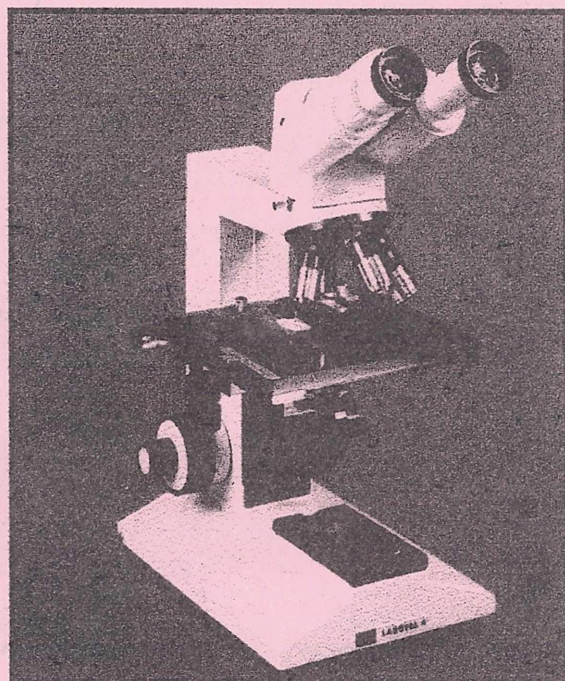

УКРАЇНЬСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ
УКРАЇНЬСЬКА АКАДЕМІЯ НАУК НАЦІОНАЛЬНОГО ПРОГРЕСУ

ВІСНИК ПРОБЛЕМ БІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНИ



3

ПОЛТАВА-2001

УДК: 612.1+612.419:615.916'1

ВПЛИВ ПЕПТИДНИХ ФРАГМЕНТІВ ГЕМОГЛОБІНУ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ І КІСТКОВОГО МОЗКУ ЗА УМОВ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

ЗАПОРОЖЕЦЬ Т.М.

Останнім часом в біології та медицині велику увагу приділяють класу біологічно активних речовин поліпептидної природи. Виявлялося, що низькомолекулярні поліпептидні комплекси мають регуляторну дію на рівні спеціалізованих клітин [6], підтримують структурний та функціональний гомеостаз клітинних популяцій при експериментальних інтоксикаціях фторідом натрію, тетрахлорметаном, етиленгліколем [3]. Внутрішньоеритроцитарні фрагменти гемоглобіну здатні стимулювати проліферацію трансформованих клітин *in vitro* [7]. Біологічна активність фрагментів гемоглобіну при інтоксикаціях потребує досліджень.

Солі свинцю мають певну тропність до системи крові: скорочують життя еритроцитів, гальмують синтези гему (блокуючи порфобіліногенсинтетазу - дельта-амінолевулінатдегідратазу) та α -ланцюгів гемоглобіну [1]. Крім того, іон свинцю викликає ушкодження рибосом з наступною їх аглютинацією, має можливість зв'язуватися з білками мембран клітин. [9]. Тому перед фізіологією і медициною стоїть комплекс задач подальшого поглибленого вивчення корекції впливу солей свинцю на організм людини.

Метою роботи було дослідження впливу пептидних комплексів, отриманих з гемоглобіну, на стан показників кісткового мозку та периферичної крові при свинцевій інтоксикації.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведені на 29 мурчаків обох статей масою 400-420 г. Тварин поділили на три групи: інтактну (10), контрольну (9), дослідну (10). Мурчаки контрольної групи отримували *per os* 4% розчин ацетату свинцю з розрахунку

60 мг/кг маси тіла на добу на протязі 27 днів, а в останні 7 діб їм внутрішньом'язово вводили 0,2 мл 0,9% апірогенного розчину хлориду натрію. Мурчаки дослідної групи також отримували 27 днів ацетат свинцю в дозі 60 мг/кг маси тіла на добу, а в останні 7 днів інтоксикації їм внутрішньом'язово вводили пептидний комплекс добутий з гемоглобіну людини, у дозі 1 мг/кг маси тіла на добу у 0,2 мл фізіологічного розчину.

Пептидні фрагменти гемоглобіну були отримані шляхом ферментативного гідролізу (метод патентується). Вибір дози препарату був аналогічний іншим органоспецифічним пептидним комплексам [3]. При виборі дози ацетату свинцю виходили з того, що мурчаки середньостійкі до сатурнізму [2].

Загальний клінічний аналіз крові проводили за Романовським-Гимза, мазки пунктату кісткового мозку забарвлювали за Паппенгеймом [4]. Визначення вмісту гемоглобіну проводили уніфікованим гемоглобінціанідним методом, концентрацію метгемоглобіну в крові визначали спектрофотометричним методом [5]. Цитохімічне дослідження еритроцитів мазків крові для виявлення сидероцитів проводили за допомогою реакції на берлінську лазур [5]. Гемолітичну резистентність еритроцитів вивчали за методом Гітельсона І.І. і Терскова І.А. [4]. Визначення копропорфірину в сечі проводили уніфікованим методом [8].

Отримані цифрові дані аналізували за допомогою персонального комп'ютера з використанням системи керування базами даних і статичною програмою Microsoft Excel для Windows 95.

Результати дослідження. Розвиток хронічної інтоксикації (експериментального сату-

рнізму) супроводжувався зниженням маси тварин на 20%, втратою апетиту, випадінням шерсті з боків. На 18-у добу після початку введення розчину ацетату свинцю рівень гемоглобіну у тварин знизився від 106,0 г/л у нормі, до 60,0 г/л, кількість еритроцитів знизилась відповідно з $5,3 \times 10^{12}/л$ до $3,6 \times 10^{12}/л$, загинуло 10% тварин. В розвитку свинцевої інтоксикації ведуче місце належить порушенням біосинтезу порфіринів та гему [11]. Вивчення стану порфіринового обміну під впливом свинцю виявило збільшення вмісту копропорфірину в сечі (з 0,18 нмоль/л у інтактних тварин до 0,67 нмоль/л у контролі, $p < 0,05$) і накопичення в еритроцитах невикористаного заліза. Порушення утилізації останнього приводило до появи сидероцитів. Про ступінь свинцевої

інтоксикації в контрольній групі тварин судили також по змінам показників периферичної крові.

У тварин, які одержували розчин оцтового кислото свинцю, в крові були знайдені еритроцити з базофільною зернистістю, кількість сидероцитів зростала до 3,9% (0,35% у інтактних тварин), відмічались гіпохромія, поліхроматофілія, макроцитоз.

У крові контрольних тварин (табл.1) знижувався рівень гемоглобіну та кольоровий показник, зростали вміст метгемоглобіну в еритроцитах на 56%, швидкість зсідання еритроцитів у 2,3 рази, кількість лейкоцитів за рахунок сегментоядерних нейтрофілів у 2,8 разів, зменшувалось число лімфоцитів на 16%.

Таблиця 1

Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на гематологічні показники периферичної крові у мурчаків за умов інтоксикації свинцем

Гематологічні показники периферичної крові	Інтактні тварини (n=10)	Контрольні тварини (n=9)	Дослідні тварини (n=10)
Кількість еритроцитів $\times 10^{12}/л$	$5,29 \pm 0,18$	$5,81 \pm 0,03$	$5,35 \pm 0,29$
Гемоглобін, г/л	$106,49 \pm 0,67$	$89,97 \pm 0,98 *$	$87,18 \pm 3,31$
Метгемоглобін г/л	$0,09 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,04 *$	$0,14 \pm 0,01$
Кольоровий показник	$0,70 \pm 0,04$	$0,49 \pm 0,01 *$	$0,51 \pm 0,04$
ШОЕ, мм/год	$1,35 \pm 0,09$	$3,10 \pm 0,06 *$	$2,73 \pm 0,21$
Сидероцити, %	$0,38 \pm 0,08$	$3,90 \pm 0,07 *$	$0,36 \pm 0,07 **$
Кількість лейкоцитів $\times 10^9/л$	$5,2 \pm 0,14$	$5,8 \pm 0,17$	$4,8 \pm 0,20$
Лейкоцитарна формула:			
паличкоядерні нейтрофіли, %	$0,50 \pm 0,26$	$1,00 \pm 0,45$	$0,50 \pm 0,26$
сегментоядерні нейтрофіли, %	$8,00 \pm 0,82$	$22,50 \pm 2,08 *$	$40,00 \pm 5,16 **$
еозинофіли, %	$3,50 \pm 1,06$	$2,25 \pm 0,85$	$8,50 \pm 0,58 **$
лімфоцити, %	$81,40 \pm 0,81$	$68,20 \pm 3,71 *$	$47,50 \pm 6,26 **$
моноцити, %	$3,60 \pm 0,81$	$3,00 \pm 0,63$	$2,25 \pm 0,22$

Примітка: в цій та табл.2, * - $p < 0,05$ у порівнянні з інтактними тваринами

** - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Розвиток свинцевої інтоксикації супроводжувався змінами стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу. Так, вірогідно збільшувалась кількість зруйнованих еритроцитів (з 29,0% у інтактних тварин до 57,8% у контрольній групі), загальна тривалість процесу гемоліза зменшувалась з 4,22 до 3,00 хв., час руйнування найбільш стійких форм еритроцитів скорочувався з 3,8 до 2,4 хвилин. Ці зміни еритрограми відображали появу в крові нестійких еритроцитів до солянокислого гемолі-

тика, з переважанням старих клітин, що може свідчити про зниження процесів проліферації клітин в кістковому мозку.

Тварини, яким вводили внутрішньом'язово пептидні фрагменти гемоглобіну на фоні інтоксикації іоном свинцю, суттєво відрізнялись від контрольних - підвищилась маса тіла на 14%, припинилось випадіння шерсті, рівень копропорфірину в сечі суттєво знизився (до 0,06 нмоль/л. В крові переважали монохромні нормоцити, були відсутні еритроцити з базо-

фільною зернистістю, вміст сидероцитів знижувався (табл.1).

Введення пептидних фрагментів гемоглобіну на фоні хронічної інтоксикації свинцем, вірогідно збільшувало загальну тривалість процесу гемоліза та час руйнування найбільш стійких форм еритроцитів (до 5,1 хвилини та 4,4 хвилини відповідно), зменшувало кількість зруйнованих еритроцитів до 34%. Ці зміни вказували на вихід в судинне русло з кісткового мозку молодих зрілих еритроцитів.

Добре відомо, що одним з головних симптомів свинцевої інтоксикації є анемія, яка

обумовлена токсичною дією свинцю на кістковий мозок. Дослідження пунктату кісткового мозку (табл.2) тварин, яким вводили розчин оцтовокислого свинцю, виявило зростання в 4 рази ($p < 0,01$) еритробластів зі зниженням базофільних і поліхроматофільних нормобластів у 4,52 рази та 1,69 рази відповідно та зменшенням кількості мегакаріоцитів. В мієлоїдному ростку відмічалось зростання паличкоядерних нейтрофілів на 29%, еозінофілів на 74%, лімфоцитів у 3 рази та зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 30%.

Таблиця 2

Вплив пептидних фрагментів гемоглобіну на показники кісткомозкового пунктату мурчаків за умов інтоксикації свинцем

Показники	Інтактні тварини (n=10)	Контрольні тварини (n=9)	Дослідні тварини (n=10)
Бластні клітини, %	6,40±1,29	6,0±1,0	6,40±1,36
Нейтрофільні:			
промієлоцити, %	2,00 ± 0,45	1,60 ± 0,40	1,00 ± 0,37
мієлоцити, %	11,20 ± 0,86	15,00 ± 1,52	11,60 ± 1,29
метамієлоцити, %	12,20 ± 0,97	11,00 ± 1,00	12,40 ± 1,03
паличкоядерні, %	19,40 ± 1,86	25,20 ± 0,73 *	15,20 ± 1,83 **
сегментоядерні, %	27,50 ± 1,26	19,60 ± 1,81 *	20,20 ± 1,98
Еозінофіли, %	5,40 ± 0,93	9,40 ± 0,51 *	11,20 ± 2,63
Лімфоцити, %	1,80 ± 0,58	6,00 ± 0,71 *	8,60 ± 0,40
Моноцити, %	2,00 ± 0,37	2,60 ± 0,51	1,33 ± 0,26
Еритробласти, %	0,20 ± 0,09	0,80 ± 0,12 *	1,20 ± 0,37
Пронормобласти %	0,53 ± 0,16	0,71 ± 0,14	1,40 ± 0,24 **
Нормобласти:			
базофільні, %	1,13 ± 0,11	0,25 ± 0,22 *	2,10 ± 0,64 **
поліхроматофільні %	2,20 ± 0,80	0,13 ± 0,11 *	4,20 ± 1,89 *
Плазматичні клітини, %	1,50 ± 0,26	1,25 ± 0,22	1,00 ± 0,45
Мегакаріоцити, %	6,42 ± 0,48	0,46 ± 0,09 *	2,17 ± 0,34 *

Введення пептидного комплексу гемоглобіну дослідним тваринам приводило до гіперплазії еритробластичної тканини за рахунок базофільних і поліхроматофільних нормобластів. Вміст мегакаріоцитів зростав у 4,7 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем. В мієлоїдному ростку залишався високий рівень мієлоцитів, еозінофілів та лімфоцитів, знижувалось до норми число паличкоядерних нейтрофілів.

Підсумки. Отже, в умовах хронічної інтоксикації свинцем відбувались зміни морфологічної картини крові та кісткового мозку, які

полягали в порушенні процесів проліферації та диференціровки клітин. Свинець безпосередньо впливав на стан еритропоезу, порушуючи морфофункціональні структури еритробластів та зрілих форм, збільшуючи кількість еритроцитів з базофільною зернистістю. Пептидний комплекс одержаний з гемоглобіну людини сприяв відновленню морфологічної картини крові, посиленню процесів проліферації в еритробластичній тканині кісткового мозку, появі в судинному руслі молодих еритроцитів, що вказувало на стимуляцію еритропоезу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. - Москва: Медицина, 1991. - 496 с.

2. Вредные вещества в промышленности. - Т.3. - Ленинград: Химия, 1977. - 608 с.

3. Катрушов О.В. Використання органоспецифічних поліпептидних препаратів для експериментальної терапії патологій, викликаних пошкоджуючими факторами навколишнього середовища / Автореф. дис... д.м.н. - Київ, 1995. - 38 с.

4. Козловская Л.В., Мартынова М.А. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. - Москва: Медицина, 1975. - 351 с.

5. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред В.В.Меньшикова. - Москва:

Медицина, 1987. - С.140-145.

6. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). - СПб, 1996. - 71 с.

7. Пивник А.В., Моисеева Т.Н., Карпова И.В. Изменения внутриэритроцитарного протеолиза гемоглобина при онкологических заболеваниях // Гематол. и трансфузиол. - 2000. - №4. - С.14-18.

8. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині // Під ред. І.П. Кайдашева. - Полтава, 1997. - 271 с. 9.

9. Giulivi C., Cadenas E. Heme protein radicals: formation, fate, and biological consequences // Free Radical Biology and Medicine. - 1998. - V.24, №3. - P.401-407.

Українська медична
стоматологічна академія, м. Полтава

Стаття надійшла
10.01.2001 р.

УДК: 612.1+612.419:615.916'1

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ ГЕМОГЛОБИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

ЗАПОРОЖЕЦ Т.Н.

Исследовали показатели костного мозга и периферической крови при хронической свинцовой интоксикации. Выявили нарушение процессов пролиферации и дифференцировки клеток костного мозга (увеличение палочкоядерных нейтрофилов на 29%, эозинофилов на 74%, снижение базофильных и полихроматофильных нормобластов в 4,5 раза). В периферической крови снижался уровень гемоглобина, цветной показатель, возрастала скорость оседания эритроцитов в 2,3 раза.

Пептидный комплекс, полученный из ге-

моглобина, способствовал восстановлению морфологической картины крови, увеличивал содержание пронормобластов в 1,97 раза, базофильных нормобластов в 8,4 раза.

Таким образом, введение комплекса пептидных фрагментов гемоглобина животным в условиях свинцовой интоксикации корректировало клеточность костного мозга и показатели периферической крови.

Ключевые слова: свинцовая интоксикация, пептидные фрагменты гемоглобина, система крови.

UDC: 612.1+612.419:615.916'1

THE INFLUENCE OF HAEMOGLOBINE PEPTIDE FRAGMENTS UPON THE DATA OF PERIPHERAL BLOOD AND MEDULLA IN THE CONDITIONS OF SATURNIUS INTOXICATION

T.N.ZAPOROZHETS

The data of medulla and peripheral blood chronic saturnius intoxication were researched. Our work shows the bone-marrow cells proliferation processes disturbance (rod neutrophil increase 29%, eosinophil increase 74%, basophil and polychromatophil decreasing 4,5 times). In the peripheral blood the haemoglobin level coloured index were reduced. The erythrocyte sedimentation rate rising was 2,3 times. The peptide complex received from the

haemoglobine favoured the blood morphology restoration increased the pronormoblast content in 1,97 times, basophil normoblast in 8,4 times.

Thus, the haemoglobine peptide complex application to the animals under the led intoxication condition corrected the bone-marrow cell quantity and the peripheral blood indexes.

Key words: saturnius intoxication, hemoglobine peptide fragments, blood.

УДК 616 – 005.2 – 001.28:615.272.4

СТАН ПОШУКОВО-ДОСЛІДНИЦЬКОЇ ПОВЕДІНКИ, ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І ГЕМОСТАЗУ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ТОТАЛЬНОГО γ -ОПРОМІНЕННЯ

ЛИТВИНЕНКО Н.В.

(Стаття представлена д.м.н., професором Грицай Н.М.)

Проблема неврологічних ефектів іонізуючого випромінювання в теперішній час залишається дискусійною. Численні роботи, присвячені цій проблемі, вказують на зміни нейрофізіологічних процесів при впливі як високих, так і малих доз радіації [7, 11]. Клінічні та експериментальні дані свідчать як про активацію перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в крові та мозку, так і про зниження рівня пероксидації після опромінення [6, 8, 9, 10]. Такі розбіжності існують і в напрямку оцінки стану системи гемостазу у віддаленому після опромінення періоді [2, 3, 5]. Наведені дані стосуються досить великого діапазону доз та тривалості опромінення, що не відповідає радіаційним характеристикам тих порушень, які розвилися у постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи.

Метою роботи було дослідження пошуково-дослідницької поведінки та показників

стану перекисного окислення ліпідів і гемостазу у щурів при загальному γ -опроміненні.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на 38 статевозрілих щурів-самцях популяції Wistar 9-місячного віку вагою 150-160 г. Тварини утримувались у виварію в стандартних умовах. Для моделювання радіаційних пошкоджень, які розвилися у ліквідаторів наслідків аварії на Чорнобильській атомній електростанції, в експерименті нами була обрана доза випромінювання 0,5 Гр. Тотальне опромінення 38 щурів в сумарній дозі 0,5 Гр проведено від джерела ^{60}Co телегаматерапевтичної установки "Агат - Р1" на протязі 7 днів фракційно по 0,07 Гр за сеанс при потужності дози $27,6 \text{ Р}\cdot\text{хв}^{-1}$, відстані від джерела опромінення 1 м, часу опромінення – 16 с. Інтактну групу тварин склали 8 щурів-самців відповідного віку. Для оцінки пошуково-дослідницької поведінки інтактних і опро-