

УДК 612.014

М.И. Досымбетова, Г.К. Такебаева, А.А. Усенова, С.А. Шарипова, Р.С. Утегалиева

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы
РГКП «Институт физиологий человека и животных», Казахстан, г. Алматы**Влияние кадмия на морфофункциональные характеристики эритроцитов**

Аннотация. В статье представлены результаты исследования состояния эритроцитов при интоксикации тяжелыми металлами. Подробная характеристика морфофункционального состояния красных клеток крови дала возможность выявить степень тяжести анемических состояний и может служить для оперативной и объективной оценки воздействия токсикантов на систему крови и организм в целом.

Ключевые слова: кадмий, эритроциты, интоксикация тяжелыми металлами, крысы, период накопления, латентный период, период адаптации.

В настоящее время одним из наиболее грозных факторов нарушения экологического равновесия является постоянное повышение содержания тяжелых металлов в биосфере. Они поступают в окружающую среду при сжигании горючих ископаемых (угля и нефти), в составе выхлопных газов автотранспорта, в результате деятельности металлургических производств, а также из-за широкого применения ядохимикатов и удобрений [1]. Токсическое действие различных соединений тяжелых металлов преимущественно обусловлено взаимодействием с белками организма, поэтому их часто называют белковыми ядами [2]. Одним из таких металлов является кадмий.

Металлический кадмий и его соединения широко применяются для производства пигментов, нанесения защитных покрытий, в качестве стабилизатора пластмасс (особенно ПВХ), при изготовлении аккумуляторов и сплавов. В то же время он обладает чрезвычайно высокими токсичными свойствами, вызывая поражения различных органов и физиологических систем.

Сегодня известно его повреждающее действие на костную (заболевание «итай-итай»), легочную, эндокринную, репродуктивную, сердечно-сосудистую системы и на кровь. Кроме того, установлено, что кадмий обладает онкогенными и мутагенными свойствами. Однако эти сведе-

ния весьма противоречивы, поскольку не до конца изучен механизм действия кадмия; поскольку нет критериев, позволяющих оценивать степень его токсичности и не установлен минимальный порог чувствительности к Cd^{2+} .

Особого внимания заслуживают исследования влияния ионов кадмия на форменные элементы крови, из которых наибольший интерес представляют эритроциты [3-5].

Эритроциты являются самой многочисленной популяцией клеток в системе крови, определяющих структуру кровотока. Их морфо-функциональные изменения сопровождаются нарушением текучести крови, что сказывается на кровоснабжении различных органов и тканей. В этой связи проблема влияния кадмия на кровь приобретает весьма актуальное значение.

Целью работы явились изучение морфофункционального состояния эритроцитов при кадмиевой интоксикации и разработка комплекса критериев для оценки токсического влияния ионов кадмия на красные клетки периферической крови человека и животных.

В последние годы в связи с активной техногенной деятельностью человека зарегистрировано повышение содержания кадмия и его соединений в окружающей среде. Этот факт вызывает обоснованное беспокойство со стороны специ-

алистов, поскольку ионы кадмия, обладая кумулятивными свойствами могут оказывать токсическое действие на различные физиологические системы организма человека и животных. Значительное число современных научных исследований посвящено изучению влияния кадмия на легочную, сердечно-сосудистую, выделительную, опорно-двигательную системы [6]. Предпринимались попытки установить патологическое действие кадмия и на систему крови, в частности, на эритроциты [3]. Это самая многочисленная популяция клеток в кровотоке, оказывающая непосредственное влияние на физиологию различных органов и тканей. В связи с этим, изучение токсического действия кадмия на морфофункциональные свойства эритроцитов представляет особый интерес.

Эритроциты практически здоровых людей по сравнению с красными клетками крови крыс обладают большими диаметром, периметром, высотой, площадью и объемом (на 20, 19, 18, 35 и 50%, соответственно). При этом величина отношения площади поверхности эритроцита к его объему (S/V) – «индекс сферичности», позволяющая косвенно оценить степень деформируемости клеток, у эритроцитов крыс практически на 20% превышает аналогичный показатель эритроцитов человека (1,57 и 1,26, соответственно).

В периферической крови человека содержание «нормоцитов» (клеток с диаметром 8–10 мкм), «макроцитов» (с диаметром более 10 мкм) и «микро-цитов» (с диаметром менее 8 мкм) составило 80, 14, 6%, соответственно. Такое распределение клеток по диаметру в популяции соответствует кривой нормального распределения, или кривой Прайс-Джонса. При нарушении эритропоэза и различных видах анемии происходит сдвиг кривой Прайс-Джонса вправо (макроцитоз) или влево (микроцитоз). Более пологая ее форма, появляющаяся в результате увеличения числа как макроцитов, так и микроцитов, характерна для анизоцитоза.

По данным морфологического анализа, популяция эритроцитов условно здоровых лиц состоит из 87% дискоцитов, 4% эхиноцитов, 8% сфероцитов и около 1% овалоцитов. Установлено также, что большинство эритроцитов интактных животных являются дискоцитами 62%, эхиноциты и стоматоциты составляют 18% и 5%, соответственно. Характерной чертой периферической крови крыс является наличие субпо-

пуляции гребневидных и мишеневидных клеток – 14% и практически полное отсутствие сфероцитов (0-1%).

Полученные результаты легли в основу формирования контрольных групп при проведении экспериментов по исследованию влияния ионов кадмия на клетки красной крови.

В опытах *in vitro* были изучены изменения морфофункционального статуса эритроцитов периферической крови белых крыс линии Вистар.

Проведенные эксперименты позволили установить, что ионы кадмия оказывают выраженное дозозависимое влияние на морфофункциональные параметры эритроцитов периферической крови животных, вызывая снижение диаметра, периметра, площади клеток и увеличение их фазовой высоты. Наиболее значимые отличия изучаемых показателей наблюдаются при действии максимальных концентраций $CdCl_2$. Наиболее лабильными показателями при действии ионов кадмия являются диаметр и периметр клеток, изменения которых статистически достоверны даже при действии минимальных концентраций токсиканта. Достоверные изменения высоты и площади клеток наблюдаются только при концентрации кадмия 1 моль/л и выше. Изменения объема клеток при действии всех изученных концентраций были незначительными и недостоверными, что свидетельствует о малозначимости этого параметра эритроцитов при действии на них ионов кадмия. Реализация токсических эффектов кадмия сопровождается изменением характера распределения красных клеток по величине максимального диаметра. При повышении концентрации $CdCl_2$ происходит увеличение процентного содержания микроформ эритроцитов за счет истощения групп макро- и нормоцитов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее чувствительными к кадмию являются макроформы, реагирующие даже на наименьшую концентрацию. Остальные группы клеток остаются практически индифферентными к данной концентрации. Эритроциты крови практически здоровых доноров менее чувствительны к действию ионов Cd^{2+} , чем клетки крыс. Это находит отражение в меньшем изменении их морфометрических показателей (максимального диаметра, периметра, фазовой высоты, площади и объема). Перестройка популяционного состава эритроцитов доноров под действием Cd^{2+} име-

ет ту же направленность, что и в эксперименте с эритроцитами крыс, но выражена слабее. Не исключено, что такая устойчивость обусловлена более стабильной структурой цитоскелета красных клеток периферической крови человека.

Таким образом, выявленные изменения показателей красных клеток крови, включающие в себя дозозависимое снижение диаметра и периметра клеток, уменьшение индекса сферичности, увеличение фазовой высоты и повышение содержания микроформ эритроцитов позволяют дать объективную характеристику морфофункционального состояния клеток в условиях прямого воздействия токсиканта (Cd^{2+}) и могут служить универсальными критериями оценки активности (токсичности) ионов кадмия.

В литературе имеются данные, что структурно-объемная организация эритроцитов, особенно цитоскелет, нарушается кадмием, аккумулирующимся в мембранной фракции [7]. Проникновение ионов этого металла в клетку вызывает инактивацию тех звеньев метаболизма, которые принимают непосредственное участие в поддержании структурной целостности эритроцита, в частности процессов энергетического обмена. При этом кадмий, стимулируя перекисное окисление липидов и изменяя состояние антиоксидантной системы, способствует выраженной лабильности клеточных мембран.

Все эти процессы нашли отражение в изменениях морфометрических параметров эритроцитов. Подробный анализ размерных показателей (диаметра, периметра, высоты, площади и объема) как на уровне отдельного эритроцита, так и с учетом популяционной перестройки клеток, позволил количественно оценить уровень токсичности каждой из используемых концентраций хлорида кадмия.

Результаты, полученные в экспериментальных исследованиях *in vitro*, имеют большое практическое значение для оценки реакции системы крови, изъятой из организма при направленном действии на неё различных концентраций ионов кадмия. Однако они не могут быть автоматически перенесены на живой организм. В этой связи были проведены исследования по изучению морфофункциональных характеристик эритроцитов крыс в условиях экспериментальной хронической интоксикации животных различными дозами хлорида кадмия.

Для изучения специфического действия кад-

мия в условиях *in vivo* был проведен хронический 3-х месячный эксперимент на четырех группах крыс линии Вистар с исходной массой 250 ± 20 грамм (возраст 3 месяца). Поскольку в естественных условиях для индивидуума, не имеющего производственного контакта с кадмием, основным источником его поступления в организм являются пищевые продукты и вода, хлорид кадмия добавляли к пище 3 раза в неделю в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/кг массы тела.

При оценке влияния ионов кадмия на морфофункциональный статус эритроцитов животных учитывали содержание Cd^{2+} в периферической крови крыс, оптико-геометрические параметры и морфологические особенности эритроцитов, интенсивность перекисного окисления липидов клеточных мембран, кислотную резистентность красных клеток крови. Величину показателей определяли перед началом эксперимента (фоновые показатели) и на протяжении затравки (кратность обследования 1 раз в месяц).

При воздействии кадмия в условиях хронического эксперимента *in vivo* нами выделено 3 стадии реализации токсических эффектов кадмия: «период накопления», «латентный период» и «период адаптации». Период накопления ионов металла, соответствующий первому месяцу эксперимента, характеризовался разнонаправленным действием изучаемых концентраций CdCl_2 на большинство клеточных показателей. Кадмий в минимальной концентрации увеличивал диаметр, периметр и площадь эритроцитов по отношению к исходным значениям на 9,1, 9,3 и 17,5%, соответственно. Средняя и максимальная концентрации, напротив, снижали эти показатели в тех же пределах. Фазовая высота и объем клеток возрастали более чем на 30% во всех исследуемых группах. Индекс сферичности эритроцитов снижался под воздействием минимальной, средней и максимальной концентраций тяжелого металла на 14, 30,6 и 11%, соответственно, что свидетельствует об уменьшении деформируемости клеток. Низкая концентрация Cd^{2+} вызывала увеличение количества макроцитов и снижение нормоцитов по сравнению с контролем 1 месяца наблюдения в 1,3 и 1,8 раза, соответственно.

Показатели кислотной резистентности эритроцитов в группах наблюдения изменялись прямо противоположно: при действии CdCl_2 в концентрации 1 мкг/кг устойчивость клеток к кис-

лотному гемолизу повышалась, а при действии $CdCl_2$ в концентрации 10 и 100 мкг/кг снижалась.

Различия в действии малых и высоких доз хлорида кадмия, наблюдаемые в этом периоде, по-видимому, могут объясняться тем, что микроконцентрации токсиканта способствуют активации эритропоэза и обладают некоторым мембранопротективным действием на красные клетки крови. При увеличении концентрации Cd^{2+} эти эффекты полностью исчезают.

В «латентном периоде» (2-ой месяц эксперимента) наблюдались незначительные колебания оптико-геометрических показателей эритроцитов. Из них достоверными являлись лишь изменения параметров клеток, вызванные действием минимальной концентрации кадмия: снижение диаметра (на 5%), периметра (на 5,6%), площади (на 10,5%) и увеличение высоты и объема клеток (на 19,3% и 21,1%, соответственно). Уменьшение индекса сферичности, наблюдаемое под действием кадмия в течение всего эксперимента, в этом месяце достигало 73,8% от контрольных значений ($CdCl_2$ – 1 мкг/кг).

Количество микро-, нормо- и макроцитов возвращалось к их контрольным значениям. Интересно отметить обнаружение субпопуляции микроцитов (7%) только при действии минимальной концентрации кадмия. По данным электронной микроскопии в этом периоде восстанавливалось соотношение морфологических форм эритроцитов, характерное для контрольной группы.

Увеличение максимальной скорости (на 16 и 27%, соответственно) и сокращение времени гемолиза (на 10,5 и 11,5%, соответственно) свидетельствовали о снижении кислотной резистентности эритроцитов при действии Cd в концентрациях 1 и 10 мкг/кг. Изменение этих параметров под влиянием кадмия в максимальной концентрации носило недостоверный характер.

В «период адаптации» (3-ий месяц наблюдения) изменения эритроцитов периферической крови крыс носили следующий характер: диаметр и площадь клеток под действием кадмия (1, 10 и 100 мкг/кг) увеличивались в среднем на 3–4% и 8–9%, соответственно. Периметр, высота и объем эритроцитов оставались на уровне контрольных величин. Возрастало значение индекса сферичности эритроцитов (на 5–18–9%, соответственно). Количество нормоцитов во всех группах незначительно повышалось на фоне

некоторого (в пределах 5–6%) снижения числа макроцитов.

Таким образом, изменения морфофункционального статуса эритроцитов периферической крови крыс можно рассматривать в качестве особенностей ответной реакции эритроцита на длительное воздействие различных концентраций кадмия. Так, для состояния кадмиевой интоксикации является характерным: изменение метрических параметров циркулирующих эритроцитов (особенно диаметра, периметра и высоты клеток); микроцитоз (повышение числа микроцитов за счет истощения групп нормо- и макроцитов – молодых клеточных форм); увеличение интенсивности перекисного окисления липидов эритроцитарных мембран и снижение кислотной резистентности клеток; эхиноцитоз и снижение деформируемости клеток, т.е. типичные признаки развития токсической анемии. При этом, поскольку уровень изменения перечисленных показателей непосредственно зависит от действующей концентрации ионов металла, возможность выявления и регистрации ранних изменений в организме, происходящих при воздействии этого токсиканта, имеет большое значение.

Одним из основных антропогенных источников эмиссии кадмия в биосферу считается производство стали и цветных металлов. Поэтому основную группу риска составляют длительно работающие сотрудники металлургических предприятий, подверженные разным уровням воздействия этого металла. Ещё один источник кадмия – сигаретный дым.

Общее загрязнение кадмием организма курильщика с большим стажем курения примерно в 2–3 раза больше, чем у некурящего. В связи с этим комплекс предложенных нами критериев оценки морфофункционального состояния эритроцитов был апробирован при изучении влияния ионов кадмия на красные клетки периферической крови человека в условиях экзогенной хронической кадмиевой интоксикации.

Нами обследованы мужчины-курильщики «со стажем» более 10 лет. Чем больше объем клетки, тем выше содержание гемоглобина в ней. Известно, что Cd^{2+} имеет большое сродство к гемоглобину, в силу этого обстоятельства последний успешно конкурирует за связывание кадмия со всеми биолигандами, за исключением металлотионинов. Вероятно, нарушение ионами кадмия строения белковых цепей гемоглобина

приводит к компенсаторному увеличению количества этого белка в клетках, что необходимо для обеспечения сохранения кислородного гомеостаза.

Популяционный анализ эритроцитов по величине их диаметра показал, макроформ повышалось до 22% (в контроле – 14%), количество же микро- и нормоцитов изменялось незначительно и составляло 4 и 74%, соответственно (в контроле – 6 и 80%). Так как макроциты представлены преимущественно молодыми незрелыми клетками, то в данном случае можно говорить о признаках стимуляции эритропоэза. Известно, что в условиях отравления табачным дымом у людей с нормальным гемоглобином, неумеренно курящих (больше одной пачки сигарет в день), в результате активации эритропоэза может развиваться эритроцитоз. В эритроцитах повышается содержание Cd-гемоглобина и СО-гемоглобина, не переносящих кислород, и увеличение общей эритроцитарной массы обеспечивает потребность организма в кислороде.

Анализ полученных данных позволяет выявить черты сходства и различия хронической интоксикации эндогенного и экзогенного характера.

Уменьшение диаметра эритроцитов и увеличение содержания микроцитов также являются важной составляющей развития анемического состояния, за исключением хронических курильщиков. Зарегистрированная тенденция к увеличению среднего по популяции диаметра клеток и, соответственно, повышенное содержание макроцитов в этой группе указывает на активацию процессов эритропоэза, что, по-видимому, является реакцией организма на воздействие микродоз ионов кадмия.

Таким образом, предложенный комплекс

критериев оценки морфофункционального состояния эритроцитов (оптико-геометрические параметры клеток, популяционный состав, соотношение морфологических классов) в совокупности с функциональной характеристикой мембраны клетки позволяют не только установить наличие токсической анемии, но и дифференцировать ее различные варианты. Подробная характеристика морфофункционального состояния красных клеток крови дает возможность выявить степень тяжести анемических состояний и может служить для оперативной и объективной оценки воздействия токсикантов на систему крови и организм в целом.

Литература

- 1 Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
- 2 Авцын А.П., Жаворонков А.А. Клеточный гомеостаз и микроэлементы // Архив патологии. – 1998. – Т. L, № 9. – С. 6 – 11.
- 3 Богомазов М.Я., Волкова Н.А. Особенности метаболизма кадмия при различных путях его поступления в организм // Научные труды Московской ветеринарной акад. – М., 2003. – Т. 102. – С. 35.
- 4 Боровская И.Н. Антиокислительная система организма, ее значение // Вестник РАМН. 1995. – № 6. – С. 53 – 60.
- 5 Верболович В.П., Макашев Ж.К., Петренко Е.П. Зависимость резистентности эритроцитов от активности антиокислительных ферментов // Гематология и трансфузиология. – 1995. – Т. 30. – № 5. – С. 31–35.
- 6 Воробьева Р.С. Кадмий. – М.: Наука, 1994. – 48 с.

М.И. Досымбетова, Г.К. Такебаева, А.А. Усенова, С.А. Шарипова, Р.С. Утегалиева
Кадмидің эритроциттің морфофункционалдык көрсеткіштеріне әсері

Мақалада эритроциттердің ауыр металдармен уландыру барысындағы өзгерісін зерттеу нәтижелері көрсетілген. Қанның қызыл түйіршіктерінің мұндай характеристикасы қаназдық дәрежесінің ауырлық деңгейін анықтау және қан жүйесі мен тұтас организмге токсиканттардың әсерін оперативті және объективті түрде бағалауға мүмкіндік береді.

M.I. Dosymbetova, G.K. Takebaeva, A.A. Usenova, S.A. Sharipova, R.S. Utegalieva
Effect of cadmium on morphofunctional characteristics of red blood cells

In clause are submitted results of research a condition erythrocyte intoxication by heavy metals. The detailed characteristic morfofunctional of a condition of red crates of blood has enabled to reveal a degree of weight anemic of condition and can serve for an operative and objective estimation of influence toxicants on system of blood and organism as a whole.