

УДК:591.3.615

## СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН ПРИ НИТРИТНОЙ ГИПОКСИИ И УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ ОБЛУЧЕНИИ

© 2011 Д.У. Черкесова, А.И. Рабаданова

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

Поступила в редакцию 12.05.2011

Изучена кислотная резистентность эритроцитов крыс при нитритной гипоксии и УФ-облучении. Показано, что нитритная гипоксия сопровождается левым сдвигом эритрограммы и повышением доли низкостойких эритроцитов, что свидетельствует о деструктивных изменениях в популяции эритроцитов. УФ облучение сопровождается компенсаторными изменениями в популяции эритроцитов, связанными с правым сдвигом эритрограммы и увеличением доли высокостойких эритроцитов.

Ключевые слова: *нитриты, гипоксия, эритроциты, крысы, ультрафиолетовое облучение*

Накопление ксенобиотиков различной природы в биосфере создает угрозу для живых организмов. В этой связи одним из приоритетных направлений современной биологической науки является изучение реакции организмов на воздействие токсикантов, способы профилактики и коррекции. К числу распространенных токсикантов среды обитания относятся нитросоединения (нитраты, нитриты, N-нитрозамины, окись азота), поступление которых в организм возможно алиментарным и ингаляционным путем [1, 11]. Превышение предельно допустимых концентраций нитратов, нитритов в пищевых продуктах, воздухе, воде может привести к поражению людей, а иногда и их гибели. Большую угрозу представляет также накопление канцерогенных нитрозаминов [14]. Первичные изменения при действии нитритов на организм обнаруживаются в крови. Проникая через мембрану эритроцитов, нитриты вызывают метгемоглобинемию, которая сопровождается развитием гемической и гистотоксической гипоксии [1]. Нитриты инициируют процессы свободнорадикального окисления с вовлечением белковых и липидных компонентов клеточных мембран. Деструктивные процессы мембран эритроцитов приводят к нарушению их проницаемости, устойчивости к кислотному гемолизу, развитию аутогемолитических процессов и выходу эритроцитарных ферментов в плазму крови. Естественным экологическим фактором, оказывающим благотворное влияние на организм, является ультрафиолетовое облучение

(УФ-облучение), которое используется в защитных целях при воздействии различных стрессовых факторов, однако сведения об использовании этого вида излучения в целях защиты при нитритной интоксикации практически отсутствуют.

**Цель работы:** изучение кислотной резистентности эритроцитов и активности каталазы в сыворотке крови при нитритной и УФ-облучении.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на белых крысах весом 180-200 г, содержащихся в условиях вивария на обычном рационе в весенний период года. Животные были разделены на группы: 1 группа – интактные животные; 2 группа – крысы, которым внутрибрюшинно вводили нитрит натрия в дозе 5 мг/100 г., эта доза вызывает нитритную гипоксию средней тяжести; 3 группа – животные, подвергавшиеся УФ-облучению в режиме возрастающих биологических доз (максимальная доза 63 эр/м<sup>2</sup>) в течение 7 дней; 4 группа – животные, которым вводили нитрит натрия после УФ-облучения. В каждой группе использовали по 10 животных. В нужный момент у животных забирали кровь. В плазме крови определяли кислотную резистентность эритроцитов [10] и активность каталазы [8]. Полученные результаты подвергали статистической обработке по методу малой выборки [9].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования представлены на рис. 1 и табл. 1, 2. Как следует из наших данных кислотная эритрограмма интактных животных отличается от эритрограмм животных опытных групп.

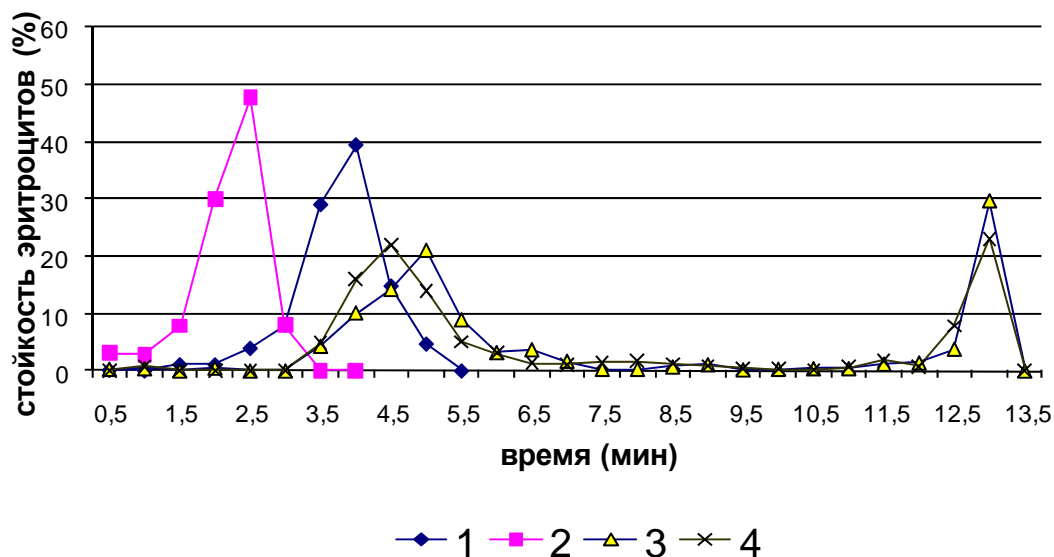
Начальные участки эритрограммы отражают предгемолизные изменения эритроцитов с переходом в сферическую форму, что приводит к изменению оптической плотности. Учитывая, что при патологии возможно появление

*Черкесова Дилара Улубиевна, кандидат биологических наук, профессор кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: ashty06@mail.ru*

*Рабаданова Амина Ибрагимовна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: ashty06@mail.ru*

группы низкостойких эритроцитов, гемолиз которых может повлиять на величину оптической плотности, связанной с предгемолизными изменениями, мы сочли возможным не исключать начального участка из расчета. Продолжительность эритрограммы интактных животных составляет 5,5 мин, она имеет одну вершину и указывает на однородность эритроцитарной популяции, соответствующей нормобластическому

типу кроветворения. Вершина пика эритрограммы располагается на четвертой минуте. В этой точке гемолизует 39,4% эритроцитов. Доля эритроцитов с минимальной стойкостью в интервале 0,5-3 мин составляет 6,3%, эритроциты со средней стойкостью в интервале 3,5-4,5 мин составляет 76,0% и максимальной стойкостью в интервале от 5,0-19,4%.



**Рис. 1.** Кислотные эритрограммы: 1 – интактные животные, 2 – на следующий день после введения нитрита натрия (5 мг/100г); 3 – многократное УФ-облучение; 4 – на следующий день после введения нитрита натрия УФ-облученным животным.

**Таблица 1.** Показатели кислотной резистентности эритроцитов крыс при нитритной итоксикации и УФ-облучении ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Группы показателей	Контроль	Нитрит натрия	УФ-облучение	УФ-облучение + нитрит натрия
время начала гемолиза (мин)	1,5±0,0003	0,5±0,02*	3,5±0,4	3,5±0,1
время окончания гемолиза (мин)	5,0±0,1	3,0±0,09*	13,0±0,2*	13,0±0,5
пик кислотной эритрограммы	4,0±0,8	2,5±0,03*	5,0±0,06*	4,5±0,6
низкостойкие эритроциты (%)	6,3±0,5	91,5±3,8*	1,2±0,4*	0,8±0,06
среднестойкие эритроциты (%)	76,0±1,2	8,0±1,7*	28,6±1,9*	42,8±1,2
высокостойкие эритроциты (%)	19,4±0,9	-	67,2±1,3*	64,7±2,1

Дестабилизация эритроцитарных мембран при воздействии различных экстремальных факторов сопровождается выходом эритроцитарных ферментов в плазму крови. В наших опытах показано, что через час после введения нитрита натрия в дозе 5 мг/100 г. массы тела активность каталазы в сыворотке крови возрастает на 66,2%. Повышение активности

эритроцитарного фермента в сыворотке крови свидетельствует о развитии гемолитических процессов в эритроцитах и согласуется с данными [13] подавления активности каталазы в эритроцитах при введении нитрита натрия и развитии гемической гипоксии. Высокий уровень активности каталазы в сыворотке крови

сохраняется и на следующий день после перенесенного нитритного стресса (табл. 2).

**Таблица 2.** Активность каталазы (мкмоль/мг/мин) в сыворотке крови при нитритной интоксикации и УФ облучении (n=10)

Варианты опытов	Активность каталазы в сыворотке крови
интактные животные	0,74±0,03
через час после введения нитрита натрия	1,23±0,03*
на следующий день после воздействия нитрита натрия	1,13±0,04*
после семидневного УФ облучения	1,16±0,02*
на следующий день после воздействия нитрита натрия, животным, подвергшимся УФ облучению	1,34±0,01**

*Примечание:*\* - достоверные различия по отношению к контролю; \*\* - достоверные различия по отношению к УФ облученным животным

Эритрограмма следующего дня характеризуется левым сдвигом и сокращением времени гемолиза эритроцитов. Вершина пика эритрограммы животных этой группы располагается на 2,5 минуте. К этому времени гемолизует 47,7% эритроцитов. Доля эритроцитов с низкой стойкостью составляет 91,5%, доля среднестойких – 8,0%. Точка минимальной резистентности эритроцитов составляет 1,5 мин, максимальной резистентности – 3,5 мин. Различие интервалов стойкости эритроцитов контрольной и опытной группы животных составляет 2 минуты. Это свидетельствует о том, что наиболее многочисленная группа эритроцитов в крови контрольных животных имеет большую стойкость, чем основная группа эритроцитов животных, подвергшихся воздействию нитрита натрия.

Снижение стойкости эритроцитов при нитритной гипоксии возникает в общем комплексе реакций организма на тканевую гипоксию, вследствие активации перекисного окисления липидов [4]. Гипоксия сопровождается изменением пластических свойств мембраны эритроцитов, снижение ее ригидности. Эритроциты могут принимать форму эхиноцитов, стоматоцитов, нарушается  $K^+/Na^+$  градиент, активность фермента [2]. Снижение кислотной резистентности эритроцитов, смещение основного пика влево и сокращение длительности гемолиза в результате физико-химической модификации эритроцитарных мембран и их

дестабилизации обнаружено при воздействии различных токсикантов [3]. Учитывая защитные возможности УФ-облучения в следующей серии опытов нами исследовались кислотная резистентность и активность каталазы в сыворотке крови после облучения в режиме возрастающих биологических доз.

Под влиянием УФ-облучения в клетках крови усиливается экспрессия и активность целого ряда мембранных рецепторов, антигенов, активности ферментов, изменяются многие свойства самой мембраны – ее деформируемость, проницаемость для ионов, газов, метаболитов [12], улучшаются реологические свойства крови и микроциркуляция, усиливается оксигенация крови. Вместе с тем одним из эффектов УФ излучения на молекулярном уровне является повышение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое может происходить как непосредственно из-за увеличения оксигенации крови, так и благодаря усилению образования фотоиндуцированных свободных радикалов. Однако активация процессов ПОЛ при действии физиологических доз УФ-облучения, сопровождается адекватным или несколько большим усилением активности ферментов антиоксидантной защиты, что является проявлением адаптогенного и стимулирующего действия облучения [7].

Нами показано, что под воздействием УФ-облучения происходит значительное повышение активности каталазы в сыворотке крови (в 2,2 раза). Очевидно, увеличение активности фермента в сыворотке крови происходит в результате активации биосинтеза и повышения его уровня в эритроцитах. Кислотная эритрограмма крыс после УФ-облучения обнаруживает сдвиг вправо и появление второго пика, связанного с выбросом в кровеносное русло высокостойких эритроцитов, хотя эритроцитарная популяция в целом неоднородна. Точка минимальной резистентности приходится на 3,5 мин, точка максимальной резистентности – на 13,5 мин. Максимум вершины первого пика эритрограммы приходится на 5 минуту, при котором гемолизуют 21% эритроцитов, максимум второго пика – на 13 минуту, к этому времени гемолизует 30% эритроцитов. Таким образом, наиболее многочисленная группа эритроцитов в крови облученных животных имеет большую стойкость, по сравнению с необлученными животными. Появление дополнительного максимума справа от основного, смещение точки минимальной резистентности эритроцитов до 3,5 минуты, растяжение левого крыла эритрограммы первой вершины свидетельствуют о повышении устойчивости эритроцитарных мембран при УФ-облучении. Особенности эритрограммы УФ-

облученных животных очевидно являются следствием стимулирующего воздействия УФ лучей на процессы гемопоэза.

Эритрограмма животных, которым вводили нитрит натрия после многократного УФ-облучения незначительно изменяется. Эритрограмма имеет также две вершины, однако максимум первой вершины смещен влево к 4,5 минуте, очевидно в результате гемолиза старых эритроцитов. Точка минимальной резистентности сохраняется на 3,5 мин, несколько увеличивается количество эритроцитов со стойкостью 4 минуты. Точка максимальной резистентности составляет также 13,5 мин, при этом максимум второй вершины несколько ниже и число эритроцитов, подвергшихся гемолизу к 13 мин составляет 23%. Увеличение активности каталазы в сыворотке крови происходит в меньшей степени, чем при нитритной интоксикации у необлученных животных.

**Выводы:** УФ-облучение благотворно влияет при нитритной интоксикации. Вместе с тем неоднородность эритроцитарной популяции при использованной схеме облучения свидетельствует лишь о начальных этапах адаптивных изменений в системе крови. Эти изменения еще не приводят к появлению однородной популяции эритроцитов и дают основание для дальнейших исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ажипа, Я.И. Экологические аспекты загрязнения окружающей среды нитритами и нитратами / Я.И. Ажипа, В.П. Реутова, П.П. Каюшин // Физиология человека. 1990. Т.16. № 3. С. 131-145.
2. Вельтищев, Ю.Е. Биологически активные метаболиты мембранных глицерофосфолипидов в норме и при патологии / Ю.Е. Вельтищев, Э.А. Юрьева, Е.С. Воздвиженская // Вопросы мед. химии. 1987. № 2. С. 2-8.
3. Голенда, И.Л. Способ определения функционального состояния организма по степени резистентности крови к кислотному гемолизу / И.Л. Голенда, А.И. Голенда, В.И. Иванов и др. // Патент на изобретение РФ № 2179315 от 10.02., 2002.
4. Владимиров, Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клеток // Соросов. образоват. журн. Биология. 2000. №9. С. 2-9.
5. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. С. 248.
6. Воложин, А.И. Адаптация и компенсация - универсальный биологический механизм приспособлений / А.И. Воложин, Ю.К. Субботин. – М.: Медицина. 1987. 176 с.
7. Карандашев, В.И. Ультрафиолетовое облучение крови / В.И. Карандашев, Е.Б. Петухов. – М.: Медицина, 1997. 224 с.
8. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.К. Иванова, И.Г. Майорова, В.А. Токарева // Лаб. Дело. 1988. № 4. С. 44-47.
9. Лакин, Г.Б. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
10. Леонова, В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. – Новосибирск: Наука, 1987. С. 241.
11. Нагнибеда, Н.М. Изменение активности симпатoadреналовой системы в условиях острой гемической гипоксии // Физиол. журнал, 1987. Т. 33. №4. С. 124-145.
12. Самойлов, Г.А. Фотобиологические процессы в клетках и плазме крови и их роль в лечебно-оздоровительном действии УФ-излучения / Г.А. Самойлов, И.Г. Дуткевич // В кн. Механизмы влияния облученной УФ-лучами крови на организм. – М.: Наука, 1986. С. 155-178.
13. Шугалей, В.С. Влияние интоксикации нитритом натрия на активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах // Укр. биох. ж., 1992. Т. 64. №2. С. 111-114.
14. Newberne, P.M. Significance of environmental nitrates, nitrites and nitrosamines / P.M. Newberne, K.M. Nauss // Trace Subst. Environ. Health - XIV. Proc. 14th Ann / Conf., Columbia, Miss. 1980. P. 3-15.

## CONDITION OF ERYTHROSYTE MEMBRANES AT NITRITE HYPOXIA AND ULTRA-VIOLET IRRADIATION

© 2011 D.U. Cherkeseva, A.I. Rabadanova

Dagestan State University, Makhachkala

Acid erythrocyte resistance in rats at nitrite hypoxia and UV-irradiation are studied. It is shown that nitrite hypoxia is accompanied by the left shift of erythrocyte population and share increase of low resistance erythrocytes that testifies about destructive changes in erythrocytes population. UV-irradiation is accompanied by compensatory changes in erythrocytes population, connected with the right shift of erythrocyte population and share increase of high resistance erythrocytes.

Key words: *nitrites, hypoxia, erythrocytes, rats, ultra-violet irradiation*

*Dilara Cherkeseva, Candidate of Biology, Professor at the Department of Anatomy, Physiology and Histology. E-mail: ashty06@mail.ru*  
*Amina Rabadanova, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the the Department of Anatomy, Physiology and Histology. E-mail: ashty06@mail.ru*