

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ФОРМИРОВАНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ИНТОКСИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

*С.Н. Сушко, С.В. Гончаров\*, Н.Д. Пузан*

ГНУ Институт радиобиологии НАНБ, г. Гомель, Республика Беларусь

**РЕЗЮМЕ.** В эксперименте на мышах линии Af было изучено влияние нахождения животных в зоне отчуждения ЧАЭС в течение 60 сут на состояние кроветворной системы при последующей хронической интоксикации кадмием и медью. Хроническое облучение снижало содержание эритроцитов и гемоглобина, увеличивало массу селезенки. Поение интактных животных солями данных металлов в течение 45 сут не влияло на массу селезенки, в то время как у облученных мышей оно вызывало увеличение индекса селезенки. Прием с водой  $CdCl_2$  вызывал достоверное снижение числа эритроцитов у интактных мышей; использование  $CuSO_4$  снижало уровень эритроцитов и гемоглобина у хронически облученных животных. Нахождение в зоне отчуждения в течение 60 суток не влияло на уровень MetHb. При интоксикации металлами в течение 45 сут его повышение наблюдалось у интактных мышей и было в большей степени выражено и статистически достоверно при интоксикации медью. Экспозиция животных в зоне отчуждения, как и прием растворов  $CdCl_2$  и  $CuSO_4$ , существенно не влияли на общую и эффективную концентрации альбумина; значимое понижение этих параметров регистрировалось при совместном действии данных факторов и вызывало наибольшие нарушения транспортной системы альбумина. В эксперименте по исследованным гематологическим параметрам отмечены разноречивые эффекты комбинированного действия исследуемых экологических факторов, что может быть связано с особенностями токсикокинетики данных металлов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хроническое облучение, медь, кадмий, гемоглобин, метгемоглобин, сывороточный альбумин.

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение динамики и темпов накопления поврежденных, определяющих отдаленные последствия в условиях радиоактивного загрязнения среды, выявление дозозависимых изменений в организме является важной составляющей оценки и прогнозирования последствий аварии на ЧАЭС. Однако попытка экстраполяции этих зависимостей в реальную экологическую обстановку зачастую выявляет различие в прогнозных величинах и реальной частоте патологических процессов (Гераськин и др., 1996; Маленченко и др., 2007). Научно-технический прогресс способствовал тому, что практически все элементы периодической системы Менделеева в той или иной степени могут выступать в роли загрязнителей окружающей среды. Особую опасность представляют собой тяжелые металлы, в число которых входит более 10 элементов с большой атомной массой и относительной плотностью. Это – свинец, ртуть, кадмий, молибден, серебро, олово, медь и др. Техногенный выброс металлов меняет их соотношение в природе, вызывая искажение эволюционно-

сбалансированных состояний, что во многих случаях является причиной развития патологических состояний организма.

Радиоактивное загрязнение зоны отчуждения ЧАЭС (территория Полесского государственного радиационно-экологического заповедника – ПГРЭЗ) характеризовалось не только широким спектром радиоактивных изотопов, но сопровождалось загрязнением близлежащих территорий стабильными изотопами тяжелых металлов (Боровой и др., 1990). Это послужило основанием для использования данной территории в качестве модельной для исследований влияния радиоактивного загрязнения и микроэлементов (тяжелые металлы) на состояние живого организма и его потомства.

Кадмий и медь часто регистрируются в повышенных количествах во всех природных средах Беларуси (Логинов, 2005). Кадмий, образуя лиганды с различными белками, способен нарушать многие физиологические и метаболические процессы путем ингибирования или активации, а также непрямым воздействием на регуляторные механизмы. Его избыток в организме может приводить к уменьшению активности элементов антиоксидантной системы и формированию активных форм кислорода (Stohs et al., 2001; Shimoda et

\* Адрес для переписки:

**Гончаров Сергей Васильевич**

E-mail: combinexpo@gmail.ru

al., 2001). Исследования совместного действия ионизирующего излучения (ИИ) и солей кадмия немногочисленны и свидетельствуют о крайней вариабельности процессов, зависящих от дозы, концентрации и используемых тест-систем. Влияние избыточного количества меди так же мало исследовано в патогенетическом аспекте. Известно, что избыток меди может вызывать признаки отравления, сопровождающиеся снижением активности и биосинтеза некоторых ферментов (Авцын и др., 1991). Недостаточно информации и о сочетанных эффектах ИИ и ионов меди.

Реактивность, чувствительность, генетическая нестабильность представляют частные феноменологические проявления единого общепатологического процесса взаимодействия организма с окружающей средой и приспособления к изменившимся условиям. Недостаточность и противоречивость результатов исследований особенностей функционирования организмов в условиях повышенного радиационного фона и их реакции на действие загрязнителей среды обитания создает неопределенности в прогнозировании отдаленных последствий и механизмов их формирования.

Цель исследования – установление связи реактивности белков сыворотки крови и эритроцитов мышей после нахождения в зоне отчуждения ЧАЭС ПГРЭЗ с последующим хроническим воздействием тяжелых металлов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки влияния экспозиции мышей линии Af в зоне отчуждения ПГРЭЗ и воздействия кадмия и меди на формирование токсических эффектов их размещали на экспериментальной базе (р.т. Масаны). После двух месяцев экспозиции были сформированы следующие группы мышей (по 12 ♂): 1) контроль – постоянно находились в виварии; 2) кадмий – находились в виварии, получали с питьевой водой  $CdCl_2$  ( $Cd - 0,1$  мг/л) в течение 1,5 мес.; 3) медь – находились в виварии, затем получали с питьевой водой  $CuSO_4$  ( $Cu - 0,1$  г/л) в течение 1,5 мес.; 4) зона ЧАЭС – перемещены в

р.т. Масаны (мощность дозы – 3,3 мкГр/ч, поглощенная доза 4–5 мГр) на 2 мес., затем возвращены в виварий; 5) зона ЧАЭС + кадмий – перемещены в р.т. Масаны на 2 мес., затем вывезены в виварий, где получали с питьевой водой  $CdCl_2$  в течение 1,5 мес.; 6) зона ЧАЭС + медь – перемещены в р.т. Масаны на 2 мес., вывезены в виварий, где получали с питьевой водой  $CuSO_4$  в течение 1,5 мес.

Эксперимент осуществлен в конце июля – начале сентября. В середине сентября животных выводили из эксперимента, определяли индексы массы печени и селезенки (ИМС). Анализ сывороточного альбумина проводили в день взятия крови с помощью наборов реактивов «ЗОНД-Альбумин» на спектрофлуориметре CM 2203 Solar, определяли общую (ОКА) и эффективную концентрацию альбумина (ЭКА) (Грызунов, Добрецов, 1994). С помощью геманализатора Celltacc фирмы Nihon Kohden определяли количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит. Уровень метгемоглобина (MetHb) определяли по Evallyne-Malloy на спектрофотометре Ultrospec 110 pro «Amersham» (Кушаковский, 1968).

Статистическую обработку и анализ данных проводили в программах MS Excel, GraphPad Prism 7.0, Statistica 6.0. Отличия от контроля рассчитывали при помощи t-критерия Стьюдента, Mann-Whitney t-тест при уровне значимости  $p < 0,05$ . Коэффициент взаимодействия (Кв) рассчитывали по общепринятой методике (Кузин, 1983).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая жизненную значимость кроветворной системы, особенно важным представляется изучение ее реакции после длительного нахождения организмов в условиях повышенного радиационного фона к техногенной нагрузке, в том числе к тяжелым металлам, являющимся доминирующими загрязнителями среды. В табл. 1 представлены результаты оценки общепатологических показателей мышей линии Af при хронической интоксикации солями кадмия и меди после экспозиции в зоне отчуждения ЧАЭС.

Таблица 1. Индексы массы органов мышей, экспонированных в зоне ПГРЭЗ с последующим поступлением кадмия и меди

Группа	Индекс органов (мг/100 г массы тела)	
	Селезенка	Печень
1. Контроль	345,60 ± 32,40	4640 ± 450
2. Кадмий	348,49 ± 41,85	4870 ± 490
3. Медь	342,79 ± 42,59	4570 ± 200
4. Зона ЧАЭС	657,99 ± 155,69 *	4960 ± 370
5. Зона ЧАЭС + кадмий	431,21 ± 86,20	4420 ± 200
6. Зона ЧАЭС + медь	435,22 ± 70,03	4440 ± 300

Примечание: \* – достоверно по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

У животных, находившихся в течение двух месяцев в зоне отчуждения ЧАЭС, а затем 1,5 мес. в виварии, было отмечено увеличение ИМС. Несмотря на достаточно широкую вариабельность, величина ИМС у облученных мышей достоверно превышала соответствующие данные для контрольных животных в 1,9 раза. Введение интактным животным кадмия и меди с питьевой водой в течение 1,5 мес. не повлияло на величину ИМС, в то время как у облученных мышей, принимавших кадмий и медь с питьем, индексы были увеличены. Так, введение животным из зоны с питьевой водой Cd и Cu привело к увеличению ИМС по сравнению с группами «кадмий» и «медь» на ~ 24 и 26,5% соответственно. Индекс печени во всех группах мышей в ходе эксперимента достоверно не изменялся.

**Гематологические показатели.** Результаты определения гематологических показателей (количество эритроцитов, содержание гемоглобина и метгемоглобина и гематокрит) представлены в табл. 2.

Прием меди в течение 1,5 мес. влияния на гемоглобин и гематокрит интактных мышей не оказывал. В группах животных, экспонированных в зоне отчуждения ЧАЭС, а также при последующем введении с питьевой водой солей меди, отмечено достоверное снижение гематокрита, количества эритроцитов и гемоглобина: при обычном питье и питье раствора меди по числу эритроцитов оно оказалось ниже контрольного уровня соответственно на 36 и 21%, по содержанию гемоглобина – на 27 и 18%, по величине гематокрита – на 28 и 17,6%.

Поступление CdCl<sub>2</sub>, в отличие от CuSO<sub>4</sub>, вызывало у интактных мышей достоверное снижение числа эритроцитов на 13%, в то время как у экспонированных в зоне ПГРЭЗ эффект был менее выражен и оказался статистически недостоверным. Роль кадмия и меди в комбинированных эффектах (в сравнении с облученными мышами без нагрузки солями металлов) в этом случае не

совсем ясна: анализ данных указывает скорее на антагонистический характер взаимодействия данных факторов.

Максимально высокий уровень метгемоглобина в эксперименте отмечали у мышей, получавших раствор CuSO<sub>4</sub>, – 2,63%, что в 1,5 раза превышает данные для контрольной группы животных. Однако разность эффектов приема меди и комбинированного действия облучения и меди составила 34,6%. Нахождение в ПГРЭЗ в течение 60 сут не влияло на уровень метгемоглобина. При интоксикации солями тяжелых металлов повышение уровня метгемоглобина наблюдалось у интактных мышей через 1,5 мес. приема растворов и было в большей степени выражено и статистически достоверно при интоксикации медью. По содержанию метгемоглобина взаимодействие облучения и интоксикации металлами имеет тенденцию к антагонизму.

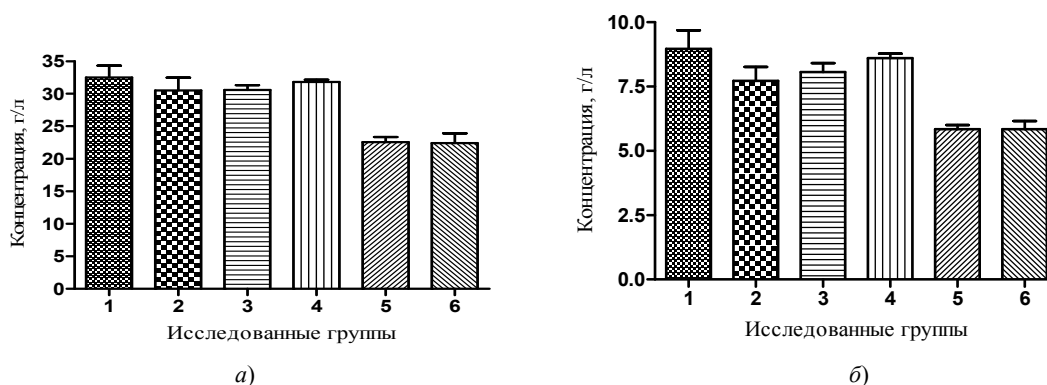
**Альбумин сыворотки крови.** При развитии патологических процессов в результате действия факторов различной природы в кровь поступает повышенное количество токсических метаболитов, повреждающих биологические структуры клеток. Повышение уровня эндотоксинов стимулирует системы организма, обеспечивающие связывание и транспорт метаболитов, что осуществляется сывороточным альбумином. В результате обмена альбуминов сосудистого и тканевого пула загруженность молекулы альбумина токсическими лигандами в той или иной степени является показателем состояния метаболических процессов всего организма и сопровождается перестройками в его молекуле, что влечет за собой изменение соотношения ОКА и ЭКА.

На рисунке приведены данные по определению показателей ОКА и ЭКА соответственно в сыворотке крови линейных мышей (самцов), которые находились в зоне ПГРЭЗ в течение двух месяцев с последующим получением растворов кадмия и меди с питьевой водой в течение 1,5 мес.

Таблица 2. Гематологические показатели мышей, экспонированных в зоне ПГРЭЗ с последующим введением солей кадмия и меди

Группа	Гематокрит, %	Эритроциты, 10 <sup>9</sup> /л	Гемоглобин, г/л	Метгемоглобин, %
1. Контроль	45,52±1,72	10,98±0,86	130,0±5,87	1,79±0,31
2. Кадмий	42,54±1,89	9,56±0,42	121,20±2,86	2,14±0,49
3. Медь	45,98±0,97	10,72±0,38	129,40±2,07	2,63±0,41
4. Зона ЧАЭС	32,68±4,62*	6,96±1,11*	94,4±11,26*	1,70±0,19
5. Зона ЧАЭС + кадмий	43,98±4,77	9,65±1,20	123,60±12,44	1,87±0,17
6. Зона ЧАЭС + медь	37,90±3,57*	8,47±0,75*	106,0±10,32*	1,72±0,13

Примечание: \* – см. табл. 1.



Значения общей концентрации альбумина (а) и эффективной концентрации альбумина (б) в сыворотке крови мышей:

1 – контроль; 2 – облучение в течение 2 мес. в зоне ППРЭЗ; 3 – прием раствора хлорида кадмия; 4 – прием раствора сульфата меди; 5 – облучение в течение 2 мес. в зоне ППРЭЗ и прием раствора хлорида кадмия; 6 – облучение в течение 2 мес. в зоне ППРЭЗ и прием раствора сульфата меди

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

экспозиция животных в зоне ППРЭЗ незначительно изменяет значения ОКА (32,52 г/л в контроле и 30,5 г/л при экспозиции в зоне) и ЭКА (8,97 г/л в контроле и 7,72 г/л после нахождения в зоне);

прием растворов  $CdCl_2$  и  $CuSO_4$  существенно не влияет на состояние альбумина; значения показателей в группе «кадмий» составляют ОКА = 30,57 г/л и ЭКА = 8,06 г/л, в группе «медь» ОКА = 31,49 г/л и ЭКА = 8,61 г/л;

у экспонированных в зоне ППРЭЗ животных, которые принимали растворы  $CdCl_2$  и  $CuSO_4$ , имеет место статистически достоверное снижение уровня содержания белка – ОКА (22,55 и 22,42 г/л) и изменение его структуры – ЭКА (5,84 и 5,84 г/л). Таким образом, максимальная степень нарушения транспортной системы животных (понижение ОКА и ЭКА) регистрировалась при совместном действии экологических факторов зоны отчуждения ЧАЭС и химических токсикантов (кадмий, медь).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненными исследованиями показано, что пребывание животных в зоне отчуждения ЧАЭС изменяет интенсивность течения метаболических процессов и повышает чувствительность животных к действию микроэлементов – Cd и Cu. Это выражается в снижении содержания эритроцитов и гемоглобина, увеличении селезенки, в более высоком снижении ЭКА в крови при интоксикации кадмием. По ряду гематологических параметров отмечены антагонистические эффекты исследуемых экологических факторов. Этот факт определяет необходимость конкретизации уровня и спектра химических загрязнителей для корректной оценки возникновения и течения патологий в этих условиях. Изменения, наступающие при дефиците или избыточном поступлении какого-ли-

бо микроэлемента, носят сложный многоплановый характер с вовлечением в компенсаторный процесс других элементов, затрудняя анализ связи между содержанием и биологическими эффектами (Рустембекова, Барабошкина, 2006).

Моделирование этого процесса в условиях ППРЭЗ необходимо при объяснении механизмов формирования экологического риска на территориях с повышенным радиационным фоном и дополнительным воздействием техногенных загрязнителей.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.

(Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S. [Human microelementoses: etiology, classification, organopathology]. Moscow, 1991 [in Russ]).

Боровой А.А., Галкин Б.Я., Крилицын А.П., Маркушев В.М., Пазухин Э.М., Херувимов А.Н., Чечеров К.П. Новообразованные продукты взаимодействия топлива с конструкционными материалами 4-го блока Чернобыльской АЭС. Сообщения 1-2. Радиохимия. 1990. Т. 32, Вып. 6, С. 103–113.

(Borovoy A.A., Galkin B.Ya., Krinitsyn A.P., Markushev V.M., Pazukhin E.M., Kheruvimov A.N., Checherov K.P. [The newly formed products of fuel reaction with structural materials in the 4<sup>th</sup> Unit of Chernobyl NPP. Communications 1-2]. Radiokhimiya. 1990, 32(6):103–113 [in Russ]).

Гераськин С.А., Дикарев В.Г., Удалова А.А., Дикарева Н.С. Влияние комбинированного действия ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов на частоту хромосомных aberrаций в листовой меристеме ярового ячменя. Генетика. 1996, Т. 32. № 2. С. 279–288.

(Geras'kin S.A., Dikarev V.G., Udalova A.A., Dikareva N.S. [Influence of combined action of ionizing radiation

and heavy metal salts on the frequency of chromosomal aberrations in leaf meristem of spring barley]. *Генетика*. 1996, 32(2):279–288 [in Russ]).

Грызунов Ю.А., Добрецов Д.Е. (ред.). Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. М., 1994.

(Gryzunov Yu.A., Dobretsov D.E. (eds.). [Serum albumin in clinical medicine]. Moscow, 1994 [in Russ]).

Кузин А.М. Проблема синергизма в радиобиологии. *Известия АН СССР. Сер. Биологическая*. 1983. №. 4. С. 485–502.

(Kuzin A.M. [The problem of synergy in radiobiology]. *Izvestiya AN SSSR. Seriya Biologicheskaya*. 1983, 4:485–502 [in Russ]).

Кушаковский М.С. Клинические формы повреждения гемоглобина. М.: Медицина. 1968. 326 с.

(Kushakovskiy M.S. [Clinical forms of hemoglobin damage]. Moscow, 1968 [in Russ]).

Логинов В.Ф. (ред.) Состояние природной среды Беларуси: экологический бюллетень 2004 Минск: Минсктиппроект, 2005. 285 с.

(Loginov V.F. (ed.). [State of the environment in Belarus: ecological bulletin 2004]. Minsk, 2005 [in Russ]).

Маленченко А.Ф., Василенко И.Я., Василенко О.И. Обмен йода и течение патологических процессов в щитовидной железе у людей в регионах зобной эндемии при поражении радиойодом. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2007. Т. 47. № 4. С. 435–443.

(Malenchenko A.F., Vasilenko I.Ya., Vasilenko O.I. [Iodine exchange and the course of pathological processes in thyroid glands of people in goiter-endemic regions under the damage by radioiodine]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2007, 47(4):435–443 [in Russ]).

Рустембекова С.А., Барабошкина Т.А. Микроэлементозы и факторы экологического риска. М., 2006. 112 с.

(Rustembekova S.A., Baraboshkina T.A. [Microelementoses and environmental risk factors]. Moscow, 1968 [in Russ]).

Stohs S.J., Bagchi D., Hassoun E., Bagch M.J. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2001, 20(2):77–80.

Shimoda R., Nagamine T., Takagi H., Mori M., Waalkes M.P. Induction of apoptosis in cells by cadmium: quantitative negative correlation between basal or induced metallothionein concentration and apoptotic rate. *Toxicol Sci*. 2001, 64:208–215.

## **FORMATION OF HEMATOLOGICAL EFFECTS IN CONDITIONS OF CHRONIC IRRADIATION AND INTOXICATION WITH HEAVY METALS**

***S.N. Sushko, S.V. Goncharov, N.D. Puzan***

The Institute of Radiobiology NASB, Fedyuninskogo str. 4, Gomel, 246007, Gomel region, Belarus

**ABSTRACT.** In an experiment on Af mice, the effects of living in the area of Chernobyl accident during 60 days on hemopoietic system with consequent chronic intoxication by copper and cadmium was studied. The chronic irradiation decreased the level of erythrocytes and hemoglobin, increased spleen mass. Watering with salts of these metals for 45 days had no effect on spleen weight in intact animals, while it caused an increase in the spleen index in irradiated mice. The use of CdCl<sub>2</sub> reduced significantly a number of erythrocytes in intact mice; CuSO<sub>4</sub> did the same (and reduced hemoglobin) in chronically irradiated animals. The 60-day exposure in the hazardous area had no effect on the level of MetHb. After intoxication by the metals within 45 days its increase was observed in intact mice, being statistically significant and more expressed after intoxication by copper. The exposure in the alienation zone, as well as reception of CdCl<sub>2</sub> and CuSO<sub>4</sub> solutions, did not significantly affected the total and effective albumin concentration; a significant decrease in these parameters was detected after combined action of these factors and caused the most violent disorders of the albumin transport system. In the experiment for the studied hematological parameters, the effects of the combined action of the ecological factors were contradictory; this may be due to the toxicokinetics of these metals.

**KEYWORDS:** chronic irradiation, copper, cadmium, hemoglobin, methemoglobin, serum albumin.