expusă poluării hidrice;
- Din cercetare reiese că acestea sunt supuse deversărilor organice periodice care sunt surprinse în stadiile tardive, sub formă de nitrați;
- Datorită condițiilor meteorologice nefavorabile, anul 2007 înregistrează cele mai frecvente modificări ale parametrilor de calitate ai apei potabile.
- În intervalul 2006-2010 în județul Constanța s-au înregistrat 28 de cazuri de **intoxicație cu nitriți**.
- Toți pacienții au avut vârsta sub un an, iar alimentația copiilor a fost de tip mixt sau artificială favorizând astfel apariția intoxicației.
- Valoarea medie a methemoglobinei înregistrată la pacienți a fost de $28,85 \pm 23,31\%$ din hemoglobina totală.
- Peste 90% dintre copii prezentau comorbidități de cauză infecțioasă care creează condiții optime pentru transformarea nitraților în nitriți, sub acțiunea germenilor nitrat-reducători.
- Majoritatea cazurilor de intoxicație au apărut prin utilizarea sistemelor individuale de aprovizionare cu apă și doar un caz prin utilizarea sistemului centralizat.
- Cauza poluării apei o constituie amplasarea în apropierea sursei de apă a zonelor de depozitare a gunoierului, latrinei, adăposturilor pentru animale, precum și utilizarea în agricultură a îngrășămintelor naturale sau artificiale generatoare de compuși azotați.

- Au existat și două cazuri în care nivelul nitraților din apă s-a încadrat în limitele normale sugerând implicare consumului de legume bogate în nitrați în apariția methemoglobinemiei.
- **Analizând calitatea apei din localitatea test**, am constatat că din totalul de 51 de probe de apă recoltate în perioada 2006-2012, 72,54% au depășit limita maximă admisă pentru nitrați .
- Pentru parametrii chimici ce vizează poluarea recentă (substanțe organice, amoniac) nu am constatat depășiri ale normelor sanitare în niciuna dintre probele recoltate în această perioadă .
- În cazul nitriților (parametru ce indică poluarea relativ recentă) doar 3 probe au fost necorespunzătoare.
- Reiese astfel faptul că poluarea organică a apei este surprinsă cel mai adesea în stadiile tardive, sub formă de nitrați.
- În ceea ce privește evaluarea calității microbiologice a apei din localitatea test, am constatat că din totalul probelor, 21 au înregistrat valori necorespunzătoare în ceea ce privește prezența bacteriilor coliforme fapt ce reprezintă un risc epidemiologic major.
- **La analiza apei din localitatea martor** am constatat că toți parametrii chimici monitorizați se încadrează în normele sanitare.
- Legat de evaluarea calității microbiologice a apei am constatat și aici existența unor probe (7 la număr), care nu se încadrează în normele stabilite de legislația în vigoare, semnificația sanitară fiind aceeași ca și cea prezentată anterior.
- **Studiind evoluția bolilor cronice** (cardiopatie ischemică, diabet zaharat tip 2, boli pulmonare cronice, boli hepatice cronice, neoplasme), în cele două localități luate în studiu am constatat o creștere semnificativă a numărului de cazuri în localitatea expusă cronic la nitrați .
- **Expunerea gravidelor** la nitrații din factorii de mediu perturbă dezvoltarea somato-ponderală a produsului de concepție: durata medie a sarcinii este mai mică, la fel și greutatea și lungimea copiilor la naștere .
- 61,83% dintre cazurile de nou născuți cu greutate mică la naștere și 72,14% dintre cazurile de nou născuți cu o lungime mică la naștere pot fi atribuite expunerii cronice la nitrați.

- Scorul Apgar a avut valori mai mici în cazul expunerii la nitrați, iar nota maximă apare doar la 2% dintre cazuri, în timp ce în localitatea martor ea apare în 36,6% dintre cazuri .
- **Determinând MetHb** și analizând statistic datele pe baza modelului de anchetă epidemiologică tip caz-control am constatat că riscul de apariție a unor valori crescute este semnificativ mai mare la persoanele care consumă apă bogată în nitrați (OR 5,47 pentru IC de 95%).
- Grupa de vârstă 33-38 de ani are cele mai multe valori crescute ale MetHb.
- Având în vedere faptul că prin fierbere nitrații existenți în apă și alimente se concentrează și că peste jumătate din persoanele aflate în lotul test folosesc preponderent produse alimentare provenite din gospodăriile proprii (așa cum reiese din chestionar), putem spune că, în acest caz, și alimentația, alături de apă, reprezintă un factor de risc pentru creșterea concentrației de methemoglobină.
- La determinarea statusului antioxidant total am constatat o creștere semnificativă a valorilor în rândul persoanelor din lotul test comparativ cu lotul martor. Pe baza datelor acumulate în studiu putem spune că acesta este un mecanism prin care organismul răspunde la stresul oxidativ generat de expunerea la nitrați.
- Determinarea concentrației SOD eritrocitare și a GPx a evidențiat o scădere a valorilor la persoanele din lotul test comparativ cu lotul martor .
- Datele din acest studiu sugerează astfel că în expunere cronică la nitrați mecanismele enzimatice de apărare antioxidantă sunt depășite, enzimele prezentând valori scăzute.
- Diminuarea acestor sisteme de apărare antioxidantă nu determină obligatoriu disfuncții organice manifestate acut, dar cu siguranță prin asocierea și a altor factori etiologici, riscul dezvoltării afecțiunilor cronice crește, așa după cum o demonstrează și tabloul morbidității prezentat anterior.
- Ținând cont de rezultatele obținute consider că această cercetare este un pas important în depistarea și evaluarea perturbărilor produse de expunerea cronică a adulților la compuși azotați poluanți din factorii de mediu și că este important și interesant de extins cercetarea și pentru Giardia.

BIBLIOGRAFIE

1. Moussa S.A – Oxidative Stress in Diabetes Mellitus, Romanian J. BIOPHYS., Vol. 18, No. 3, 2008, Bucharest, p. 225–236;
2. Halliwell B, Cross Ce, Gutteridge Jmc. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?. J Lab Clin Med 1992; 119: 598-620;
3. Hura C.- Conținutul în nitrați și nitriți în unele produse vegetale, Revista Jurnal de Medicină Preventivă, vol.3, nr.3-4, 1995, p.35;
4. Ward M., Dekok T., Levallois P., Brender J., Gulis G., Nolan B., Vanderslice J.- Workgroup report: drinking-water nitrate and health--recent findings and research needs- Environ Health Perspect. 2005 Nov ; 113 (11):1607-1614;
5. Morales-Suárez-Varela MM., Llopis-Gonzalez A., Tejerizo-Perez ML.- Impact of nitrates in drinking water on cancer mortality in Valencia, Spain- Eur J Epidemiol. 1995 Feb;11(1):15-21;
6. Chen K., Yu W., Ma X., Yao K. and Jiang Q.-The association between drinking water source and colorectal cancer incidence in Jiashan County of China: a prospective cohort study- The European Journal of Public Health 2005, 15(6): 652-656;
7. Weyer PJ., Cerhan JR., Kross BC. et al.- Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the Iowa Women's Health Study- Epidemiology 2001,12: 327–338;
8. Gulis G., Czompolyova M., Cerhan JR.-An ecologic study of nitrate in municipal drinking water and cancer incidence in Trnava District, Slovakia- Environ Res 2002; 88:182–187;
9. Alexa L, Gavăt V, Melinte C. - Curs de igienă - Litografia UMF Gr.T.Popa Iași 1994: 136-142, 193-199;
10. Gupta SK AK., Bassin., Gupta RC., Gupta AB., Seth JK., Gupta A.- Bulletin of the World Health Organization, 1999, 77(9), 749-752.
11. Tache S. – Capacitatea antioxidantă a organismului. In: Dejica D.(ed): Antioxidanți și terapie antioxidantă., Casa Cărții de Știință 2001, Cluj-Napoca, p. 71-101.

12. Adumitresi Cecilia, N. Ceamitru, Ileana Ion, Ninela Rădulescu, Carmen Ciufu, Cristina Farcaș, G. Badiu- Evaluation of Total Antioxidant Status in Guinea Pigs in Simulated Unitary Dives at 6 Absolute Atmospheres; Physiology, 2006; Vol.16, 2 (50): 41-43.
13. Scott M.D., Eaton J.W., Kuypers F.A., Chiu D.T.-Y. Lubin B.H. -Enhancement of Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity: Effects on Cellular Oxidant Defense, Blood, Vol. 74, Nr. 7 (Nov. 15), 1989, 2542-2549.
14. Yamamoto Y, Takahashi K.-Glutathione peroxidase isolated from plasma reduces phospholipid hydroperoxides. Arch Biochem Biophys 1993 Sep; 305(2):541-5.
15. Takahashi K, Avissar N, Whitin J, Cohen H.- Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. Arch Biochem Biophys 1987 Aug 1; 256(2): 677-86.
16. Condell R.A., Tappel A.L. - Evidence for suitability of glutathione peroxidase as protective enzyme: Studies of oxidative damage restoration and proteolysis. Arch Biochem. Biophys. 1983; 223: 407-416.
17. Thorpe, G. W.; Fong, C. S.; Alic, N.; Higgins, V. J.; Dawes, I. W.- Cells have distinct mechanisms to maintain protection against different reactive oxygen species: oxidative-stress-response genes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2004; 101: 6564–6569.
18. Mancaș G, Vasilov M, Albu G - Adverse Health Effects Associated with Methemoglobinemia in children -The journal of Preventive Medicine 2002; 10 (1):11-17;