

КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Першин О. І.

УДК 546. 48:577. 12

Першин О. І.

СТАН СИСТЕМИ ЕРИТРОПОЕЗУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ПРИ ДІЇ КАТИОНІВ СВИНЦЮ

Львівський національний медичний університет

ім. Данила Галицького (м. Львів)

vorobets@meduniv.lviv.ua

Дана робота є фрагментом НДР «Дослідження функціонально-метаболічних резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних способів їх корекції», № держ. реєстрації 0111U000121.

Вступ. За умов сьогодення, при значному забрудненні навколошнього середовища сполуками важких металів актуальним є вивчення токсичних ефектів цих полютантів в організмі тварин і людини. Значний інтерес викликають дослідження впливу важких металів, у тому числі свинцю, на систему гемопоезу, яка забезпечує утворення функціонально активних клітин крові. До життєвонеобхідних функцій, що їх виконують форменні елементи крові, належить кисень-транспортна, яка опосередковується еритроцитами, та імунна, що здійснюється за участю лімфоцитів, нейтрофільних гранулоцитів та інших популяцій лейкоцитів [2, 5, 9].

Відомо, що кровотворна система включає в себе як поліпотентні кровотворні стовбурові клітини (КСК) й уніпотентні попередники еритро-, гранулоцито-, моноцито-, лімфоцито- і мегакаріоцитопоезу, так і низку популяцій клітин окремих ліній кровотворення, що перебувають на різних стадіях диференціації та дозрівання в органах гемопоезу і крові [3, 7, 11]. Охарактеризувати вплив певного чинника на гемопоез можна шляхом дослідження вмісту і динаміки популяцій клітин еритроїдної, мієлолоїдної та лімфоїдної ліній у кровотворних органах і крові, а також вивченням змін деяких функціональних показників (гематокритне число, об'єм еритроцита, кольоровий показник тощо) [1, 4, 6]. Незважаючи на те, що вивченням механізмів дії свинцю в організмі людини і тварин присвячено багато експериментальних робіт, аналіз впливу цього важкого металу на клітини різних популяцій крові у порівняльному аспекті дотепер не здійснювали. Більшість наявних у літературних джерелах даних стосується результатів досліджень токсичних ефектів свинцю в клітинах центральної нервової системи, печінки, нирок [1, 6, 8, 10]. Тому актуальним є вивчення впливу катіонів Pb^{2+} на систему кровотворення у тварин.

Мета дослідження полягала у вивчені впливу ацетату свинцю (за умов одноразового парентерального введення в дозі 10 мг/кг маси) на показники, що дають змогу оцінити динаміку процесів гемопоезу в організмі лабораторних білих щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводились на 40 безпородних білих щурах масою 150-180 г, яких утримували у віварії. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етических принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

З'ясування впливу катіонів свинцю на еритропоез проводили за умов одноразового парентерального введення ацетату свинцю лабораторним щуром. Тварин досліджували через 1, 3 і 10 діб після введення ацетату свинцю. Матеріалом вивчення була змішана периферична кров, яку отримували шляхом декапітації тварин дослідних і контрольної груп.

Дослідження кількості клітин крові (еритроцити) здійснювали за допомогою підрахунку в камері горєва. Відносний вміст популяцій еритроцитів крові (молоді, зрілі і старі клітини) визначали фракціонуванням в градієнті густини сахарози [1]. Для отримання еритроцитів гепаринізовану кров центрифугували на рефрижераторній центрифузі при 2500 г протягом 15 хв. Плазму відбирали, а клітини трохи-кратно промивали фізіологічним розчином (0,85% NaCl) з наступним центрифугуванням при 3000 г протягом 5 хв [1].

Різновікові фракції еритроцитів отримували фракціонуванням суспензії клітин у градієнті густини сахарози згідно з методом, який базується на змінах плавучої густини еритроцитів при дозріванні [1]. Для розділення клітин за плавучою густиною використовували концентрації моносахариду 30%, 24%, 18%, 12% і 6%. Із семи отриманих фракцій еритроцитів формували три фракції (молоді, зрілі, старі клітини) на основі цитологічного аналізу. Відносний вміст еритроцитів кожної фракції визначали спектрофотометрично.

Статистичну обробку результатів здійснювали в режимі програмного забезпечення на персональному комп'ютері з використанням критерію Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. При вивчені токсичних ефектів свинцю в організмі тварин значний інтерес становлять дослідження процесів еритропоезу, оскільки зміни вмісту

КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

еритроїдних клітин у кровообігу отруєніх катіонами важкого металу тварин можуть зумовлювати порушення кисень-транспортної функції крові [1, 8]. Результати досліджень показників, які характеризують інтенсивність цього процесу у щурів, яким вводили ацетат свинцю, представлені в **таблицях 1 і 2**.

Як видно з отриманих даних, загальна кількість еритроцитів крові щурів істотно не змінюється впродовж перших трьох діб після введення токсиканта, однак на 10-ту добу досліджень виявляється вірогідне зменшення ($P < 0,05$) цього показника з $5,25 \pm 0,20$ (у щурів контрольної групи) до $4,22 \pm 0,31$ (у тварин 3-ї дослідної групи) (**табл. 1**).

Водночас на 10-у добу експерименту вірогідно зменшується показник гематокриту крові піддослідних тварин (на 17,3%, $P < 0,05$), але об'єм еритроцита в цей період досліджень залишається стабільним. Однак аналізуючи зміни об'єму еритроцитів, необхідно зазначити збільшення цього показника в середньому на 28% у щурів групи Д1 через 24 год після ін'єкції ацетату свинцю.

Як відомо, склад еритроїдних клітин у крові тварин і людини неоднорідний, у кровообігу одночасно функціонують молоді, зрілі і стари еритроцити, які відрізняються своїми функціональними характеристиками [1, 7]. З представлених даних видно, що найбільшу частку в крові щурів і контрольної, і дослідних груп становить популяція зрілих еритроцитів. Відносний вміст фракції молодих і старих еритроцитів у крові ін tactих тварин становить, відповідно, 18,5% і 20,3% (**табл. 2**).

Результати досліджень динаміки популяцій еритроцитів у крові щурів, яким вводили ацетат свинцю, свідчать, що відносний вміст фракції зрілих клітин упродовж усього експерименту істотно не відрізняється від такого, що притаманний тваринам контрольної групи. Однак характерним є зменшення вмісту фракції молодих клітин у крові тварин групи Д3, аналізованих на 10-у добу після введення токсиканта ($P < 0,05$) (**табл. 2**).

Динаміка популяцій еритроцитів у крові щурів дослідних груп наглядно прослідковується при графічному зображенні отриманих результатів (**рис.**). Незважаючи на те, що вірогідних змін вмісту фракції зрілих еритроцитів у крові щурів дослідних груп не встановлено, крива, що відзеркалює відносний вміст цих клітин упродовж експерименту, загалом нагадує динаміку змін кількості нефракціонованих еритроцитів. Водночас динаміка популяції молодих еритроцитів вказує на виразне зменшення відносного вмісту цих клітин у крові тварин дослідних груп.

Що стосується відносного вмісту старих еритроцитів у крові піддослідних тварин, то цей показник зазнає протилежних змін, істотно збільшуючись на 1-у добу досліджень (група Д1). Установлений ефект може певною мірою пояснити збільшення середнього об'єму еритроцитів, що виявляється на даній стадії експерименту. Адже відомо, що стари еритроцити характеризуються більшою проникністю для води та більшою плавучою густиною у порівнянні з молодими та зрілими клітинами.

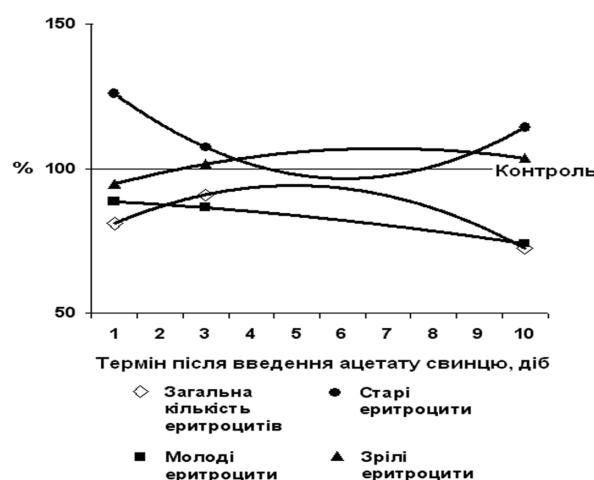


Рис. Відносні зміни вмісту нефракціонованих еритроцитів та їхніх популяцій у крові щурів після введення ацетату свинцю.

Таблиця 1
Вміст еритроцитів, показник гематокриту та об'єм еритроцитів у крові щурів, яким вводили ацетат свинцю ($M \pm m$; $n = 5$)

Групи тварин	Гематокрит (%)	Загальний вміст еритроцитів ($1 \times 10^6 / \text{мм}^3$)	Об'єм еритроцита ($\mu\text{мм}^3$)
Контрольна	$38,1 \pm 1,2$	$5,25 \pm 0,20$	72,5
Д1 (24 год після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$36,9 \pm 2,0$	$4,26 \pm 0,28$	93,2
Д2 (3-я доба після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$37,0 \pm 1,8$	$4,78 \pm 0,52$	77,4
Д3 (10-а доба після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$31,5 \pm 2,3^*$	$4,22 \pm 0,31^*$	74,6

Примітка: вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною і дослідними групами тварин позначено * ($P < 0,05$).

Таблиця 2
Вміст популяції еритроцитів у крові щурів, яким вводили ацетат свинцю ($M \pm m$; $n = 5$)

Групи тварин	Еритроцити		
	Молоді	Зрілі	Старі
Контрольна	$18,5 \pm 1,6$	$61,2 \pm 3,9$	$20,3 \pm 1,3$
Д1 (24 год після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$16,4 \pm 2,1$	$58,0 \pm 5,1$	$25,6 \pm 1,5^*$
Д2 (3-я доба після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$16,0 \pm 2,2$	$62,2 \pm 5,7$	$21,8 \pm 2,7$
Д3 (10-а доба після введення $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)	$13,4 \pm 1,1^*$	$63,4 \pm 6,0$	$23,2 \pm 2,6$

Примітка: вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною і дослідними групами тварин позначено * ($P < 0,05$).

Однак збільшення вмісту старих еритроцитів у токсикованих ацетатом свинцю щурів вказує на погіршення кисень-транспортної функції крові під впливом катіонів Pb^{2+} . Це зумовлюється тим, що в старих клітинах знижується активність ферментів гліколізу, вміст АТФ і 2,3-дифосфогліцерату. У таких клітинах зростає інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, що веде до руйнівних процесів у плазматичних мембрanaх і порушення системи транспорту катіонів та амінокислот [9, 11]. Тому стари еритроцити характеризуються меншою здатністю

до транспорту кисню, ніж молоді та зрілі в функціональному відношенні клітини.

Висновок. Аналіз результатів щодо впливу $Pb(CH_3COO)_2$ на інтенсивність процесів гемопоезу у щурів дає підставу вважати, що катіони свинцю пригнічують процес еритропоезу на стадії утворення молодих еритроїдних клітин.

Перспективи подальших досліджень. Планується подальше вивчення впливу ацетату свинцю на систему лімфопоезу, субпопуляційний склад лімфоцитів і синтез деяких лімфокінів.

Література

1. Снітинський В. В. Вікові зміни активності ферментів антиоксидантної системи в еритроїдних клітинах свиней на ранніх стадіях постнатального розвитку / В. В. Снітинський, Г. Л., В. І. Бершадський // Фізіол. журн. – 1996. – Т. 42, № 5–6. – С. 19–26.
2. Baidaulet I. O. Risk factors for children's population health in stressed environmental conditions of lead pollution / O. I. Baid-aulet, Z. I. Namazbaeva, G. N. Dasybayeva [et al.] // Gig. Sanit. – 2013. – Vol. 6. – P. 64–69.
3. Cavazzana-Calvo M. Human hematopoiesis: from CD34 cells to T lymphocytes / M. Cavazzana-Calvo, E. Six, I. Andre-Schmutz [et al.] // Med. Sci. (Paris). – 2007. – Vol. 23, № 2. – P. 151–160.
4. Gidlow D. A. Lead toxicity / D. A. Gidlow // Occup. Med. (Lond.). – 2004. – Vol. 54. – P. 76–81.
5. Liberatori R. Erythropoiesis, erythropoietin and blood lead levels / R. Liberatori, R. Romeo, B. Porcelli [et al.] // G. Ital. Med. Lav. Ergon. - 2011. – Vol. 33, № 1. – P. 37–40.
6. Needleman H. Lead poisoning / H. Needleman // Annu. Rev. Med. – 2004. – Vol. 55. – P. 209–222.
7. Palis J. Ontogeny of erythropoiesis / J. Palis // Curr. Opin. Hematol. - 2008. –Vol. 15, № 3. – P. 155–61.
8. Sherman I. W. Erythrocyte aging and malaria / I. W. Sherman, S. E. Winograd // Cell. Mol. Biol. – 2004. – Vol. 50, № 2. – P. 159–169.
9. Sun X. Lead acetate reduces the ability of human umbilical cord mesenchymal stem cells to support hematopoiesis in vitro / X. Sun, Y. Xie, L. Wu [et al.] // Mol. Med. Rep. - 2012. – Vol. 6, № 4. – P. 827–32.
10. Vazquez A. Lead (Pb^{2+}) impairs long-term memory and blocks learning-induced increases in hippocampal protein kinase C activity / A. Vazquez, S. Pena de Ortiz // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2004. – Vol. 200, № 1. – P. 27–39.
11. Wang J. Oxidative stress in mouse brain exposed to lead / J. Wang, J. Wu, Z. Zhang // Ann. Occup. Hyg. – 2006. – Vol. 50, № 4. – P. 405–409.

УДК 546. 48 :577. 12

СТАН СИСТЕМИ ЕРИТРОПОЕЗУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ПРИ ДІЇ КАТИОНІВ СВИНЦЮ

Першин О. І.

Резюме. Вивчений токсичний ефект свинцю на організм піддослідних щурів, зокрема на процес еритропоезу. З'ясовано, що загальна кількість еритроцитів крові щурів істотно не змінюється впродовж перших трьох діб після введення токсиканта, однак на 10-ту добу досліджень виявляється вірогідне зменшення цього показника. Водночас на 10-у добу експерименту вірогідно зменшується показник гематокриту крові піддослідних тварин, але об'єм еритроцита в цей період досліджень залишається стабільним. Однак аналізуючи зміни об'єму еритроцитів, необхідно зазначити збільшення цього показника у тварин через 24 год після ін'єкції ацетату свинцю. Показано, що у кровообігу одночасно функціонують молоді, зрілі і стари еритроцити. З'ясовано, що найбільшу частку в крові щурів і контрольної, і дослідних групи становить популяція зрілих еритроцитів. Відносний вміст фракції молодих і старих еритроцитів у крові інтактних тварин становить, відповідно, 18,5 % і 20,3 %. Результати досліджень динаміки популяції еритроцитів у крові щурів, яким вводили ацетат свинцю, свідчать, що відносний вміст фракції зрілих клітин упродовж усього експерименту істотно не відрізняється від такого, що притаманний тваринам контрольної групи. Однак характерним є зменшення вмісту фракції молодих клітин у крові тварин, аналізованих на 10-у добу після введення токсиканта. Що стосується відносного вмісту старих еритроцитів у крові піддослідних тварин, то цей показник зазнає протилежних змін, істотно збільшуючись на 1-у добу досліджень. Установлений ефект може певною мірою пояснити збільшення середнього об'єму еритроцитів, що виявляється на даній стадії експерименту. Адже відомо, що стари еритроцити характеризуються більшою проникністю для води та більшою плавучою густинорою у порівнянні з молодими та зрілими клітинами. Збільшення вмісту старих еритроцитів у токсикованих ацетатом свинцю щурів вказує на погіршення кисень-транспортної функції крові під впливом катіонів Pb^{2+} . Аналіз результатів щодо впливу $Pb(CH_3COO)_2$ на інтенсивність процесів гемопоезу у щурів дає підставу вважати, що катіони свинцю пригнічують процес еритропоезу на стадії утворення молодих еритроїдних клітин.

Ключові слова : еритроцити, свинець, еритропоез.

КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 546.48 :577. 12

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЭРИТРОПОЭЗА В ОРГАНІЗМЕ ЖИВОТНИХ ПРИ ДЕЙСТВІИ КАТИОНІВ СВИНЦА

Першин О. И.

Резюме. Изучен токсический эффект свинца на организм экспериментальных животных, в частности на эритропоэз. Установлено, что общее содержание эритроцитов крови крыс существенно не изменяется в течении первых трех суток после введения токсиканта, но на 10-е сутки эксперимента фиксируется уменьшение этого показателя. Одновременно на 10-е сутки эксперимента уменьшается показатель гематокрита крови подопытных животных, но объем эритроцита в этот период исследований остается стабильным. Но, анализируя изменения объема эритроцитов, необходимо указать увеличение этого показателя у животных через 24 часа после инъекции ацетата свинца. Показано, что в крови одновременно функционируют молодые, зрелые и старые эритроциты. Обнаружено, что наибольшую компоненту в крови крыс контрольной и экспериментальной групп становит популяция зрелых эритроцитов. Относительное содержание фракций молодых и старых эритроцитов в крови интактных животных составляет, соответственно, 18,5 % и 20,3 %. Результаты исследований динамики популяций эритроцитов крови крыс, которым вводили ацетат свинца, свидетельствуют, что относительное содержание фракции зрелых клеток в течении всего эксперимента существенно не отличается от показателей животных контрольной группы. Но, характерным является изменение содержания фракции молодых клеток в крови животных, которых анализировали на 10-е сутки после введения токсиканта. Что касается относительного содержания старых эритроцитов в крови подопытных животных, то этот показатель изменяется противоположно, существенно увеличиваясь на 1-е сутки исследований. Установленный эффект может определенным образом объяснить увеличение среднего объема эритроцитов, что обнаруживается на данной стадии эксперимента. Ведь известно, что старые эритроциты характеризуются большей проницаемостью для воды и большей плотностью сравнительно с молодыми и зрелыми клетками. Увеличение содержания старых эритроцитов у токсикованых ацетатом свинца указывает на ухудшение кислород-транспортной функции крови под влиянием катионов Pb^{2+} . Анализ результатов относительно влияния $Pb(CH_3COO)_2$ на интенсивность процессов гемопоэза у крыс дает основания считать, что катионы свинца угнетают процесс эритропоэза на стадии образования молодых эритроидных клеток.

Ключевые слова : эритроциты, свинец, эритропоэз.

UDC 546.48 :577. 12

A State of Erythropoiesis System in the Animal Organism under the Action of Plumbum Cations

Pershyn O.

Abstract. A toxic effect of plumbum on the experimental rats organism, particularly on the process of erythropoiesis was studied, as changes in the content of erythroid cells in the bloodstream of poisoned by heavy metal cations animals may cause deviation of oxygen-transport function of blood. It was found that the total number of red blood cells in rats does not change significantly during the first three days after administration of the toxicant, but on the 10th day of the research credible reduction of this parameter was detected. At the same time on the 10th day of the experiment a rate of test animals blood hematocrit was significantly reduced , but erythrocyte volume during this period of research remained stable. However, analyzing the changes in the volume of red blood cells, it should be noted that the increase of this parameter in animals in 24 hours after injection of plumbum acetate was detected. It is shown that at the same in the bloodstream time young, mature and old red blood cells are functioning. It was found that the largest share in the blood of rats in the control and experimental groups makes the population of mature red blood cells. The relative contents of young and old red blood cells fractions of intact animals are, respectively, 18.5 % and 20.3 %. The results of studies of population dynamics of red blood cells in the blood of rats injected by plumbum acetate show that the relative content of mature cells fraction throughout the experiment was not significantly different from that inherent to animals of the control group. However, there is a characteristic reduction of young cells fraction in the blood of animals analyzed at 10th day after administration of the toxicant. Regarding the relative content of old red blood cells in the experimental animals blood, this figure undergoes opposite changes substantially increasing on the 1-day of the research. Established effect may to some extent explain the increase in erythrocyte mean volume that detected at this stage of the experiment. It is known that old red blood cells have a higher permeability to water and higher floating density than young and mature cells. The increase in the number of old red blood cells in rats poisoned by plumbum acetate indicates deterioration of oxygen-transport function of blood under the influence of Pb^{2+} cations. This is due to the fact that in old cells the activity of enzymes of glycolysis, ATP content and 2,3- di-phosphorus-glycerate is being decreased. In these cells the intensity of lipid peroxidation, leading to destructive processes in the plasma membranes and disruptions of cations and amino acids transport is being increased. Therefore, old red blood cells are characterized by lower ability to oxygen transport than the young and mature cells in functional terms of a cell. Analysis of the results on the influence of $Pb(CH_3COO)_2$ on the intensity of hematopoiesis processes in rats suggests that plumbum cations inhibit erythropoiesis process at the stage of young erythroid cells formation.

Keywords : red blood cells, plumbum, erythropoiesis.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 03. 03. 2015 р.