

УДК: 616.155.1-092.9:613.32:549.2

© Сікора В.З., Приходько О.О., 2010

**ТРАНСФОРМАЦІЯ КЛІТИН КРОВІ ЩУРІВ ЗРІЛОГО ВІКУ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННОГО МІКРОЕЛЕМЕНТОЗУ ОРГАНІЗМУ****Сікора В.З., Приходько О.О.***Медицинський інститут Сумського державного університету*

**Сікора В.З., Приходько О.О.** Трансформація клітин крові щурів зрілого віку в умовах техногенного мікроелементозу організму // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 1. – С. 91-94.

У роботі наведені експериментальні дані про зміни периферійної крові зрілих щурів, які отримували солі важких металів (цинку, заліза, хрому, марганцю, свинцю) на протязі 1-го, 2-х та 3-х місяців. Встановлено, що мікроелементоз викликає зміну розмірів еритроцитів, анемію, зменшення гематокри-ту, рівня гемоглобіну, тривалий поліморфізм червоних клітин периферійної крові за рахунок зростання зворотньодеформованих і незворотньодеформованих типів еритроцитів.

**Ключові слова:** техногенний мікроелементоз, трансформація еритроцитів, кров, анемія, щурі.

**Сікора В.З., Приходько О.О.** Трансформація кліток крові щурів зрілого віку в умовах техногенного мікроелементозу організму // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 1. – С. 91-94.

В работе изложены данные об изменениях периферической крови зрелых крыс, которые получали соли тяжелых металлов (цинка, железа, марганца, свинца) на протяжении 1-го, 2-х и 3-х месяцев. Экспериментально установлено, что влияние на крыс микроэлементоза, вызывает изменение размеров эритроцитов, анемию, уменьшение гематокрита и продолжительный полиморфизм эритроцитов периферической крови за счет роста измененнодеформированных и неизмененнодеформированных типов эритроцитов.

**Ключевые слова:** техногенный микроэлементоз, трансформация эритроцитов, кровь, анемия, крысы.

**Sikora W.Z., Prykhodko O.O.** Transformation of blood cells of the mature rats under conditions of technogenic microelementosis of the organism // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 1. – С. 91-94.

This work provides data on changes in peripheral blood of mature rats, which received salts of heavy metals (zinc, iron, manganese, lead) during the first, second and third months. Experimentally found, that the effect of microelementosis causes in rats changes in the size of erythrocytes, anemia, reduced hematocrit and prolonged polymorphism of erythrocytes through the growth of the modified and unmodified deformed types of erythrocytes.

**Key words:** technogenic microelementosis transformation of erythrocytes, blood, anemia, rats.

**Вступ.** Насиченість навколишнього природного середовища мікроелементами із групи важких металів, викликає серйозну заклопотаність своїми негативними наслідками для здоров'я різних груп населення. Важкі метали визнані пріоритетними забрудниками біосфери, все більшого значення набувають техногенні мікроелементози. Збільшення концентрації солей важких металів зустрічається в багатьох регіонах України, а також і в північних районах Сумської області. Зміни в периферійній крові при впливі екзополутантів хімічного походження, в тому числі і важких металів, відображають як загальнотоксичну дію на організм так і безпосередній вплив на систему кровотворення [1, 4, 6, 11]. Клітини крові змінюють свою морфологію не тільки при гематологічних захворюваннях, але й при патологіях різного генезу. Морфологічні перетворення еритроцитів впливають на процес гомеостазу всього організму й можуть бути причиною гіпоксії [7,8,9,13].

Метою роботи було вивчення морфофункціональних особливостей крові зрілих щурів в умовах хронічного отруєння солями цинку, заліза, марганцю, свинцю. Ця робота є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії людини медичного інституту Сумського державного університету: «Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушення гомеостазу» (№ держреєстрації 010U001287).

**Матеріали та методи дослідження.** В експерименті було задіяно 60 щурів – самців зрілого

віку, які в залежності від терміну дослідження поділені на II серії.

I серія – інтактні тварини 6-и, 7-и, 8-и місячного віку ( по 10 тварин ).

II серія – експериментальна група щурів 6-и, 7-и, 8-и місячного віку ( по 10 тварин ), у питну воду яких додавали суміш солей важких металів протягом 1-го, 2-х , 3-х місяців.

Концентрація металів, які вводили у водний раціон, була наступною: цинку ( $ZnCl_2$ ) – 5 мг/л, міді ( $CuSO_4 \times 5H_2O$ ) – 5,0 мг/л, заліза ( $FeSO_4$ ) – 10 мг/л, марганцю ( $MnCl_2 \times 4H_2O$ ) - 1 мг/л, свинцю ( $Pb(NO_3)_2$ ) - 3 мг/л, що імітує екоситуацію окремих районів Сумської області [ 1 ]. Тварини знаходилися в умовах виварію на звичайному раціоні харчування. Групи відбирали методом рандомізації. Догляд за тваринами здійснювався з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985) та норм біомедичної етики. Після закінчення експерименту, кров для досліджень забирали із хвостової вени щурів. Функціональні показники периферійної крові (кількість еритроцитів, рівня гемоглобіну, гематокри-ту) досліджували за загальноприйнятими методиками. Мазки крові фарбували за Романовським-Гімзою [ 5 ]. Мікроскопічне дослідження проводили на світловому мікроскопі з фотореєстрацією морфологічної картини крові. Підрахунок морфологічних форм усіх еритроцитів проводили по мікросвітлинах, зроблених на растровому електронному

мікроскопі з камерою низького вакууму «РЭМ 106 - И». На отриманих при збільшенні в 2000 разів електронограмах оцінювали загальну структуру морфологічних форм еритроцитів та виділяли їх типи за Bessis M. 1975 та Козинец Г.І. та співавт. 2004. Стіввідношення різних морфологічних типів еритроцитів вивчали із 1000 клітин кожного щура. Підготовка еритроцитів для скануючої електронної мікроскопії проводилася за загальноприйнятими методиками [ 3, 12 ]. Для більш детальної інтегральної кількісної оцінки морфології еритроцитів розраховували індекс трансформації (Ітр). 
$$I_{tr} = \frac{\%ЗД}{\%НД} / \%Д.$$
 Де ЗД – відсоток зворотньодеформованих еритроцитів, НД – відсоток незворотньодеформованих еритроцитів, Д – відсоток дискоцитів) [ 2 ]. Комп'ютерний морфометричний аналіз еритроцитів здійснювали за допомогою системи комп'ютерного аналізу зображення “Видео Тест 5,0” та “Видео Розмер 5,0”. До складу вимірюваних параметрів входили: периметр і середній діаметр еритроцитів. Об'єм, товщина, площа обчислювалися за Чижевським А.А.[ 10].

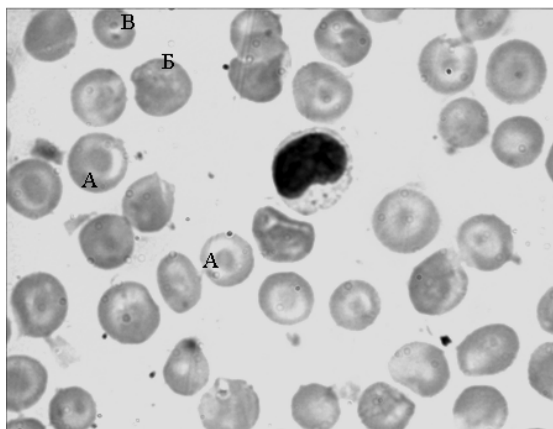
Результати проведених досліджень оброблені на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних програм «Statistica». Достовірність розходження середніх значень в серіях, оцінювали за допомогою критерія Стьюдента (t).

**Результати дослідження.** Дія комбінації солей важких металів на протязі 1 місяця, призвела до анемії, при незначному зниженні в порівнянні з контролем, кількості еритроцитів на 8,5% та достовірно зниженому на 18,2 % рівню гемоглобіну ( $p < 0,01$ ). Відмічається незначне зниження кольорового показника за рахунок зменшення діаметру еритроцитів та насиченості еритроцитів гемоглобіном та зниження гематокриту на 31,6 % ( $p < 0,001$ ). Не виявлено змін у кількості лейкоцитів, але в лейкограмі відмічається збільшення кількості сегментоядерних гранулоцитів на 64,7 % ( $p < 0,01$ ), та зменшення кількості лімфоцитів на 19,4% ( $p < 0,001$ ). Серед лімфоцитів збільшується кількість широкоплазмових лімфоцитів до 30 % ( $p < 0,001$ ).

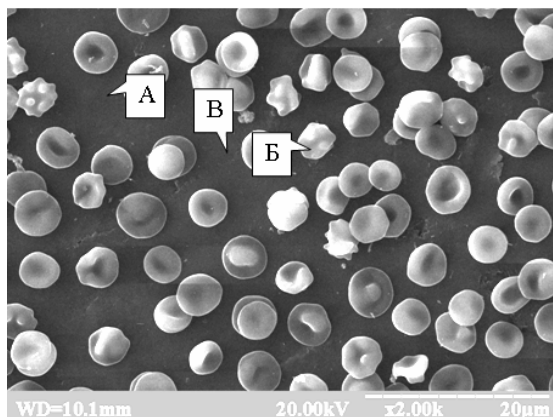
При світлооптичному вивченні еритроцитів у мазках крові щурів, морфологічний аналіз показав, що на фоні зменшення нормоцитів дискоцитів, з'являється велика кількість мішенеподібних та гіпохромних еритроцитів. У 2/3 тварин з'являються поліхроматофільні клітини (рис. 1). Відмічається наявність оксифільних та поліхроматофільних нормоцитів та еритроцитів з тільцями Жолі. Поява їх свідчить про підвищення регенераторної функції кісткового мозку. Виявлений анізоцитоз у тварин досліджуваної групи за рахунок збільшення мікроцитів. Мішеневидні, гіпохромні еритроцити та мікроцити частіше виникають в результаті порушення синтезу гемоглобіну. Морфологічні типи еритроцитів більш детально ми вивчали при дослідженні на РЕМ з метою виключення артефактів, які виникають при приготуванні мазків крові.

Підтвердженням збільшення кількості трансформованих форм еритроцитів, слугує якісна інформація, отримана при дослідженні на растро-

вому електронному мікроскопі (рис.2). Еритроцити в своїй більшості представлені дискоцитами, але їх доля знизилась у порівнянні з показником контрольної групи на 21,7 % ( $p < 0,05$ ). Число трансформованих еритроцитів збільшилось достовірно як за рахунок зворотньодеформованих (за рахунок ехіноцитів у 1,75 рази) так і за рахунок незворотньодеформованих (мішенеподібних-у 37 разів, сфероцитів-у 3 рази, гіпохромних та анулоцитів - 4,4 рази, планоцитів - у 13,75 рази, клітин у вигляді спущеного м'яча – у 3,3 рази). Кількість клітин з різними причудливими формами (дегенеративні) зроста у 1,7 рази. Індекс трансформації еритроцитів достовірно збільшився майже 4-и кратно у порівнянні з контролем, що є відображенням ступеню порушень структури й метаболізму еритроцитів.

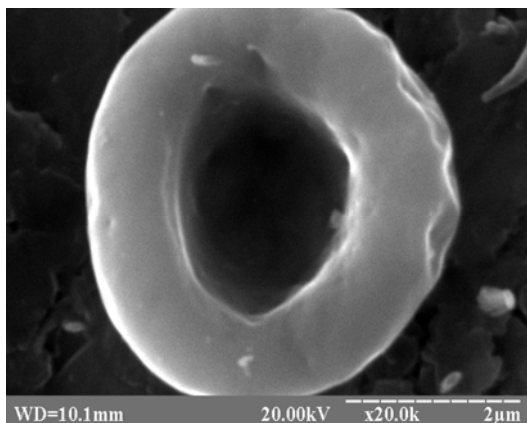


**Рисунок 1.** Кров щура зрілого віку II серії через 1 місяць експерименту. Мішеневидні - А, поліхроматофільні еритроцити - Б, мікроцит - В. Забарвлення за Романовським-Гімзою. Імерсія x 1000.



**Рисунок 2.** Еритроцити щура зрілого віку II серії через 1 місяць експерименту, РЕМ x 2000. А - ехіноцит, Б - гіпохромний еритроцит, В - сфероцит.

Рельєф еритроцитів також змінювався. Зустрічалися клітини з гладкою поверхнею та клітини, структура мембран яких піддалась значній деформації - це еритроцити з чіткими поглибленнями (рис.3), та пухирчатими утвореннями на поверхні. Часті зміни в структурі поверхні мембран та форм еритроцитів дають підстави розцінювати їх як порушення метаболізму мембрани або всієї клітини.



**Рисунок 3.** Гіпохромний еритроцит з дефектами мембрани щура зрілого віку II серії експерименту через 1 місяць, РЕМ x 20000.

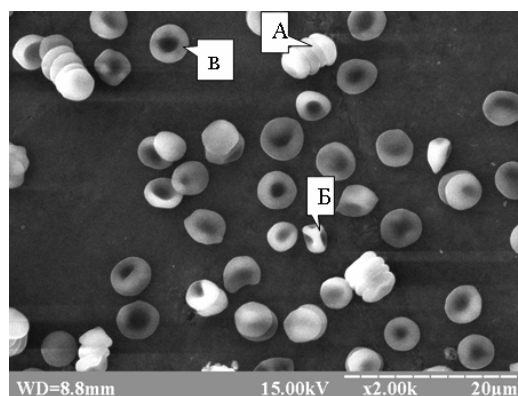
Морфометрія еритроцитів показала, що відбулося вірогідне зменшення їх діаметру на 6 % ( $p < 0,001$ ), периметру на 4,5% ( $p < 0,001$ ), площі поверхні на 10,5 % ( $p < 0,001$ ), об'єму на 14,5% ( $p < 0,001$ ), товщини краю на 5 % ( $p < 0,001$ ).

Вживання щурами зрілого віку питної води з солями важких металів впродовж 2-х місяців, викликало анемію зі зниженням рівнем гемоглобіну на 22 % ( $p < 0,001$ ) та анізоцитоз. Поліхроматофільні клітини з'явилися у 2/3 тварин, відмічається зниження кольорового показника на 24% ( $p < 0,001$ ), та гематокриту на 15,8 % ( $p < 0,05$ ). Винялися гіпохромні еритроцити та анулоцити, рідко-мішенеподібні еритроцити, еритроцити з тільцями Жолі та еритрокаріоцити: оксифільні та поліхроматофільні нормоцити. Зменшилась кількість лейкоцитів на 39 % ( $p < 0,05$ ). Виявлені зміни морфології лейкоцитів у вигляді гіперсегментозу нейтрофілів та пікнозу лімфоцитів. У лейкограмі відмічається достовірне збільшення кількості сегментоядерних гранулоцитів на 96 % ( $p < 0,01$ ), та зменшення кількості лімфоцитів на 24 % ( $p < 0,001$ ).

Аналіз трансформації еритроцитарної складової крові виявив зниження дискоцитів та підвищення зворотньодеформованих та незворотньодеформованих форм еритроцитів у порівнянні з контролем. Кількість дискоцитів зменшилась у на 21 % ( $p < 0,01$ ), кількість ехіноцитів збільшилась у 2,5 рази ( $p < 0,01$ ), стоматоцитів у 1,9 рази ( $p < 0,01$ ). Серед незворотньо деформованих клітин спостерігається збільшення мішенеподібних - у 14 разів ( $p < 0,001$ ), гіпохромних та анулоцитів-у 2,9 рази ( $p < 0,05$ ), планоцитів-у 2,1 рази ( $p < 0,01$ ). Клітини у вигляді спущеного м'яча залишаються на рівні контролю. Відсотковий вміст дегенеративних клітин збільшився у 2,2 рази ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем. Відмічається зменшення сфероцитів-у 1,3 рази. Індекс трансформації еритроцитів збільшився достовірно у порівнянні з контрольною групою в 3,6 рази ( $p < 0,001$ ). При більш детальному вивченні поверхневого рельєфу еритроцитів щурів при збільшенні у 30000-40000 разів визначається більш шероховата поверхня еритроцитів. У окремих клітин на поверхні визначаються пухирці. Морфометричні дослідження еритроцитів показали, що відбулося вірогідне зменшення їх діаметру

на 5,5 %, периметру еритроцитів - на 7,2 %, площі поверхні еритроцитів - на 10,7%, об'єму на 16,2%, товщини краю на 4,9 %. Вищепераховані морфометричні показники достовірні,  $p < 0,001$ .

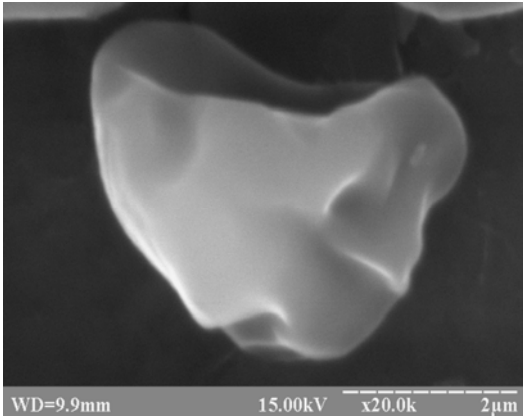
Споживання щурами зрілого віку питної води з солями важких металів впродовж 3-х місяців не призвело до змін рівня гемоглобіну та гематокриту в порівнянні з контролем, кількість еритроцитів збільшилась. Кольоровий показник зменшився на 24,7% ( $p < 0,01$ ). При світлооптичному вивченні мазків крові спостерігаються менш виражені морфологічні зміни еритроцитів, чим у щурів попередніх серій. Еритроцити мають форму дисків, але у половини тварин вони гіпохромні, зустрічаються мікросфероцити, мішенеподібні еритроцити. Молоді форми еритроцитів знайдені тільки у двох щурів. Серед лімфоцитів спостерігаються лімфоцити з ворсинками, молоді бластні форми. У лейкограмі відмічається достовірне збільшення кількості сегментоядерних гранулоцитів на 84 % ( $p < 0,05$ ) та зменшення кількості лімфоцитів на 75 % ( $p < 0,01$ ). Дослідження трансформації еритроцитів даної серії показало також зміни в кількісному співвідношенні форм еритроцитів (рис.4). Двовигнутих форм еритроцитів стало менше у порівнянні з контрольними показниками на 17 % ( $p < 0,05$ ). Число трансформованих еритроцитів достовірно збільшилось як за рахунок зворотньодеформованих (за рахунок ехіноцитів у 2,6 рази, стоматоцитів у 2,8 рази) так і за рахунок незворотньодеформованих (мішенеподібних-у 1,6 рази, сфероцитів-у 0,8 рази, гіпохромних та анулоцитів-1,7 рази, планоцитів-у 4,2 рази, клітин у вигляді спущеного м'яча - у 3,3 рази (рис.5)). Вміст дегенеративних клітин збільшився у 3 рази ( $p < 0,01$ ). При візуалізації мікросвітлин, в даній серії зустрічаються еритроцити у вигляді монетних стовпчиків (рис.4). Індекс трансформації еритроцитів збільшився достовірно у 3,1 рази від показника контрольної групи ( $p < 0,001$ ).



**Рисунок 4.** Мікрофотографія еритроцитів щура зрілого віку II серії через 3 місяці експерименту, РЕМ x 2000. А-монетні стовпчики, Б-еритроцит у вигляді спущеного м'яча, В-дискоцит.

Морфометричні параметри еритроцитів як і в попередніх експериментальних групах, вірогідно змінилися в сторону зменшення діаметру на 5 % ( $p < 0,001$ ), периметру еритроцитів на 5,8 % ( $p < 0,001$ ), площі поверхні еритроцитів на 10,5 %

( $p < 0,01$ ), об'єму на 15,5 % ( $p < 0,001$ ), товщини краю на 5,7% ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з контрольними показниками. При вивченні рельєфу еритроцитів щурів при збільшенні у 30000-40000 разів визначається як гладка поверхня еритроцитів, так поверхня з поглибленнями.



**Рисунок 5.** Мікрофотографія еритроцита у вигляді "спущеного м'яча" щура зрілого віку II серії через 3 місяці експерименту, РЕМ x 20 000.

**Висновки та перспективи подальших розробок.** На експериментальному матеріалі розкриті закономірності трансформації еритроцитів та функціональних особливостей периферійної крові зрілих щурів в умовах дії техногенного мікроелементозу.

1. Вміст суміші солей важких металів (цинку, заліза, хрому, марганця, свинцю) в питній воді призводить до порушення морфологічних показників крові щурів, що були найбільш виражені у тварин експериментальної серії, які отримували солі важких металів протягом 1-го та 2-х місяців.
2. У щурів експериментальної серії, які отримували солі протягом 3-х місяців, спостерігалася тенденція до покращення окремих досліджуваних показників крові у порівнянні з показниками тварин, що отримували солі важких металів протягом 1-го та 2-х місяців. Покращення функціональних показників крові при даному терміні заправки ми вважаємо за прояв компенсаторно-адаптаційної реакції організму тварин на хронічну дію солей важких металів.
3. Зміна форми клітин червоної крові засвідчує достовірне підвищення зворотньоотформованих та незворотньоотформованих форм еритроцитів периферійної крові щурів, що отримували солі важких металів, у порівнянні з групою контролю. Виразність даних змін більше у тварин, які отримували солі важких металів протягом 1-го та 2-х місяців. Зміна отформованих клітин у бік збільшення при всіх термінах вживання важких металів більше виражена за рахунок збільшення незворотньодеформованих еритроцитів. Дезорганізація поверхневого рельєфу червоних кров'яних клітин зберігалась у всіх експериментальних серіях тварин.
4. Зміни морфометричних показників еритроцитів носять односпрямований напрям, зменшуючись у досліджуваний серії.

5. У лейкоцитарній формулі щурів експериментальної серії відмічається збільшення нейтрофільних гранулоцитів та зменшення кількості лімфоцитів при всіх термінах вживання солей важких металів.

В подальшому планується з'ясування можливості корекції виявлених змін та дослідження морфофункціональних змін крові тварин старечого віку.

## ЛІТЕРАТУРА:

1. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2006 році. – Суми : Видавництво «Джерело», 2007. – С. 8 – 21.
2. Кидалов В.Н. Трансформация и ультраструктурные изменения эритроцитов при сенсibilизации организма сывороточным белком / В.Н.Кидалов, К.К.Зайцева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 1986. – Т.11, № 7. – С. 112-114.
3. козинец Г.И. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии / козинец Г.И., Шишканова З.Г., Новодержкина Ю.К. – Москва: Триада-фарм, 2004. – 17 с.
4. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / [Авцын А.П., Жаворонков А.А., Рипп М.А., Строчкова Л.С.]. – М.: Медицина, 1991. – 456 с.
5. Монастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С. Монастирська. – Вінниця :Нова книга, 2007. – 14-35.
6. Сердюк А.М. Екологічна безпека: гігієнічний погляд через роки // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 85-річчю кафедри загальної гігієни "Збереження здоров'я населення урбанізованих територій: наукові та практичні аспекти впливу чинників довкілля". МЦ ДДМА. Дніпропетровськ - 2007. - С. 37-43.
7. Степовая Е.А. Типовые изменения эритроцитов при хроническом воспалении / Степовая Е.А. Новицкий В. В., Рязанцева Н. В., и др. ; Сибирский медицинский университет и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины : Ежемесячный международный научно-теоретический журнал / РАМН. — 2004. — Том 137, N 3. — С. 336-340.
8. Новицкий В.В. Физиология и патофизиология эритроцита / Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Томск. —Изд-во Томского ун-та. —2004. — С.200.
9. Погорелов В.М. Диагностическая значимость морфологических особенностей эритроцитов в мазках периферической крови / В.М Погорелов // Гематология и трансфузиология . 2005. —Т.50, № 5 – С.13-17.
10. Чижевский А.А. Структурный анализ движущейся крови / Чижевский А.А. – Москва: Ак. Наук СССР, 1959. – 474 с.
11. Шуляк В.Г. Достижения в области изучения влияния пестицидов на систему кроветворения / В.Г. Шуляк // Современные проблемы токсикологии.- 2002 . — №1. —С.42—53.
12. Bessis M. Deformability of normal, sharp-altered and pathological red blood cells / M.Bessis, N. Mohandas // 1975.- Vol.1, № 2.- С.315-329.
13. Investigation of blood erythrocytes morphology of pregnant women and newborn infants using the digital holographic interference microscope Tishko T.V., Titar V.P., Tishko D.N. [et al. ] // Visnik Khark. Natz, Un. Biology. —2006. — №729.— P.281—285.

Надійшла 07.12.2009 р.

Рецензент: проф. І.В.Лоскутова