

УДК 621.1.54.11

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КРОВИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В СРЕДЕ ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

**Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеева С.А., Идрисова Л.Т.**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России», Уфа,  
e-mail: Hisamov7958@yandex.ru*

Проведено исследование хемилюминесценции крови кроликов в г. Уфе и сельской местности – Большая Ока. Оценка уровня свободнорадикального окисления проводилась по показателям светосуммы (S) и максимального свечения (J). Получены негативные показатели в городской среде. Количественные показатели ХЛ АФК процесса фагоцитоза клеток крови кроликов, содержащихся в г. Уфе, были значительно ниже, чем таковые у кроликов, содержащихся в с. Большая Ока, и указывали на ослабление клеточного иммунитета в условиях пребывания в среде химического загрязнения. Повышение ПОЛ в эритроцитах крови кроликов в городе Уфе отражало активацию СРО красной крови в условиях химического загрязнения среды. В свою очередь повышение СРО в эритроцитах, вероятно, является одним из звеньев в механизме гематологических сдвигов, наблюдаемых при этом в организме животных, в частности, эритроцитопении.

**Ключевые слова:** кровь, хемилюминесценция, город, село

## LUMINESCENCIONS OF BLOOD THE MAMMALS IN THE ENVIRONMENT CHEMICAL CONTAMINACION

**Enikeyev D.A., Khisamov E.N., Enikeyeva S.A., Idricova L.T.**

*Bashkirian State Medical University of Russian Health Ministry 3,  
Ufa, e-mail: Hisamov7958@yandex.ru*

A study of luminescencions of blood of rabbit is undertaken in to Ufa and rural locality is Large Oka. The estimation of level of free-radical oxidization was conducted on the indexes of светосуммы(S) and maximal luminescence(J). Negative indexes are got in a municipal environment. Quantitative indexes of ХЛ АФК process of фагоцитоза of cages of blood of the rabbit, contained in to Ufa were considerably below, than such for the rabbit contained in p. Large Oka and specified on weakening of cellular immunity in the conditions of stay in the environment of chemical contamination. Increase PAUL in the red corpuscles of blood of rabbit in city reflected activating of CPO of red blood Ufa in the conditions of chemical contamination of environment. In turn an increase of CPO in red corpuscles, probably, is one of links in a mechanism.

**Keywords:** blood, Luminescencion, city, village

Катастрофическое наступление признаков нарушения экологического гомеостаза диктует продолжение исследований по биологическому мониторингу среды. Исходя из этого, целью в настоящей работе ставилось установление реакции млекопитающих на комплексное влияние химических загрязнителей окружающей среды в Республике Башкортостан. В соответствии с задачами экологического мониторинга нами был проведен сравнительный анализ показателей хемилюминесценции крови кроликов, находящихся в городской среде и сельской местности. Материалом исследования служили взрослые кролики породы шиншилла, которые содержались в промышленной зоне г. Уфы, также в относительно экологически благоприятной сельской местности – с. Большая Ока Мечетлинского района Республики Башкортостан, которое располагается в сотне км от промышленных центров, где отсутствуют промышленные и перерабатывающие предприятия, нет фермерских хозяйств, огородничество ведется населением без использования ядохимикатов. По официальным данным, в атмосфере г. Уфы в 2011 г. показатель Си

(по БП, формальдегиду, диоксиду азота, оксиду азота, по взвешенным веществам) составлял 14, который оценивается как IV класс, очень высокий, очень опасный неблагоприятный для здоровья; показатель НП равен 27 (соответствует классу – III, высокий уровень); ИЗА – 7,5, (класс – III, неблагоприятный) [3]. Животные находились в деревянных клетках неотапливаемых сараев. В рацион кормления входили сено из местных трав, пшеничные отруби, овес и овощи из местного посева, а в качестве питья снег. Исследование проводилось в зимние месяцы (декабрь и январь, февраль). В целях биоиндикации были исследованы не менее 10 кроликов.

### Материалы и методы исследования

Состояние свободнорадикального окисления (СРО) в системе крови исследовалось с помощью биохемилюминометра БХЛ-06, в котором в качестве светового детектора был установлен фотоэлектронный умножитель ФЭ 000.335.557.ТУ. При этом изучались перекисное окисление липидов (ПОЛ) эритроцитарной массы и ПОЛ сыворотки крови, а также хемилюминесценция (ХЛ), обусловленная выделением активных форм кислорода (АФК) в процессе фагоцитоза. Оценка уровня свободнорадикального

окисления проводилась по показателям светосуммы (S) и максимального свечения (J) [1, 2].

Статистическая обработка полученных данных проводилась по программе статистика М. О. Excel (определение достоверности различий по t – критерию Стьюдента).

**Результаты исследования и их обсуждение**

Среднее значение светосуммы за 300 с, инициированной люминолом ХЛ активных форм кислорода (АФК) в процессе фагоцитоза у кроликов, содержащихся в с. Большая Ока, составило  $31,2 \cdot 10^2$  импульсов (рис. 1, табл. 1).

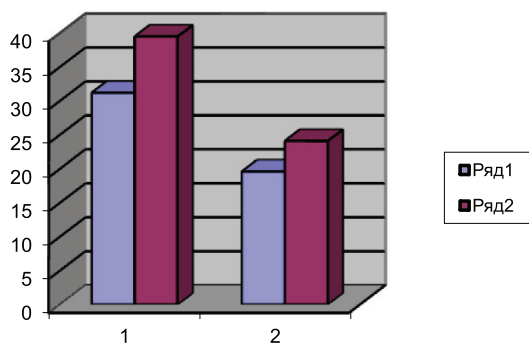


Рис. 1. Показатели биофлуоресценции фагоцитоза: ряд 1 – с. Большая Ока. 2. г. Уфа. Ряд 1 – АФК фагоцитоза (светосумма в имп.  $\times 100$  за 300 с); ряд 2 – АФК стимулированного циолитом фагоцитоза (светосумма в имп.  $\times 100$  за 300 с)

Амплитуда максимального свечения в среднем равнялась 26,9 имп./с. Среднее значение светосуммы за 300 с, инициированной люминолом ХЛ АФК в процессе

стимулированного циолитом фагоцитоза у кроликов, соответствовало  $35,9 \cdot 10^2$  импульсов, амплитуда максимального свечения – 24,3 имп./с. Параллельное изучение ХЛ АФК в процессе фагоцитоза периферической крови средние значения светосуммы за 300 с кроликов, содержащихся в г. Уфе, выявило значительные расхождения по сравнению с данными у кроликов, содержащихся в с. Большая Ока. Для удобства сравнения показатели ХЛ у кроликов, содержащихся в с. Большая Ока, были приняты за 100%. Данные ХЛ АФК процесса фагоцитоза клеток крови кроликов, содержащихся в г. Уфе, были значительно ниже, чем таковые у кроликов, содержащихся в с. Большая Ока. Среднее значение светосуммы за 300 с, инициированной ХЛ АФК в процессе фагоцитоза без стимуляции, равнялось  $19,6 \cdot 10^2$  имп. ( $P < 0,05$ ), что составляло 69,9% от соответствующих показателей животных, содержащихся в с. Большая Ока. Средняя величина амплитуды максимального свечения соответствовала 17,0 имп./с ( $p < 0,05$ ), (63,4%). Прямо пропорциональные сдвиги у животных, содержащихся в г. Уфе, были выявлены и при стимуляции фагоцитоза циолитом. Средние значения светосуммы за 300 с составляли  $21,4 \cdot 10^2$  импульсов ( $P < 0,05$ ), (59,8%), а амплитуда максимального свечения – 15,0 имп./с ( $P < 0,05$ ), (61,9%). Следовательно, сводные показатели инициированной ХЛ АФК процесса фагоцитоза без стимуляции и со стимуляцией указывали на ослабление клеточного иммунитета у животных, содержащихся в г. Уфе (табл. 1, рис. 1).

**Таблица 1**

Сводные показатели хемилюминесценции крови кроликов ( $I_{max}$  – максимальное свечение; S – светосумма;  $M \pm m$ ;  $n-10$ ; \* –  $P < 0,05$ )

| Показатели крови  | с. Б. Ока       | г. Уфа          |
|---|-----------------|-----------------|
| АФК фагоцитоза – $I_{max}$ (имп./с)                     | $26,9 \pm 0,55$ | $17,0 \pm 0,59$ |
| АФК фагоцитоза – $I_{max}$ (%)                          | 100,0           | 63,4            |
| АФК фагоцитоза – S-300 с (имп. $\times 10^2$ )          | $31,2 \pm 0,69$ | $19,6 \pm 0,58$ |
| АФК фагоцитоза – S-300 с (%)                            | 100,0           | 69,9            |
| АФК фагоцитоза (циолит) – $I_{max}$ (имп./с)            | $24,3 \pm 0,48$ | $15,0 \pm 0,41$ |
| АФК фагоцитоза (циолит) – $I_{max}$ (%)                 | 100,0           | 61,9            |
| АФК фагоцитоза (циолит) – S-300 с (имп. $\times 10^2$ ) | $35,9 \pm 0,73$ | $21,4 \pm 0,69$ |
| АФК фагоцитоза (циолит) – S-300 с (%)                   | 100,0           | 59,8            |
| ПОЛ эритроцитов – $I_{max}$ ( $\times 10$ имп/с)        | $19,9 \pm 0,41$ | $20,4 \pm 0,44$ |
| ПОЛ эритроцитов – $I_{max}$ (%)                         | 100,0           | 102,8           |
| ПОЛ эритроцитов – S-60 с (имп. $\times 10^2$ )          | $22,1 \pm 0,46$ | $24,0 \pm 0,51$ |
| ПОЛ эритроцитов – S-60 с (%)                            | 100,0           | 108,9           |
| ХЛ сыворотки – $I_{max}$ ( $\times 10^2$ имп./с)        | $23,8 \pm 0,61$ | $38,8 \pm 0,63$ |
| ХЛ сыворотки – $I_{max}$ (%)                            | 100,0           | 163,1           |
| ХЛ сыворотки – S-60 с (имп. $\times 10^3$ )             | $42,2 \pm 1,2$  | $67,4 \pm 1,5$  |
| ХЛ сыворотки – S-60 с (%)                               | 100,            | 159             |

Фагоцитоз с его условно 4-мя фазами стал известен более века назад (И.И. Мечников, 1883) [3], он имеет место в биосистемах как один из факторов физиологического и морфологического гомеостаза, фактор органно-тканевого обновления и адаптационного процесса как в физиологических, так и патологических условиях. Биохимические явления, безусловно, определяют его сущность, которые особенно демонстративно проявляются в 4 фазе – «переваривания» флогогена, используя СРО, а именно АФК (супероксидный анион-радикал кислорода, пергидроксильный радикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, алкоксильный радикал, алкоксидиоксильный радикал, гидроперекись, синглетный кислород и другие) [6, 8].

Следовательно, АФК фагоцитоза как индикатор экспрессии клеточных форм неспецифической защиты организма играет не последнюю роль. Кроме того, дефицит АФК фагоцитоза играет основную роль в процессе развития хронического воспаления, а именно когда микробы в фагосоме не только не погибают, но и размножаются и таким образом постоянно поддерживают макрофагическую инфильтрацию в тканях органа, активируют и поддерживают высокий уровень воспалительных медиаторов и модуляторов [3].

Таким образом, среди индикаторных показателей уровня фагоцитоза, а именно процент фагоцитоза, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, суммарная интенсивность поглощения, завершенность фагоцитоза, только последнее, которое определяется внутрифагосомным перевариванием, оказывается наиболее информативным [5].

Параллельное изучение индуцированной перекисью водорода с сульфатом железа ХЛ перекисного окисления липидов (ПОЛ) эритроцитов крови в различных регионах Республики Башкортостан позволило оценить характер процесса СРО в красной крови в зависимости от степени химического загрязнения окружающей среды. Так, светосумма за 60 с индуцированной ХЛ ПОЛ эритроцитов периферической крови животных, содержащихся в Большой Оке, в среднем составляла  $22 \cdot 10^2$  импульсов. Средняя величина амплитуды максимального свечения при этом равнялась  $19,9 \cdot 10^2$  имп./с. В последующем сравнение показателей, полученных в г. Уфе, проводилось с данными животных, содержащихся в с. Большая Ока. Поэтому приведенные выше цифровые величины также были приняты за 100%. Эти показатели в г. Уфе соответственно равнялись  $30,4 \cdot 10^2$  импульсов за 60 с (152,9%) и  $33,8 \cdot 10$  имп./с ( $P < 0,05$ ), (153,1%). Повышение ПОЛ в эритроцитах

крови кроликов в городе Уфе отражает активацию СРО красной крови в условиях химического загрязнения среды. В свою очередь повышение СРО в эритроцитах, вероятно, является одним из звеньев в механизме гематологических сдвигов, наблюдаемых при этом в организме животных, в частности, эритроцитопении.

Исследование индуцированной перекисью водорода сульфатом железа ХЛ сыворотки крови животных, находящихся в разных регионах Республики Башкортостан, показало прямо пропорциональный характер по отношению к ХЛ ПОЛ эритроцитов. Так, светосумма за 60 с индуцированной ХЛ сыворотки крови кроликов, содержащихся в с. Большая Ока, в среднем составляла  $42,2 \cdot 10^3$  импульсов, а средняя величина амплитуды максимального свечения равнялась  $23,8 \cdot 10^2$ . Эти величины, как и в предыдущих исследованиях, были приняты 100%. В городе Уфе эти показатели ХЛ более значительны и превышали по сравнению с таковыми у животных в с. Большая Ока. Светосумма за 60 с индуцированной ХЛ сыворотки крови кроликов, находящихся в г. Уфе, равнялась в среднем  $67,4 \cdot 10^3$  ( $p < 0,05$ ) (159,8%), а средняя величина амплитуды максимального свечения соответствовала  $38,8 \cdot 10^2$  ( $p < 0,05$ ) (163,1%), имп./с (табл. 1, рис. 2).

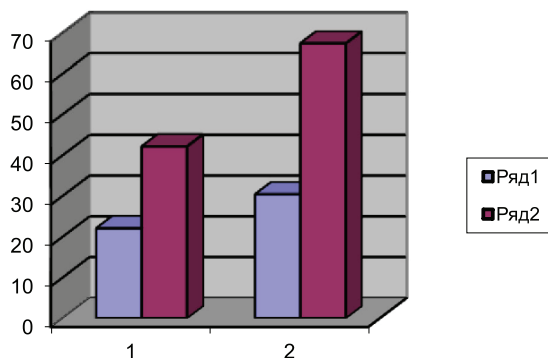


Рис. 2. Показатели биохемилюминесценции ПОЛ: 1 – с. Большая Ока; 2 – г. Уфа; ряд 1 – пол эритроцитов (светосумма в имп. × 1000 за 60 с); ряд 2 – пол сыворотки крови (светосумма в имп. × 1000 за 60 с)

Параллельно была определена теснота связи признаков – АФК фагоцитоза и перекисное окисление липидов (ПОЛ) по методу парной корреляции у кроликов, содержащихся в Уфе [9]. Сопоставление величин коэффициента критической (0,63) и коэффициента фактической (0,93) выявило умеренно тесную статистически достоверную положительную связь между изучаемыми признаками ( $P < 0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 2

Теснота связей по коэффициентам парной корреляции (r)  
АФК фагоцитоза  $I_{\max}^{\text{факт}} (\text{имп./с})$  и ПОЛ эритроцитов  $I_{\max}^{\text{крит}} (\times 10 \text{ имп./с})$  у кроликов в г. Уфе  
( $r_{\text{факт}} = 0,93 > r_{\text{крит}} = 0,63, P < 0,05$  при степени свободы  $n-2$ )

|              |      |      |       |       |        |        |        |
|--------------|------|------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 1            | 16,2 | 19,5 | -0,86 | -0,54 | 0,7396 | 0,2916 | 0,4644 |
| 2            | 16,2 | 19,6 | -0,86 | -0,44 | 0,7396 | 0,1936 | 0,3784 |
| 3            | 16,6 | 19,5 | -0,46 | -0,54 | 0,2116 | 0,2916 | 0,2484 |
| 4            | 16,9 | 19,7 | -0,16 | -0,34 | 0,0256 | 0,1156 | 0,0544 |
| 5            | 16,9 | 19,8 | -0,16 | -0,24 | 0,0256 | 0,0576 | 0,0384 |
| 6            | 17,2 | 20,1 | 0,14  | 0,06  | 0,0196 | 0,0036 | 0,0084 |
| 7            | 17,5 | 20,2 | 0,44  | 0,16  | 0,1936 | 0,0256 | 0,0704 |
| 8            | 17,6 | 20,4 | 0,54  | 0,36  | 0,2916 | 0,1296 | 0,1944 |
| 9            | 17,6 | 20,7 | 0,54  | 0,66  | 0,2916 | 0,4356 | 0,3564 |
| 10           | 17,9 | 20,9 | 0,84  | 0,86  | 0,7056 | 0,7396 | 0,7224 |
|              |      |      |       |       | 3,244  | 2,284  | 2,536  |
| $r = 0,9317$ |      |      |       |       |        |        |        |

### Выводы

1. Сводные показатели инициированной ХЛ АФК процесса фагоцитоза без стимуляции и со стимуляцией указывали на ослабление клеточного иммунитета у животных, содержащихся в г. Уфе.

2. По данным хемилюминесценции перекисного окисления липидов в эритроцитах и сыворотке крови у животных, содержащихся в городской среде, выявлен более высокий уровень свободнорадикального окисления липидов.

### Список литературы

1. Безрукавникова Л.М., Курепина Л.М. Хемилюминесценция сыворотки крови экспериментальных животных при воздействии полиметаллической пыли // Гигиена труда и профзаболевания. – М.: 1986. – № 9. – С. 48–51.
2. Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей / Т.Д. Журавлева, С.И. Суплетов, Н.С. Киянюк, Д.Б. Абубакирова // Клиническая лабораторная диагностика. – М., 2003. – № 8. – С. 17–18.
3. Воложин А.И., Порядин Г.В. Патофизиология. – М.: Академия, 2006. – Т. 1. – С. 171.
4. Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2011 г. – Уфа, 2012. – 367 с.
5. Зайко Н.Н., Быцо Ю.В. Патологическая физиология. – М.: Медпресс-информ, 2004. – С. 212.
6. Кузьменко Д.И., Серебров В.Ю., Удинцев С.Н. Свободнорадикальное окисление, активные формы кислорода и антиоксиданты: роль в физиологии и патологии клетки. – М.: 2007. – С. 22–27.
7. Михайлов В.И. Методологические основы антиоксидантной защиты населения от влияния вредных для здоровья экологических и производственных факторов // Новое медицинское оборудование, новые медицинские технологии. – М., 2007. – № 18. – С. 5–10.
8. Новицкий В.В., Гольберг Е.Д., Уразова О.И. Патология. – М.: Геотар-медиа, 2012. – Т.1. – С. 486–487.

9. Петров П.К. Математико-статистическая обработка результатов педагогических исследований. – Ижевск, 2006. – 85 с.

### References

1. Bezrukavnikova L.M., Kurepina L.M. Khemiluminescenciya syvorotki kpovi eksperimentalnykh zhyvotnykh pri vozdeystvii polimetallicheskoy pyli // Gigiena truda i profzabolevaniy. M., 1986. 9. pp. 48–51.
2. Vozrastnye osobennosti svobodnoradikalnogo okisleniy lipidov i antioksidantnoy zaschity v eritratsitakh zdorovykh lyudey / T.D. Zhuravleva, S.I. Supletov, N.S. Kiyanyuk, D.B. Abubakirova // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. M., 2003. pp. 17–18.
3. Volozhin A.I., Poryadin G.V. Patofiziologia. M.: «Akademiy», tom 1. 2006. pp. 171.
4. Gosudarstvennyy doklad o sostoyanii prirodnnykh resursov i okruzhayashei srede Respubliki Bashkortstan v 2011 g. Ufa. 2012. pp. 22–27.
5. Zaiko N.N. Bytso YU. B. Patofiziologia. M.: Medpress-inform, 2004. pp. 212.
6. Kuzmenko D.I., Serebrov B.YU., Udintsov. Svobodnoradikalnoe okislenie, aktivnye formy kisloroda i antioksidanty: rol v fiziologii i patologii kletki. M., 2007. pp. 22–27.
7. Mikhailov B.I. Metodologicheskie osnovy antioksidantnoi zaschity naselenia ot vliyaniya vrednykh dlya zdorovya ekologicheskikh i proizvodstvennykh faktorov/Novoe meditsinskoe oborudovanie, novye meditsinskie tekhnologii. M., 2007. pp. 5–10.
8. Novitskiy V.V. Golberg E.D., Urazova O.I. Patofiziologia. M.: Geotar-Media, 2012. Tom 1. pp. 486–487.
9. Petrov P.K. Matematiko-staticheskaya obrabotka rezul'tatov pedagogicheskikh isledovaniy. zhevsk: 2006. 85 p.

### Рецензенты:

Фролов Б.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии Оренбургской государственной медицинской академии, г. Оренбург;

Миннебаев М.М., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии Казанского государственного медицинского университета, г. Казань.

Работа поступила в редакцию 04.02.2014.