

## ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРАСНОЙ КРОВИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МЕДНО-ЦИНКОВОЙ КОЛЧЕДАНОЙ РУДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Зиякаева К.Р.<sup>1</sup>, Габдулхакова И.Р.<sup>1</sup>, Зайнетдинова А.Т.<sup>2</sup>, Шамратова В.Г.<sup>2</sup>,  
Каюмова А.Ф.<sup>1</sup>, Фазлыяхметова М.Я.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа, e-mail: claraz@ufanet.ru;

<sup>2</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, e-mail: norfiz@yandex.ru

---

Исследованы показатели красной крови и осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ) крыс самцов на фоне длительного воздействия медно-цинковой колчеданной руды. Под воздействием соединений тяжелых металлов, входящих в состав руды, мембрана эритроцитов претерпевала изменения в составе белково-липидных компонентов, что вызывало набухание эритроцитов, снижение их осмотической резистентности и уменьшение срока жизни эритроцитов. Установлено снижение ОРЭ на 10-е сутки эксперимента и сдвиг эритрограммы влево в опытной группе животных по сравнению с интактными животными. К концу эксперимента (120-е сутки) осмотическому гемолизу подвергались все популяции эритроцитов, гемолиз наступал при более высокой концентрации NaCl. К этому сроку уменьшилось количество эритроцитов и концентрация гемоглобина, в то время как увеличился средний объем и ширина распределения эритроцитов, наблюдался анизоцитоз.

---

Ключевые слова: осмотическая устойчивость, эритроциты, анемия, анизоцитоз, руда.

## DYNAMICS OF QUANTITATIVE AND MORPHOFUNCTIONAL INDICATORS OF RED BLOOD BY PROLONGED EXPOSURE OF COPPER-ZINC PYRITE ORE IN EXPERIMENT

Ziyakaeva K.R.<sup>1</sup>, Gabdulkhakova I.R.<sup>1</sup>, Zainetdinova A.T.<sup>2</sup>, Shamratova V.G.<sup>2</sup>,  
Kayumova A.F.<sup>1</sup>, Fazluakhmetova M.Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: claraz@ufanet.ru;

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa, e-mail: norfiz@yandex.ru

---

It was investigated hematological indices of red blood and osmotic resistance of the erythrocytes of rats males on the background of the prolonged exposure of copper-zinc pyrite ore. Under the influence of heavy metals included in ore, red blood cell membranes have undergone changes in their protein-lipid components that cause swelling of the erythrocytes, reduction of their osmotic resistance and decrease physiological age of red blood cells. On the 10-day experiment it was found out the reduction of osmotic resistance of erythrocytes and shift left erithrogramm in the experimental group. At the end of experiment (120-th day) osmotic hemolysis subjected all populations of erythrocytes, hemolysis was at elevated concentrations of NaCl. At this period of experiment the number of erythrocytes and hemoglobin concentration were decreased, while the mean corpuscular volume (MCV) and red cells distribution width (RDW<sub>a</sub>) were increased, it was observed anisocytosis.

---

Keywords: osmotic resistance, erythrocytes, anemia, anisocytosis, pyrite ore.

В последнее время большое внимание уделяется изучению влияния ионов тяжелых металлов на устойчивость мембраны эритроцитов, так как основной мишенью их токсического воздействия на клетки является именно биологическая мембрана [1]. Ранее было установлено, что ионы тяжелых металлов оказывают влияние на мембранную устойчивость эритроцитов, которая выражается в изменении оптической плотности суспензии эритроцитов в зависимости от концентрации и длительности воздействия тяжелых металлов. Токсическое действие различных соединений тяжелых металлов обусловлено образованием прочных связей тяжелых металлов с белками мембраны, нарушая ее

проницаемость для ионов и стабильность белково-липидных комплексов. Подобное действие «белковых ядов», активно фиксирующихся на красных кровяных клетках, приводит к нарушению целостности мембраны эритроцитов [2].

В Республике Башкортостан расположено одно из крупнейших предприятий горнодобывающей промышленности – ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат» (УГОК), где добываются 70 % цинка и 30 % меди в России [3]. У рабочих, постоянно контактирующих при добыче руды с полиметаллической пылью, изменяется функциональное состояние организма, снижаются его адаптационные возможности, что приводит к повышению риска возникновения профессиональных и общих заболеваний [4]. Например, развиваются системные изменения костной ткани с высокой частотой остеопении и остеопороза. Одним из патогенетических механизмов развития нарушений метаболизма костной ткани может быть избыточное поступление и накопление таких элементов, как медь, цинк, хром, свинец, кадмий и мышьяк [5]. Известно, что многие токсические вещества, такие как полихлорированные бифенилы, диоксинсодержащие вещества индуцируют процессы свободнорадикального окисления, которые протекают в липидном слое мембран клеток, что приводит к уменьшению ненасыщенности ее жирнокислотных компонентов, к уменьшению микровязкости и, следовательно, пластичности мембраны [6,7].

В связи с предполагаемым мембранотоксическим действием медно-цинковой колчеданной руды нами были изучены осмотическая резистентность эритроцитов, которая отражает функциональное состояние эритроцитов при адаптации к различным стрессовым факторам [8]. По осмотической эритрограмме можно судить об интенсивности и характере кроветворения, в частности, эритропоэзе. Исследования были проведены в гематологической лаборатории кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», город Уфа.

**Цель.** Изучить динамику показателей красной крови и осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ) периферической крови при длительном воздействии медно-цинковой колчеданной руды на организм экспериментальных животных в условиях *in vivo* и в эксперименте *in vitro*.

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на 90 белых беспородных крысах-самцах с исходной массой 200–300 граммов. Животным опытной группы (n=60) в течение четырех месяцев индивидуально ежедневно перед стандартным кормлением один раз в сутки перорально вводили рудный порошок, из расчета 60 мг руды на 100 г веса животного. Все болезненные манипуляции с крысами, в том числе забор крови, осуществляли под эфирным наркозом в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденным и введенным в действие Приказом

Ростехрегулирования от 02.12.2009 (№ 544-ст ГОСТ Р. 53434-2009). Забор крови осуществляли из хвостовой вены на 10-е, 30-е, 60-е, 90-е и 120-е сутки эксперимента. Действие руды изучали на модели осмотического гемолиза эритроцитов с применением растворов убывающих концентраций хлорида натрия [9]. В опыте *in vitro* в пробирки с раствором хлорида натрия добавляли 50 мг порошка медно-цинковой колчеданной руды и 20 мкл крови интактных крыс. Степень гемолиза эритроцитов оценивали на спектрофотометре ПЭ-5400ВИ при длине волны 540 нм. Воздействие медно-цинковой колчеданной руды на разные популяции эритроцитов рассчитывали следующим образом: высокоустойчивые молодые клетки с процентом гемолиза 90 % (p90); среднеустойчивые зрелые эритроциты, процент гемолиза составил 50 % (p50) и низкоустойчивые старые клетки, характеризующееся 10 % гемолиза (p10). По результатам осмотического гемолиза строили эритрограммы.

На ветеринарном гематологическом анализаторе Эксиго (Vet Exigo 19, Sweden) в периферической крови определяли следующие показатели: абсолютное количество эритроцитов (RBC ( $10^{12}/L$ )), уровень гемоглобина (HGB (g/L)), гематокрит (HCT (%)), средний объем эритроцитов (MCV (fL)), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH (pg)) и среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC (g/L)), ширину распределения эритроцитов в абсолютных единицах (RDW<sub>a</sub> (fL)) и в процентах (RDW (%)). Статистическую обработку полученных данных проводили в программе StatSoft Statistica 10. Для каждого показателя рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку среднего значения. В качестве критерия оценки достоверности различий между опытными и интактными животными использовали непараметрический критерий достоверности Манна – Уитни. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждения.** На рисунке 1 представлены эритрограммы крови крыс контрольной и опытной групп в эксперименте *in vivo* на 10-е, 30-е, 60-е, 90-е, 120-е сутки.

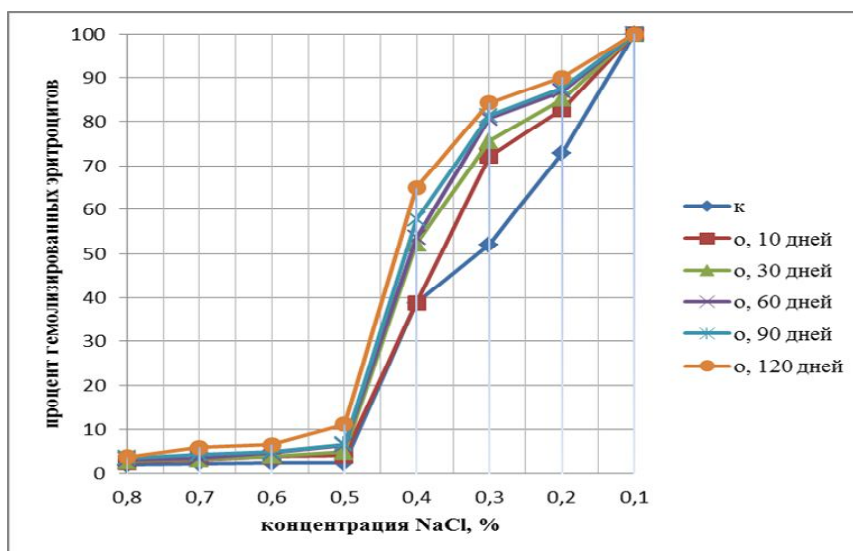


Рис. 1. Эритрограммы осмотической резистентности эритроцитов под влиянием медно-цинковой колчеданной руды *in vivo*

Осмотическая резистентность популяции низкоустойчивых эритроцитов (p10) в опытных группах на разных сроках введения руды в целом существенно не отличалась от контрольных величин, однако на 120-е сутки эксперимента гемолиз эритроцитов наступал при более высоких концентрациях хлорида натрия, свидетельствуя о наиболее низкой резистентности старых клеток крови. Судя по сдвигу эритрограмм влево, то есть в область повышенной концентрации NaCl, в опытных группах уже на 10-е сутки эксперимента снижалась осмотическая резистентность популяции среднеустойчивых эритроцитов (p50). Так, в контроле p50 соответствовало 0,3 % NaCl, а в опытной группе – 0,37 % NaCl. На 30-е, 60-е и 90-е сутки эксперимента сдвиг увеличивался и соответствовал 0,41 % NaCl. На 120-е сутки сдвиг усиливался и p50 приходилось на 0,44 % NaCl. Для популяции высокоустойчивых эритроцитов (p 90) наблюдалась аналогичная, но менее выраженная тенденция. В контрольной группе p90 приходилось на 0,14 % NaCl, в опытной группе на 10-е сутки – на 0,16 % NaCl, на 120-е сутки – на 0,2 % NaCl.

В условиях *in vitro* под влиянием медно-цинковой колчеданной руды эритрограмма сдвигалась влево (рис. 2) для p50 и p90. Популяция низкоустойчивых эритроцитов (p10) в опыте «руда *in vitro*» и в образце «контроль» отличалась незначительно. В наибольшей степени местное действие руды наблюдалось на популяции молодых клеток (p90). В образце «контроль» p90 приходилось на 0,14 % NaCl, а в образце «руда *in vitro*» соответственно на 0,2 % NaCl, что соответствовало значению ОПЭ p90 опыта *in vivo* на 120-е сутки воздействия руды.

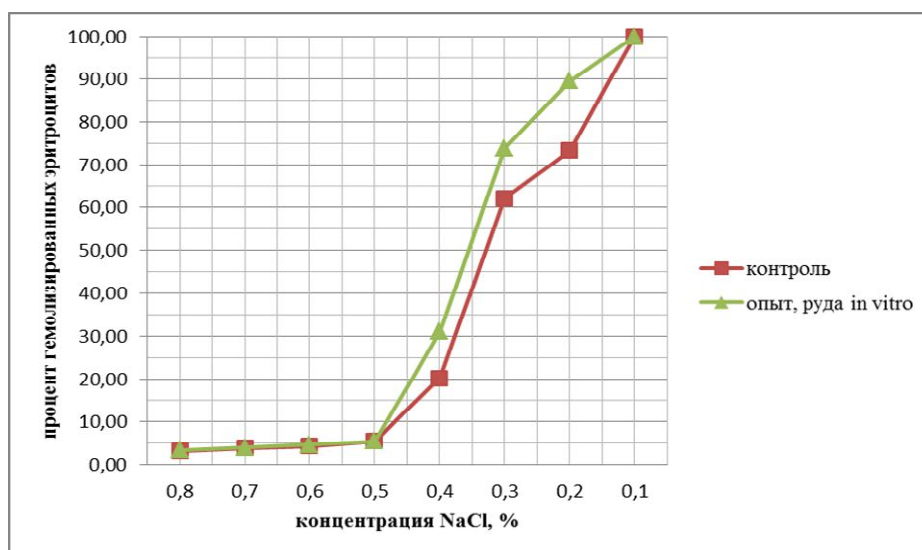


Рис. 2. Эритрограммы осмотической резистентности эритроцитов под влиянием медно-цинковой колчеданной руды *in vitro*

Результаты анализа количественных показателей красной крови представлены в таблице. На 10-е сутки воздействия медно-цинковой колчеданной руды наблюдалось увеличение показателя MCV на фоне снижения показателя HGB и эритроцитарного индекса MCHC. На 30-е сутки введения руды в организм крысы отмечалось снижение всех показателей красной крови, кроме эритроцитарного индекса MCV, который увеличился на 2,31 % по сравнению с контрольной группой. На 60-е сутки эксперимента тенденция к увеличению объема эритроцитов сохранялась. MCV достигал максимального значения на 120-е сутки воздействия медно-цинковой колчеданной руды и отличался от величины MCV контрольной группы на 10,22 %. Параллельно происходило увеличение показателя RDWа на 14 % по сравнению с контрольным значением, свидетельствующее об анизоцитозе. Динамика эритроцитарного индекса MCHC, свидетельствующая о степени насыщенности эритроцитов гемоглобином, имела волнообразный характер, так на 10-е и 60-е сутки снижался, а на 30-е сутки повышался, далее на 120-е сутки отмечалась стабилизация с приближением к значению контрольной группы. Значение показателей RBC, HCT, HGB повторно снижалось на 120-е сутки эксперимента, что свидетельствовало о срыве регуляций, связанных с производством эритроцитов в костном мозге.

Динамика изменения гематологических показателей красной крови крыс при длительном воздействии медно-цинковой колчеданной руды

Показатель и	контроль	опыт, 10 дней	опыт, 30 дней	опыт, 60 дней	опыт, 90 дней	опыт, 120 дней
RBC, (10 <sup>12</sup> /L)	7,53±0,11	7,23±0,23, p=0,14	6,33±0,26, p=0,0008	6,97±0,45, p = 0,22	6,61±0,19, p=0,006	6,36± 0,14, p= 0,000019
HCT, (%)	39,05± 0,45	37,65± 1,11, p=0,23	33,64±1,16, p=0,0007	39,3±2,40, p = 0,97	36,96±0,95, p=0,23	36,38± 0,74, p=0,008
HGB, (g/L)	142,55± 1,53	131±3,74, p=0,006	119,2±4,2, p=0,001	133,8± 9,56, p = 0,47	133,64±3,53, p=0,15	132±0,28, p=0,000006
MCV, (fL)	51,94±0,5	52,12± 0,37, p=0,2	53,14± 0,67, p=0,07	56,41± 1,26, p = 0,003	55,94± 0,61, p=0,0003	57,25±0,68, p=0,00008
RDWа, (fL)	36,06±0,7	36,85± 0,38, p=0,01	35,58± 0,35, p=0,38	37,87± 1,01, p = 0,04	40,11±0,59, p=0,0002	41,15 ± 0,51, p=0,0002
RDW%, (%)	22,06± 0,18	24,55± 0,8, p=0,002	21,56±0,21, p=0,22	21,07±0,14, p = 0,003	22,15±0,13, p=0,5	21,65±0,2, p=0,15

MCHC, (g/L)	365,45± 1,06	348,25±1,7, p=0,0007	355,4± 1,28, p=0,001	348,00± 0,89, p = 0,0008	361,64±2,17, p=0,08	363,18 ± 0,34, p=0,000006
MCH, (pg)	18,98± 0,17	18,18 ± 0,07, p=0,003	18,8±0,35, p=0,56	19,82±0,43, p = 0,06	20,22± 0,18, p=0,0007	20,77 ± 0,17, p=0,00002

Примечания: p – достоверность отличий показателей опытной группы от контрольной, рассчитанная с помощью теста Манна – Уитни.

Увеличение объема происходило при одновременном снижении устойчивости к гемолитическому воздействию. Очевидно, под действием медно-цинковой колчеданной руды менялась проницаемость клеточных мембран, нарушался внутриклеточный баланс ионов, что приводило к набуханию эритроцитов и снижению их осмотической резистентности.

### **Заключение и выводы**

Нарушения функций мембран под влиянием токсичных веществ во многих случаях являются причиной патологических изменений в клетке и организме в целом. Тяжелые металлы медно-цинковой колчеданной руды фиксируются на мембранах эритроцитов, блокируя тиоловые группы мембранных протеинов, нарушая стабильность их белково-липидных комплексов [10]. Вероятно, что изменения, происходящие в составе липидов мембраны, торможения в них процессов аэробного гликолиза, метаболизма и накопления гемолитически активной перекиси водорода вследствие торможения пероксидазы, приводят к развитию одного из характерных симптомов токсического действия соединений этой группы – к гемолизу [11, 12]. Известно, при энергодефиците может наблюдаться потеря эритроцитами дисковидной формы и приближение их фактического объема к критическому, что также может быть одной из причин снижения резистентности эритроцитов под воздействием длительного введения в организм тяжелых металлов. Начиная с 10-х суток введения медно-цинковой колчеданной руды в организм животного, наблюдался сдвиг эритрограмм влево и снижение осмотической резистентности эритроцитов периферической крови *in vivo*, свидетельствующие об отрицательном воздействии руды на эритроциты. Одновременное возрастание объема эритроцитов указывало на нарушение ионного гомеостаза, опосредованное мембранно-деструктивным воздействием руды на клетки. Учитывая, что ОРЭ является маркером степени повреждения мембран, можно констатировать, что наибольший эффект токсического воздействия медно-цинковой колчеданной руды достигался на 120-е сутки, когда гемолиз отмечался в популяции не только зрелых и молодых популяций эритроцитов, но и старых клеток. Появление

эритроцитов с аномальным объемом было связано с нарушенной продукцией эритроцитов костным мозгом и другими тканями с гемопоэтическими свойствами, а увеличение численности старых эритроцитов свидетельствовало о торможении эритропоэза [13].

Таким образом, наблюдаемые изменения количественных показателей красной крови и осмотической резистентности эритроцитов могли явиться следствием как прямого, так и опосредованного воздействия тяжелых металлов и их метаболитов в составе медно-цинковой колчеданной руды на мембрану эритроцитов и клетки костного мозга, в частности, эритрона. При длительной интоксикации рудой снижается антиоксидантная активность тканей (печени, почек) в результате развивающегося дефицита природных антиоксидантов в организме, процессы перекисного окисления липидов приобретают неконтролируемый характер, что и приводит к сокращению срока жизни эритроцитов.

### Список литературы

1. Большой Д.В. Изучение распределения металлов между различными фракциями крови при экспозиции Zn, Cd, Mn и Pb *in vitro* /Д.В. Большой // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – Т. 18, № 4. – С. 71-75.
2. Влияние ионов тяжелых металлов на мембранную устойчивость эритроцитов в норме и при различной патологии организма / Н.К. Кочарли [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11. – С. 299-303.
3. Влияние полиметаллической пыли медно-цинковых колчеданных руд на состояние минерального обмена и костной ткани. / Э.Ф. Аглетдинов [и др.] // Вестник Оренбургского ГУ. – 2011. – № 15 (134). – С. 15-18.
4. Профессиональные риски нарушения здоровья работников, занятых добычей и переработкой полиметаллических руд. / Л.К. Каримов, П.В. Серебряков, Э.Р. Шайхисламова, И.В. Яцына – Уфа: ООО «Принт-2», 2016. – 337 с.
5. Фаршатова Е.Р., Меньшикова И.А., Камилев Ф.К. Влияние металлов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах, на метаболизм костной ткани / Е.Р. Фаршатова, И.А. Меньшикова, Ф.К. Камилев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – № 4. – С. 57-59.
6. Сабирова И.Р. Лейкопоэз и лейкоциты периферической крови при воздействии полихлорированных бифенилов: дис. ... канд. мед. наук. – Тюмень, 2004. – С. 20-28.
7. Grimm F.A. Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls (PCBs) / F.A. Grimm [et al.] // Crit Rev Toxicol. – 2015. – Vol. 45(3). – P. 245-272.
8. Состояние устойчивости эритроцитов как звено адаптации организма. / А.И. Савлуков

[и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6. – № 4. – С. 13-17.

9. Василевская Н.Л. Методика определения резистентности эритроцитов /Н.Л. Василевская // Бюл. эксперт. биол. мед. – 1955. – Вып. 12. – С. 67-72.

10. Давлетгареева Г.Р. Неферментативное звено антиоксидантной защиты костной ткани при интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды / Г.Р. Давлетгареева, Е.Р. Фаршатова, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12, № 1 (67). – С. 51-54.

11. Козак М.В. Возрастные изменения осмотической резистентности /М.В. Козак // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – № 2 (2). – С. 648-652.

12. Влияние гистохрома на осмотическую резистентность эритроцитов в экспериментах *in vitro* и *in vivo* / О.С. Талалаева [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 27. – № 4. – С. 70-74.

13. Отдаленные последствия эритропоза в эритробластических островках костного мозга крыс после воздействия полихлорированных бифенилов в дозе 1/20 LD50 / А.Ф. Каюмова [и др.] // Вятский медицинский вестник. – 2017. – № 1 (53). – С. 33-38.