

УДК 535.372

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МЕМБРАННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ В НОРМЕ И ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ПАТОЛОГИИ ОРГАНИЗМА

**Кочарли Н.К., Гумматова С.Т., Абдуллаев Х.Д., Зейналова Н.М.**

*Бакинский государственный университет, Баку, e-mail: sam\_bio@mail.ru*

Изучено влияние ионов тяжелых металлов ( $Pb^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) на мембранную устойчивость эритроцитов крови здорового человека и различных больных. Установлено, что ионы тяжелых металлов приводят к уменьшению мембранной устойчивости эритроцитов крови. Уменьшение стойкости эритроцитов зависит от концентрации и длительности экспозиции ионов металлов: чем выше концентрация и время воздействия, тем больше уменьшается плотность эритроцитов. При обследовании заболеваний (острая пневмония, опухоль щитовидной железы, сахарный диабет) наблюдается снижение стойкости эритроцитов крови больных к кислотному гемолизу. Скорость кислотного гемолиза уменьшается в эритроцитах крови больного по сравнению с эритроцитами крови здорового человека и зависит от характера болезни. Полученные данные позволяют считать, что изменение физико-химического состава эритроцитов, проявляющееся в непостоянстве их стойкости, является следствием повреждения мембраны эритроцитов при воздействии ионов тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** эритроциты, гемолиз, ионы тяжелых металлов

## THE INFLUENCE OF IONS IN HEAVY METALS ON MEMBRANE STABILITY OF ERYTHROCYTES IN NORMAL AND DIFFERENT PATHOLOGIES OF ORGANISMS

**Kocharli N.K., Hummatova S.T., Abdullayev K.D., Zeynalova N.M.**

*Baku State University, Baku, e-mail: sam\_bio@mail.ru*

The influence of heavy metals ions ( $Pb^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) on membrane stability of blood erythrocytes in healthy humans and in different sick ones was investigated. It was determined, that the ions of heavy metals cause to the reduction of membrane stability in blood erythrocytes. The reduction of stability of erythrocytes depends on concentration and continuation exposition of metal ions the more concentration and time of influence the more density decrease of erythrocytes. Examining the patients (acute pneumonia, tumor thyroid gland, diabet), the decrease of erythrocyte stability in patient blood to acid hemolyse has been watched. The velocity of acid hemolyse in blood erythrocytes in sick humans decreases compared with in healthy ones and depends on character of illness. Obtained data allow to consider, that the change of physico-chemical contain of erythrocytes, appearing in changing their stability, are the result of erythrocytes membrane damage by the influence of heavy metal ions.

**Keywords:** eritrocytes, hemolyse, ions of heavy metals

В последнее время большое внимание уделяется изучению влияния ионов тяжелых металлов на устойчивость эритроцитов крови человека.

Основной мишенью токсического воздействия тяжелых металлов является биологическая мембрана [5].

Эритроцит – универсальная модель для изучения процессов, происходящих в клеточной мембране под действием самых различных агентов. Детальное исследование изменений морфофункциональных показателей эритроцитов под влиянием различных химических раздражителей, с которыми человек сталкивается в процессе естественных взаимоотношений с природой, позволяет полнее установить возможные последствия и определить наиболее эффективные пути их коррекции в условиях действия эколого-химических факторов окружающей среды. Токсическое действие различных соединений тяжелых металлов преимущественно обусловлено взаимодействием с белками организма, поэтому их на-

зывают белковыми ядами. Одним из таких металлов является кадмий [6].

А.А. Тугаревым предложен комплекс информативных критериев для оценки токсического влияния ионов кадмия на морфофункциональные показатели эритроцитов периферической крови человека и животных [6, 7].

Д.В. Большим изучено распределение металлов между различными фракциями крови при экспозиции Zn, Cd, Mn, Pb in vitro [1]. Автором подтверждены данные литературы о преимущественном первичном связывании металлов в крови с альбумином. По проникающей способности исследованные металлы распределились  $Cd > Mn > Pb > Zn$ .

Внешняя оболочка клеток крови богата функциональными группами, способными связывать ионы металлов [1].

Биологическая роль вторичного связывания металлов весьма разнопланова и зависит как от природы металла, так и его концентрации и времени экспозиции [7].

В работах С.М. Охрименко показано повышение степени гемолиза эритроцитов после введения животным солей  $\text{CaCl}$  и  $\text{HgCl}_2$  [4].

Ионы кобальта способны непосредственно инициировать перекисное окисление липидов (ПОЛ), вытеснять железо из гема и гемопротеинов, в то время как механизм действия ртути заключается в связывании SH-групп белковых и небелковых тиолов. Предварительно введенный триптофан частично ограничивает усиление спонтанного гемолиза эритроцитов, вызванное введением хлорида кобальта. Отсутствие такого эффекта в случае введения в организм хлорида ртути свидетельствует о наличии другого механизма, видимо, связанного с высоким сродством ионов ртути к тиогруппам мембранных белков [4].

М.О. Трусевичем изучено влияние тяжелых металлов (хлориды  $\text{Co}$ ,  $\text{Mn}$ ,  $\text{Ni}$ ,  $\text{Zn}$ ) в конечных концентрациях от 0,008 до 1 мМ. На основании полученных результатов авторами сделан вывод о том, что все тяжелые металлы в концентрации свыше 0,008 мМ оказывают токсическое воздействие на резистентность эритроцитарной мембраны, исключая значения концентрации 0,04 мМ. Для хлорида  $\text{Zn}$  отмечено снижение уровня гемолиза эритроцитов в концентрации 0,04 мМ [5].

#### Материалы и методы исследования

В настоящей работе изучено влияние тяжелых металлов ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) на мембранную устойчивость эритроцитов крови здорового человека и различных больных (сахарный диабет, опухоль щитовидной железы, острая пневмония).

Для опытов использовали кровь, взятую из пальца. Набирали 20 мм<sup>3</sup> крови в 2 мл физиологического раствора.

Эритрограмма строилась по методу кислотных эритрограмм, предложенных Гительзоном и Терсковым [2].

Для наблюдения за кинетикой гемолиза использовали фотоэлектрический колориметр КФК-2. За стандартную принята концентрация эритроцитов, оптическая плотность которой в данных условиях составляла 0,700.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В суспензию эритроцитов добавляли растворы тяжелых металлов (хлориды  $\text{Pb}$ ,  $\text{Co}$ ,  $\text{Zn}$ ) в конечных концентрациях от  $10^{-5}$  до  $10^{-3}$  М. Полученные образцы инкубировали в течение 10–60 минут. Затем определялась оптическая плотность эритроцитов в зависимости от концентрации и времени воздействия ионов тяжелых металлов. Кроме того, изучена кинетика кислотного гемолиза эритроцитов в крови здорового человека и крови больных в зависимости от

концентрации ионов тяжелых металлов. Известно, что в зависимости от возраста человека изменяется мембранная устойчивость эритроцитов крови. В связи с этим при взятии крови учитывали возраст.

Установлено, что использованные ионы тяжелых металлов оказывают влияние на мембранную устойчивость эритроцитов, которая выражается в изменении плотности последних. Так, например плотность суспензии эритроцитов, подвергнутых воздействию ионов  $\text{Pb}^{2+}$  в концентрации  $10^{-3}$  М в течение 60 минут, уменьшается на 90%, а при влиянии ионов  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  соответственно на 70 и 60% (время действия 60 минут, концентрация  $10^{-3}$  М), тогда как плотность суспензии эритроцитов необработанных ионами не изменяется.

Таким образом, установлено, что плотность суспензии эритроцитов изменяется в зависимости от концентрации и длительности воздействия ионов тяжелых металлов – чем выше концентрация и время воздействия, тем больше уменьшение плотности эритроцитов.

Из эритрограммы, характеризующей кислотный гемолиз эритроцитов крови здорового человека, видно, что начало гемолиза на 2-й минуте, длительность гемолиза составляла 8 минут, максимум 6 минут. Скорость кислотного гемолиза крови изменяется при действии ионов тяжелых металлов. Так, если сравним эритрограммы образцов крови, которые подвергались влиянию ионов  $\text{Pb}^{2+}$  (концентрация  $10^{-3}$  М, время воздействия 30 минут), то можно заметить, что гемолиз длится в среднем 4 минуты и максимум распределения эритроцитов 2 минуты; по сравнению с ионами  $\text{Pb}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$  ионы  $\text{Zn}^{2+}$  оказывают слабое воздействие, и кислотный гемолиз длится 6, 5 минут, максимум 4 минуты (рис. 1, 2).

В представленной работе также изучена кинетика кислотного гемолиза эритроцитов крови больных сахарным диабетом, опухолью щитовидной железы и острой пневмонией. Как видно из полученных данных, в крови больных пневмонией и опухолью щитовидной железы происходит накопление в группе пониженно-стойких, среднестойких эритроцитов и уменьшение количества повышено-стойких эритроцитов. А у больных сахарным диабетом эритрограмма крови с правой стороны приподнята. Это указывает на увеличение уровня эритропоэза в крови [2].

Влияние использованных в работе ионов тяжелых металлов на эритроциты крови больных отличается (рис 3, 4, 5). Так, например, ионы  $\text{Zn}^{2+}$  оказывают сильное воздействие на эритроциты крови больного острой пневмонией и опухолью щитовид-

ной железы по сравнению с эритроцитами крови здорового человека. Подтверждением наших данных явились результаты исследований, проведенных у больных со злокачественными опухолями различной локализации, где были выявлены выраженные нарушения белкового состава (снижение содержания высокомолекулярных полипеп-

тидов при одновременном увеличении доли низкомолекулярных белков), а также показано, что с низкомолекулярными белками в основном связываются ионы  $Zn^{2+}$  [3,1]. При влиянии ионов  $Pb^{2+}$  на эритроциты крови больных наблюдается смещение всей эритрограммы влево, следовательно, теряет стойкость вся масса эритроцитов.

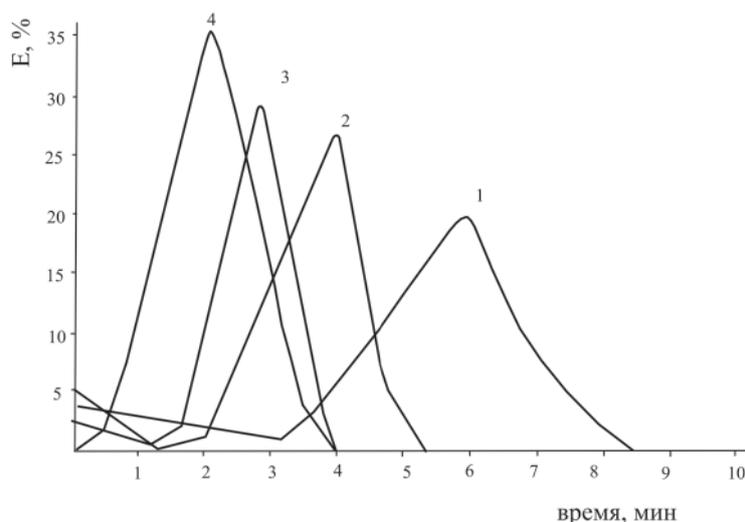


Рис. 1. Эритрограмма крови здорового человека после воздействия ионов  $Co^{2+}$ :  
1 — контроль; 2 —  $10^{-5} M$ ; 3 —  $10^{-4} M$ ; 4 —  $10^{-3} M$ .  
Время воздействия 30 мин  $P < 0,5$

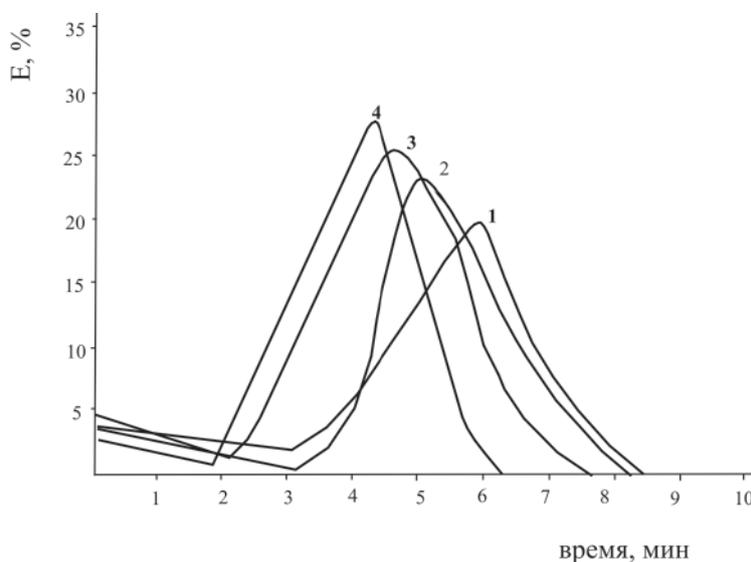


Рис. 2. Эритрограмма крови здорового человека после воздействия ионов  $Zn^{2+}$ :  
1 — контроль; 2 —  $10^{-5} M$ ; 3 —  $10^{-4} M$ ; 4 —  $10^{-3} M$ .  
Время воздействия 30 мин  $P < 0,5$

Полученные данные позволяют считать, что изменение физико-химического состава эритроцитов, проявляющееся в непостоянстве их стойкости, является следствием повреждения мембраны эритроцитов при

воздействии ионов тяжелых металлов. Влияние ионов тяжелых металлов ( $Pb^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) зависит от концентрации, длительности их экспозиции и предшествующего состояния здоровья человека.

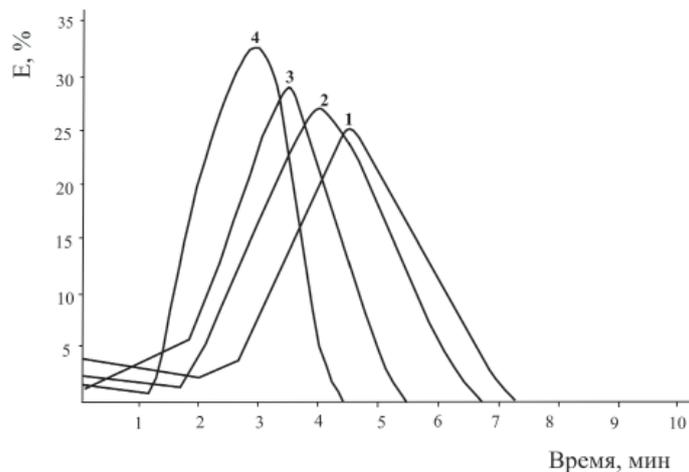


Рис. 3. Эритрограмма крови больных пневмонией после воздействия ионов тяжелых металлов: 1 – кровь больных пневмонией; 2 –  $\text{Co}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M); 3 –  $\text{Zn}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M); 4 –  $\text{Pb}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M).  
Время воздействия 30 мин  $P < 0,3$

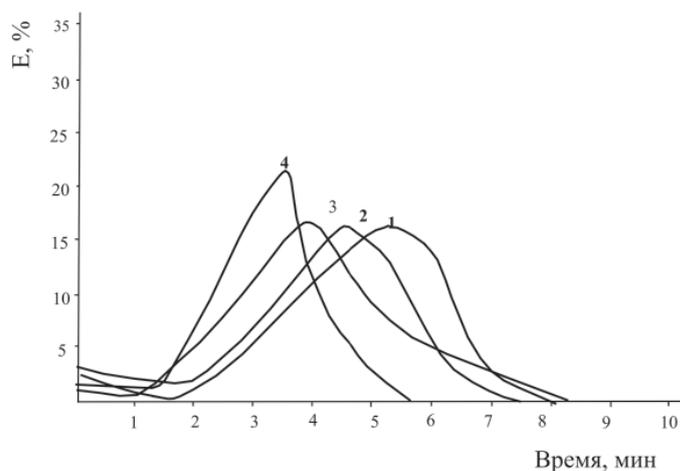


Рис. 4. Эритрограмма крови больных опухолью щитовидной железы после воздействия ионов тяжелых металлов: 1 – кровь больных опухолью щитовидной железы; 2 –  $\text{Co}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M); 3 –  $\text{Zn}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M); 4 –  $\text{Pb}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M).  
Время воздействия 30 мин  $P < 0,4$

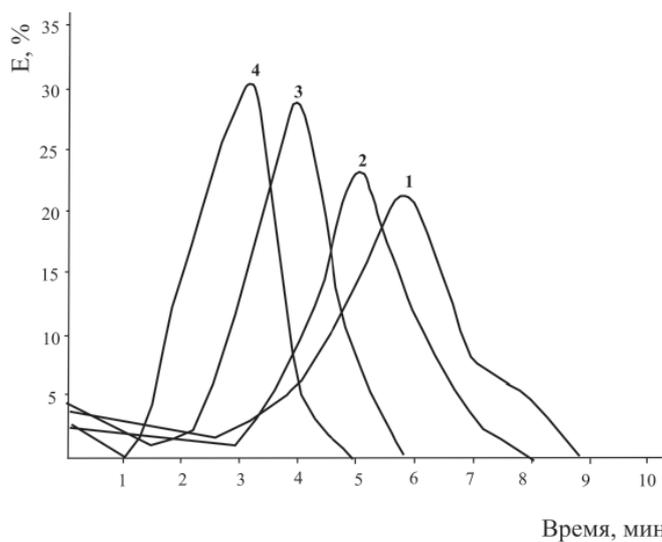


Рис. 5. Эритрограмма крови больных сахарным диабетом после воздействия ионов тяжелых металлов: 1 – кровь больных диабетом; 2 –  $\text{Zn}^{2+}$  ( $10^{-5}$  M); 3 –  $\text{Co}^{2+}$  ( $10^{-4}$  M); 4 –  $\text{Pb}^{2+}$  ( $10^{-3}$  M).  
Время воздействия 30 мин  $P < 0,3$

**Список литературы**

1. Большой Д.В. Изучение распределения металлов между различными фракциями крови при экспозиции Zn, Cd, Mn и Pb in vitro // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – Т.18, №4. – С. 71–75.

2. Гительзон М.И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / М.И. Гительзон, И.А. Терсков. – Красноярск: Изд-во Сибирского отделения АН СССР, 1954. – 246 с.

3. Новицкий В.В., Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма контуры проблемы / отсосо // Бюллетень Сибирской медицины. – 2006. – Т.5, №2. – С. 62–69.

4. Охрименко С.М. Влияние триптофана на некоторые показатели азотистого обмена у крыс при оксидативном стрессе, вызванном солями кобальта и ртути // Вестник Днепропетровского университета. Биология, Экология. – 2006. – Т.2, №4– С. 134–138.

5. Трусевич М.О. Изучение гемолиза эритроцитов под воздействием тяжелых металлов. Экология человека и проблемы окружающей среды в постчернобыльский период // материалы респуб. научн. конференции. – Минск, 2009. – С. 50.

6. Тугарев А.А. Влияние кадмия на морфофункциональные характеристики эритроцитов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2003. – 28 с.

7. Davidson T., Ke Q., Costa M. Transport of Toxic Metals by Molecular/Ionic Mimicry of Essential Compounds. – In: Handbook on the toxicology of metals / ed. By G.F. Nordberg et al. – 3-d ed. – Acad. Press. – London/New York/Tokyo, 2007. – pp. 79–84

**References**

1. Bolshoj D.V. Izuchenie raspredelenija metallov mezhdru razlichnymi frakcijami krovi pri jekspozicii Zn, Cd, Mn i Pb in vitro. Aktual'nye problemy transportnoj mediciny. 2009, T.18, no. 4, p. 71–75.

2. Gitelzon M.I., Terskov I.A. Jeritrogrammy kak metod klinicheskogo issledovanija krovi. Krasnojarsk: Izd-vo Sibirskogo otdelenija AN SSSR, 1954, 246 p.

3. Novickij V.V., Rjazancova N.V., Stepovaja V.A. i dr. Molekuljarnye narusheniya membrany jeritrocitov pri patologii raznogo geneza javljajutsja tipovoj reakciej organizma kontury problemy: B'ulleten Sibirskoj mediciny. 2006, T.5, no. 2, pp. 62–69.

4. Ohrimenko S.M. Vlijanie triptofana na nekotorye pokazateli azotistogo obmena u krys pri oksidativnom stresse vyzvannom soljami kobalta i rtuti. Vestnik Dnepropetrovskogo Universiteta. Biologija, Jekologija, 2006, T.2., no. 4, pp. 134–138.

5. Trusevich M.O. Izuchenie gemoliza jeritrocitov pod vozdejstviem tzhzhelyh metallov. Jekologija cheloveka i problemy okruzhajuwej sredy v postchernobylyskij period. Materialy respub. Nauchn. Konferencii. Minsk, Belarus., 2009, pp. 50.

6. Tugarev A.A. Vlijanie kadmija na morfofunkcional'nye harakteristiki jeritrocitov: Avtoref. dis. d-ra. biol. nauk. Moskva, 2003. 28 p.

7. Davidson T., Ke Q., Costa M. Transport of Toxic Metals by Molecular/Ionic Mimicry of Essential Compounds. – In: Handbook on the toxicology of metals / ed. By G.F. Nordberg et al. – 3-d ed. – Acad. Press, London/New York/Tokyo, 2007. pp. 79–84.

**Рецензенты:**

Халилов Р.И.Х., д.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории радиоэкологии Института радиационных проблем Национальной академии наук Азербайджана, г. Баку;

Гусейнов Т.М., д.б.н., руководитель лаборатории экологической биофизики Института физики Национальной академии наук Азербайджана, г. Баку.

Работа поступила в редакцию 17.09.2012.