
Вопросы общей патологии

УДК 613.64+615.91+616.155.1

СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КАК ИНДИКАТОР ВОЗДЕЙСТВИЯ СВИНЦА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В. Л. Стародумов*, доктор медицинских наук,
Н. Г. Калинина, кандидат биологических наук,
В. А. Горбунов, кандидат медицинских наук

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8

РЕЗЮМЕ Исследовано состояние мембран эритроцитов при воздействии малых доз свинца. Установлено, что при этом снижается электрофоретическая подвижность эритроцитов, стимулируются процессы перекисного окисления липидов, понижается антиоксидантная активность, что приводит к увеличению коэффициента холестерин/фосфолипиды и повышению микровязкости мембран. Эти показатели предлагается использовать в качестве индикатора воздействия свинца окружающей среды на организм человека.

Ключевые слова: свинец, окружающая среда, мембраны эритроцитов.

* Ответственный за переписку (corresponding author): e-mail: ranvlad2011@yandex.ru

Свинец считается главным загрязнителем окружающей среды. Есть сведения, что отравление этим металлом – одна из самых распространенных в мире интоксикаций, связанных с экологической обстановкой [4, 9]. В организм человека свинец может поступать с питьевой водой, атмосферным воздухом, пищей, а также с пылью от загрязненных почв. О значительном накоплении токсических веществ в почве свидетельствуют высокие концентрации в ней металла. В условиях сильного загрязнения почвы свинцом (более 10 предельно допустимых концентраций) в России проживает более 256 тысяч человек [5]. Почва Иванова и других городов Ивановской области содержит свинец в значительном количестве. Концентрация этого элемента отражает степень хозяйственного освоения территорий. Установлены причинно-следственные связи между показателями загрязнения среды свинцом и состоянием здоровья населения Ивановской области [6], под-

тверждающие актуальность дальнейшего изучения этой проблемы.

Классическим проявлением свинцовой интоксикации является микроцитарная анемия, возникающая вследствие нарушения порфиринового обмена из-за угнетения дегидратазы аминолевулиновой кислоты (ДАЛК) [1]. Несмотря на значительное количество исследований, механизм действия свинца на организм во многом неясен. Есть сомнения в том, что металл в малых дозах влияет на порфириновый обмен. Так, при низких концентрациях свинца в крови обследованных детей и взрослых содержание ДАЛК и копропорфирина не отличалось от нормы; не обнаружено и корреляции между содержанием в крови металла и свободных порфиринов [10].

При изучении механизма действия свинца следует обратить внимание на активацию им перекисного окисления липидов [8]. Этот процесс может

Starodumov V. L., Kalinina N. G., Gorbunov V. A.

STATUS OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AS AN INDICATOR OF ENVIRONMENTAL LEAD EXPOSURE

ABSTRACT The status of erythrocyte membranes was examined in small doses of lead exposure. It was stated that erythrocyte electrophoretic mobility was decreased, peroxidation processes were stimulated, antioxidative activity was reduced and it resulted in cholesterol/phospholipids coefficient increase and membranes microviscosity rise. It was suggested to use these indices as an indicator of environmental lead exposure in human organism.

Key words: lead, environment, erythrocyte membranes.

привести к усилению токсичности других ксенобиотиков и увеличению вероятности отдаленных эффектов (канцерогенного, гонадо- и эмбриотропного), а также изменить патогенез многих заболеваний. Перекисное окисление липидов в известных пределах рассматривается как физиологический процесс, следовательно, можно полагать, что стабильность клеточных структур, скорость их изнашивания и обновления во многом зависят от содержания в мембранах антиоксидантов. Поэтому нарушение равновесия системы перекисное окисление липидов – антиоксиданты в мембранах может привести к развитию патологического процесса в клетках. Таким образом, важную роль в патогенезе интоксикации могут играть как раз механизмы нарушения состояния мембран клеток, в том числе эритроцитов. Изучению этого вопроса и было посвящено настоящее исследование.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 40 белых беспородных крысах-самках массой 220–280 г. Животные были разделены на 2 группы: первую составили интактные крысы, вторую – животные, подвергавшиеся воздействию ионов свинца в виде 5%-ного водного раствора ацетата свинца в дозе 0,05 мг/кг массы в пересчете на чистый металл. Раствор вводился внутривенно ежедневно в течение 2 месяцев. В конце 1-го и 2-го месяцев эксперимента у животных из подъязычной вены забиралась кровь для биохимических исследований.

Оценка состояния мембран эритроцитов проводилась по результатам определения содержания фосфолипидов и холестерина методом тонкослойной хроматографии и выражалась в условных единицах. Об интенсивности процессов перекисного окисления липидов и состоянии антиоксидантной системы судили по концентрации малонового диальдегида (МДА), измеренной методом К. Уаги [11]; активности супероксиддисмутазы (СОД), определяемой методом С. Чевари [7]; суммарной антиоксидантной активности (САА) мембран эритроцитов, установленной методом

D. L. Al-Timiti, T. U. Dormandy в модификации М. Ш. Промыслова, Д. Л. Демчук [3].

Для оценки степени связывания свинца с мембранными структурами использовалась электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФП), выраженная в мкм/с [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных, подвергнутых воздействию ацетата свинца, через 1 месяц от начала эксперимента содержание МДА было значительно выше, чем у интактной группы животных; при увеличении сроков затравки до двух месяцев отмечалось снижение концентрации МДА, не достигающей, однако, уровня контрольной группы (табл. 1). При определении суммарной антиокислительной активности мембран эритроцитов выявлено ее снижение у опытных животных, причем более значительное через месяц после начала затравки (табл. 1). По нашему мнению, данные изменения обусловлены уменьшением активности СОД (табл. 1), стимулирующей дисмутацию свободных радикалов кислорода до перекиси водорода, что свидетельствует о нарушении антиоксидантной защиты. В результате низкой активности СОД в мембранах эритроцитов животных, подвергнутых свинцовой интоксикации, появляется избыточное количество супероксидных анионов, инициирующих образование свободных радикалов и последующую цепную реакцию перекисного окисления липидов. Это может привести к нарушениям в метаболизме клеток, связанным с изменением ферментативной активности.

В свою очередь усиление процессов перекисной окисления не могло не отразиться на содержании и соотношении фосфолипидов и холестерина, входящих в состав билипидного слоя эритроцитарных мембран. Так, через 1 месяц от начала эксперимента в эритроцитах животных, получавших свинец, количество фосфолипидов было ниже на 72,15% по сравнению с таковым у интактных животных, однако через 2 месяца оно восстановилось и практически достигло первоначального уровня (табл. 2). Расчет коэффициента корреляции

Таблица 1. Изменение содержания малонового диальдегида и суммарной антиокислительной активности в мембранах эритроцитов под влиянием свинца, $M \pm m$

Показатель	Интактные животные	Сроки воздействия свинца	
		1 месяц	2 месяца
МДА, нмоль/л	0,66 ± 0,03	2,45 ± 0,38*	0,97 ± 0,20*
САА, %	68,13 ± 0,77	61,89 ± 1,38*	64,24 ± 2,37*
СОД, %	51,36 ± 4,13	35,45 ± 2,37*	30,76 ± 1,18*

Примечание. Статистическая значимость различий: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

ции между содержанием фосфолипидов и малонового диальдегида выявил прямую, хотя и слабо выраженную корреляционную зависимость между изменениями этих показателей ($r = 0,32$). Изменение соотношения холестерин/фосфолипиды приводит к повышению микровязкости мембран, что отражается на свойствах эритроцитов (деформируемость, сорбционная способность, проницаемость, агрегационная активность).

Для выяснения возможности непосредственного связывания компонентами мембраны ионов свинца была проведена оценка ЭФП при воздействии свинца на лабораторных животных и *in vitro* (рис.).

Таким образом, через 1 месяц от начала эксперимента были зафиксированы изменения ЭФП, которые можно объяснить тем, что свинец связывает сульфгидрильные группы белков на поверхности клетки. Для доказательства непосредствен-

ного действия ионов металла на поверхностные структуры эритроцитов нами были проведены измерения ЭФП в эритроцитах в условиях *in vitro*: раствор свинца в концентрации, используемой в эксперименте, добавлялся непосредственно к взвеси эритроцитов, выделенных из крови intactных животных. Эти исследования выявили аналогичное с условиями *in vivo* снижение данного показателя, но в значительно большей степени.

Выявленное снижение ЭФП эритроцитов животных, подвергнутых воздействию свинца, подтверждает непосредственное повреждающее действие ионов металла на мембранные структуры эритроцитов. Уменьшение данного параметра, определяющего агрегативную устойчивость эритроцитов, текучесть и микроциркуляцию в капиллярах, является неблагоприятным прогностическим фактором наряду с негативными сдвигами

Таблица 2. Изменения содержания фосфолипидов и холестерина в мембранах эритроцитов белых крыс при введении свинца

Показатель	Intактные животные	Сроки воздействия свинца	
		1 месяц	2 месяца
Фосфолипиды, усл. ед. ($M \pm m$)	110,7 \pm 9,95	79,37 \pm 4,32*	111,97 \pm 1,34
Холестерин, усл. ед. ($M \pm m$)	268,09 \pm 9,32	250,50 \pm 7,57	381,09 \pm 24,53*
Коэффициент холестерин/фосфолипиды	2,43	3,15*	3,40*

Примечание. Статистическая значимость различий: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

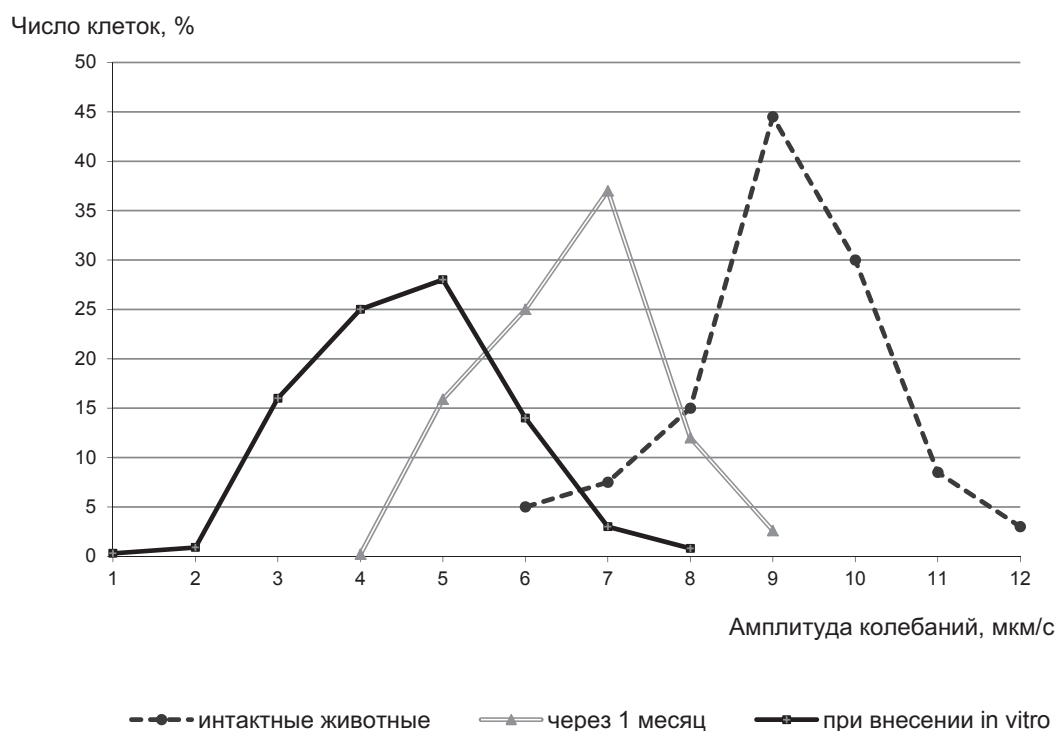


Рис. Изменение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии свинца

баланса между перекисным окислением липидов и антиоксидантной системой защиты.

ВЫВОДЫ

1. При введении в организм малых доз свинца в мембране эритроцитов стимулируются процессы перекисного окисления, понижается антиоксидантная активность, что приводит к увеличению коэффициента холестерин/фосфолипиды и повышению микровязкости мембран.

2. Отражением повреждающего действия свинца на мембраны является снижение электрофоретической подвижности эритроцитов, свидетельствующее о непосредственном связывании ионов металла мембранными структурами.

3. Методы оценки состояния мембран эритроцитов можно использовать в качестве индикатора воздействия свинца окружающей среды на организм человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ершов, Ю. А. Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю. А. Ершов, Т. В. Плещенева. – М. : Медицина, 1989. – 268 с.
2. Пат. 2199733 РФ, 7 G 01 № 27/26; 33/483; С 12 Q 1/02. Способ измерения электрофоретической подвижности биологических микрообъектов / Н. Г. Егорова [и др.]. – № 2000112456/13; Заявл. 17.05.2000; Опубл. 27.02.2003, Бюл. № 6. – 1 с.
3. Промыслов, М. Ш. Определение суммарной антиоксидантной активности в сыворотке крови / М. Ш. Промыслов, М. Л. Демчук // *Вопр. мед. химии.* – 1990. – № 4. – С. 27–29.
4. Ревич, Б. А. Свинец и здоровье детей – результаты некоторых российских исследований 2000–2009 гг. / Б. А. Ревич, П. О. Шаров, О. В. Сергеев // *Гигиена и санитария.* – 2011. – № 6. – С. 12–16.
5. Результаты и проблемы развития социально-гигиенического мониторинга в Российской Федерации / М. В. Калиновская, Т. А. Заиченко, О. В. Гревцов, Т. А. Сивохина // *Материалы XI Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей.* – М., 2012. – Т. 1. – С. 479–481.
6. Стародумов, В. Л. Роль мониторинга тяжелых металлов в оценке риска для здоровья детей / В. Л. Стародумов, И. С. Яблокова // *Вестн. Ивановской медицинской академии.* – 2009. – Т. 14, прилож. – С. 91.
7. Чевари, С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // *Лаб. дело.* – 1991. – № 10. – С. 9–13.
8. Kadiiska, M. Heavy metals and lipid peroxidation / M. Kadiiska, E. Serbinova, T. Stoychev // *Rep. of Sci. Acad. Bulgaria.* – 1990. – Vol. 43, № 2. – P. 103–105.
9. Landrigan, Ph. Lead poisoning / Ph. Landrigan, A. Todd, R. Wedeen // *Mount Sinai J. Med.* – 1995. – Vol. 62, № 5. – P. 360–364.
10. Zn-aminolevulinic acid dehydratase reactivation index as a tool for diagnosis of lead exposure / C. Polo [et al.] // *Ecotoxicol and Environ. Safety.* – 1995. – Vol. 32, № 3. – P. 263.
11. Yagi, K. Estimation of products of lipid peroxidation by malonyl dialdehyde in biochemical systems / K. Yagi // *Biochem. Med.* – 1976. – № 15. – P. 212–213.