

УДК [591.111+591.144] : 615.777.97-099.

СИСТЕМА КРОВИ И ЗАПРОГРАММИРОВАННАЯ ГИБЕЛЬ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*И.А. Пашкевич
Ю.А. Успенская
В.В. Нефедова
А.Б. Егорова*

Введение

В последние годы случаи отравления сельскохозяйственных животных солями тяжелых металлов приобретают массовый характер. Одной из причин интоксикации организма животных являются загрязнение окружающей среды отходами производственных объектов, чрезмерный рост численности автотранспорта и содержание в кормах токсических веществ, в частности ионов свинца. В настоящее время свинец как приоритетный загрязнитель окружающей среды, ежегодные промышленные и транспортные выбросы которого превышают 400 000 т, вызывает повышенный интерес [1].

Являясь политропным ядом, свинец действует на все органы и ткани, в том числе и на систему крови. В то же время механизмы токсического и физиологического действия свинца, особенно на кроветворение и запрограммированную гибель клеток костного мозга, до настоящего времени изучены весьма слабо и раскрыты значительно хуже, чем других жизненно необходимых микроэлементов.

В связи с этим целью настоящей экспериментальной работы явилось изучение влияния различных доз уксуснокислого свинца (ацетат свинца) на функциональную активность кроветворения.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 30 беспородных белых мышах-самцах массой 18-20 г, которые были распределены в 6 групп.

Животным 1-й группы вводили ацетат свинца в дозе 20 мг/кг в течение 5 дней внутривенно; 2-й группе – контрольные животные – вводили физиологический раствор в течение 5 дней; 3-й группе – опытные животные – вводили ацетат свинца в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней и на 1, 5, 10, 14-е сутки проводили исследования. В 4-й группе использовали ацетат свинца в дозе 30 мг/кг в течение 14 дней. В 5-й группе загрузка свинцом в дозе 20 мг/кг длилась 14 дней, после чего исследования проводились на 14, 21, 28-е

сутки для изучения процесса восстановления гемопоэза в костном мозге, 6-й группе – контрольные животные – вводили физиологический раствор в течение 14 дней.

Исследования периферической крови проводили путем определения концентрации гемоглобина, подсчета содержания эритроцитов и ретикулоцитов стандартными методами [3].

Изучение процессов запрограммированной клеточной смерти (апоптоза) в костном мозге проводили методом световой микроскопии. Под иммерсией (увеличение $\times 1000$) анализировалось по 200 клеток на каждой мазке костного мозга, окрашенном по Папенгейму [3]. При этом морфологическими признаками апоптоза считали конденсацию хроматина, кариорексис и кариопикноз, уменьшение размеров клеток. На препаратах подсчитывали также клетки в состоянии блеббинга (пузыреподобные выпячивания мембраны) и некроза (набухание клетки, кариолизис) [6,7].

Определение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в суспензии клеток костного мозга проводили путем измерения содержания малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов позволяет отметить наличие определенных изменений изучаемых показателей у животных всех групп.

Введение ацетата свинца в дозе 20 мг/кг в течение 5 дней не вызывало изменения концентрации гемоглобина и количества эритроцитов у опытных животных, однако количество ретикулоцитов достоверно повышалось по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$) (табл.).

Введение ацетата свинца в той же дозе в течение 14-ти дней не оказывало значительного влияния на число эритроцитов, но приводило к снижению кон-

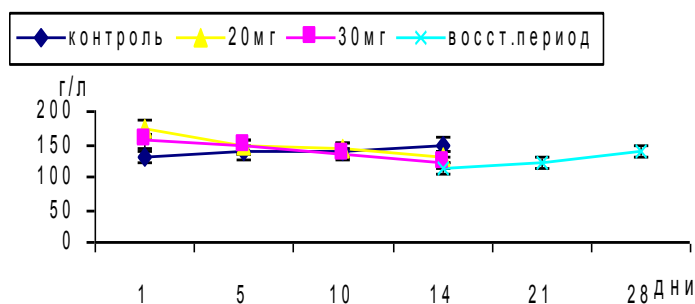
центрации гемоглобина к 14-м суткам введения препарата и одновременно к прогрессирующему увеличе-

нию количества ретикулоцитов с пиком к 14-му дню исследования (рис. 1).

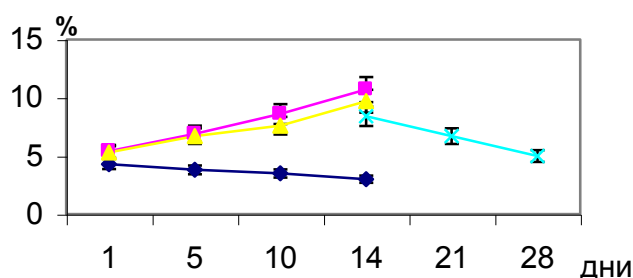
Таблица

Изменение параметров красной крови при 5-дневной затравке ацетатом свинца в дозе 20 мг/кг

Группа	Эритроциты, млн	Гемоглобин, г/л	Ретикулоциты, %
Контроль	7,05±0,12	164,22±9,86	6,37±0,18
Опыт	7,74±0,33	165,8±6,18	7,9±0,62*



а



б

Рис.1. Динамика изменений крови при действии ацетата свинца:
а – концентрации гемоглобина; б - количества ретикулоцитов

Анемия, вызванная введением ацетата свинца в дозе 30 мг/кг, оказалась более выраженной, чем вызванная дозой 20 мг/кг. Так, если в первом случае эритроциты к 14-м суткам составляли 7,33±0,11 млн (P<0,001), то при затравке мышей свинцом в дозе 20 мг/кг их количество составляло 8,71±0,28 млн. Аналогичная ситуация наблюдалась в отношении концентрации гемоглобина. Еще более выражено повышалось содержание эритроцитов молодых форм. При наблюдении за мышами, получавшими ацетат свинца в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней, отмечалось восстановление всех показателей красной крови, которые к 28-му дню после 14-дневной затравки практически возвращались к уровню контроля.

Таким образом, в нашем эксперименте с воздействием химического ксенобиотика (ацетат свинца) установлено усиленное разрушение зрелых эритроцитов периферической крови, в основе которого может лежать нарушение гемоглобинсинтетических процес-

сов в эритроцитах и поступление в кровяное русло немолодых эритроцитов, характеризующихся снижением уровня сульфгидрильных групп и липопротеинового комплекса.

Неоднозначность выявляемых изменений метаболизма эритроцитов может объясняться одновременностью вовлечения в патологический процесс различных популяций эритроцитов. Так, в ретикулоцитах, в отличие от эритроцитов, активен цикл Кребса [5]. Поэтому при подостром введении ацетата свинца повышается содержание эритроцитов молодых популяций, что, согласно литературным данным, подтверждается повышением содержания в крови количества малатдегидрогеназы и яблочной кислоты [5].

Существует мнение, что возникающие при анемии активация фосфолипаз и пероксидация липидов мембран способствуют нарушению гомеостаза и биоэнергетики, что усиливает процессы деструкции клеток [5]. В механизме анемий, констатируемых при действии

экстремальных факторов, значительная роль отводится также возможным дефектам организации мембраны и цитоскелета эритроцитов, что в свою очередь приводит к индукции процессов апоптоза.

Действительно, введение ацетата свинца в дозе 20 мг/кг в течение 5 дней приводило к отчетливому увеличению количества клеток в состоянии блеббинга и некроза (в 3,5 и 2,5 раза соответственно). Подострое введение ацетата свинца в течение 14 дней в дозозависимой манере повышало количество клеток с морфологическими признаками апоптоза. При наблюдении за процессами регенерации костного моз-

га после 14-дневного курса введения ксенобиотика отмечалась тенденция к восстановлению кроветворения: клетки, находящиеся в состоянии блеббинга, и апоптотические клетки возвращались к контролю, при этом уровень некроза сохранялся еще довольно высоким (рис. 2).

По современным данным, в процессе разрушения эритроцитов и их повреждения могут принимать участие активные формы кислорода, количество которых при токсических воздействиях возрастает. Происходит активация перекисного окисления липидов, в том числе и липидов мембран эритроцитов.

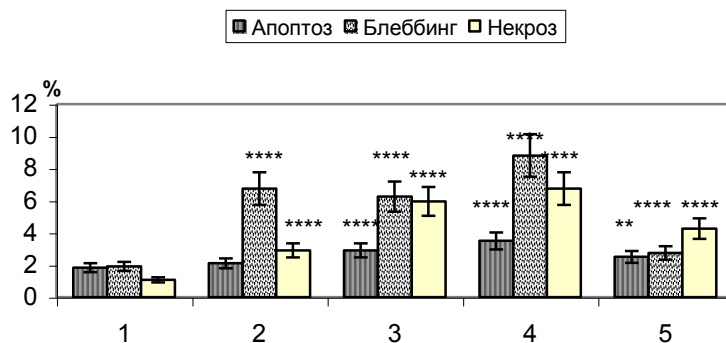


Рис. 2. Запрограммированная клеточная гибель в клетках костного мозга при подострой загрузке ацетатом свинца:

1 - контроль; 2 - введение ацетата свинца в дозе 20 мг/кг в течение 5 дней; 3 - введение ацетата свинца в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней; 4 - введение ацетата свинца в дозе 30 мг/кг в течение 14 дней; 5 - восстановительный период (схема исследования дана по тексту). Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,02$; **** $P < 0,001$

В проведенных нами исследованиях ацетат свинца индуцировал перекисное окисление липидов с проявлением зависимости «доза-эффект» и «время-эффект». Так, 5-дневный курс введения ксенобиотика в дозе 20 мг/кг увеличивал уровень МДА до $1,26 \pm 0,63$

мкмоль/л по сравнению с контрольной группой ($0,5 \pm 0,13$ мкмоль/л), а при 14-дневном курсе – до $1,97 \pm 0,13$ мкмоль/л. С увеличением дозы свинца происходила активация свободнорадикальных процессов (рис. 3).

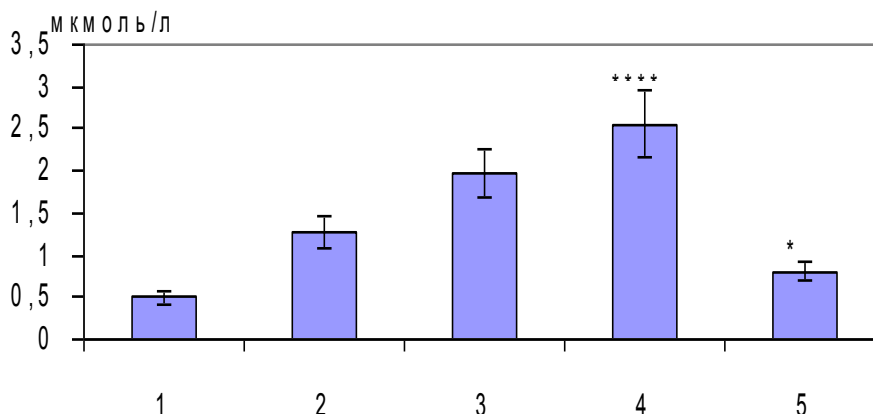


Рис. 3. Влияние ацетата свинца на индукцию перекисного окисления липидов в клетках костного мозга
Обозначения: см. рис. 2.

К 28-му дню исследования показатели перекисного окисления липидов приближались к таковым в контрольной группе, что может отражать процесс повышения мощности антиокислительных систем организма [4].

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что свинцовая интоксикация приводит к уменьшению количества эритроцитов в единице объема, концентрации гемоглобина и нарастанию числа ретикулоцитов. Вызванные изменения могут расцениваться как одно из проявлений резистентности организма со стороны эритрона, как начальная стадия процесса регенерации крови.

Индукция апоптоза, свинец стимулирует продукцию клетками активированных кислородных

метаболитов, что приводит к повреждению ДНК, нарушению функций митохондрий и изменению липидного состава мембран в результате активации радикальных окислительных процессов. Развитие окислительного стресса позволяет объяснить причины фрагментации ДНК и повышения деструкции мембран при апоптозе.

Раскрытие механизмов альтерации клеточных структур, вызванных химическими ксенобиотиками, и поиск путей коррекции их цитоповреждающего действия на гемопозитическую ткань позволит в дальнейшем разработать наиболее эффективную стратегию антиоксической защиты клетки и восстановления ее структурно-функционального гомеостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П. и др. Микроэлементозы человека. - М.: Медицина, 1991. - 496 с.
2. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. - 1988. - № 11. - С. 41-43.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. - Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. - 264 с.
4. Зенков Н.К. и др. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Успехи современной биологии. - 1999. - Т. 119. - № 5. - С. 440 - 450.
5. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. - М., 1997. - 480 с.
6. Messam C. A., Pittman R.N. Asynchrony and commitment to die during apoptosis // Experimental cell research. - 1998. - V. 238. - P. 389 - 398.
7. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide // Science. - 1995. - V. 267. - P. 1445 - 1449.



УДК 599.742.4 + 636.089

ПОВЫШЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ НОРОК С ПРИЗНАКАМИ ТОКСИЧЕСКОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ АДАПТОГЕНАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

О.В. Колосова

М.Д. Смердова

В последние годы возрос интерес к иммунодефицитам в связи с их большой важностью в клиническом и теоретическом отношении. Иммунодефициты являются результатом нарушения функциональной активности клеток неспецифической (моноциты, макрофаги, нейтрофилы) или специфической (Т- и В-лимфоциты, дефицит Ig A,M,G) иммунной системы [1,4]. Клиническое проявление иммунодефицитов ассоциируется с увеличением частоты и тяжести инфекции. Инфекционные процессы могут приводить к иммунодефицитам, а у животных с иммунологической недостаточностью они становятся хроническими и не поддаются традиционному лечению (антибиотики, сульфаниламиды и др.) [1,3].

Чаще всего иммунодефицитные состояния возникают у молодых животных, что предопределено развитием иммунной системы в онтогенезе. В неонатальный период уровень формирования эффекторных за-

щитных реакций организма еще недостаточен. Это обусловлено, с одной стороны, иммунологической толерантностью, которая связана с влиянием иммунных факторов материнского организма, с другой стороны, относительной незрелостью морфологических структур иммунной системы [2]. Существует очень большое количество факторов, приводящих к нарушению функции иммунной системы. Это и дефицит питания, дефицит отдельных витаминов и микроэлементов; инфекции, микотоксины, химиотерапевтические вещества и др. Растительные корма при правильном подборе в основном удовлетворяют потребность животных в аминокислотах. Однако длительное кормление однообразным кормом может привести к нарушению аминокислотного баланса [5].

В условиях хозяйства «Боготольское» мы наблюдали, что при скормливания в большом количестве мясных и рыбных продуктов, при нарушении