5. Xu S., Ilyas I., Little P. J., Li H., Kamato D., Zheng X., Luo S., Li Z., Liu P., Han J., Harding I. C., Ebong E. E., Cameron S. J., Stewart A. G., Weng J. Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: from mechanism to pharmacotherapies // Pharmacol Rev. 2021. Jul; 73(3): 924-967. Doi: 10.1124/pharmrev.120.000096. PMID: 34088867.

Сравнительный анализ тяжелых металлов по способности увеличивать мембранную проницаемость эритроцита

Проценко Д.И.
Медицинский университет «Реавиз»
Научный руководитель — к.б.н., доцент Антипов Е.В.

Тяжелые металлы, проникающие в организм человека с питьевой водой или при вдыхании загрязненного выбросами воздуха, способствуют повреждению клеточных мембран, инициируя процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов, под воздействием которых может изменяться осмотическая резистентность. Цель: оценить влияние солей бария, марганца и стронция на осмотическую резистентность эритроцитов.

Материалы и методы: объектом исследования служила суспензия отмытых эритроцитов. В опытных пробах, содержащих 10 мМ растворы солей бария, марганца и стронция, находилось 0,01 мл суспензии эритроцитов, 5 мл 0,5% (или 0,9%) растворов хлорида натрия. После инкубации (37оС, 30 мин) измеряли оптическую плотность растворов (540 нм) на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ. Количество клеток, подвергшихся гемолизу, определяли в процентах по отношению к полному гемолизу. Результаты: установлено, что в пробах, содержащих физиологический раствор хлорида натрия, при добавлении 10 мМ раствора бария количество гемолизированных клеток возрастало в 9,6 раз, с марганцем в 2,4 раза, со стронцием – в 8 раз по сравнению с контролем. В пробах с гипотоническим раствором хлорида натрия количество гемолизированных клеток через 30 мин инкубации достигало 90% в пробах с барием, 52% с марганцем, 97% со стронцием. Сравнительный анализ воздействия тяжелых металлов на осмотическую резистентность эритроцитов in vitro показал, что наибольшим гемолизирующим действием обладают соли бария, а наименьшим – соли марганца. Полученные данные свидетельствуют о повреждающем влиянии солей тяжелых металлов на эритроциты, характеризующимся ухудшением свойств эритроцитарной мембраны вследствие инициации процессов перекисного окисления липидов в ней.

Ключевые слова: эритроциты; свободнорадикальное окисление; тяжелые металлы; осмотическая резистентность

Под воздействием активных кислородных метаболитов экзогенного и эндогенного происхождения, а также химических ксенобиотиков в клетках развивается состояние окислительного стресса, при котором нарушается равновесие между прооксидантами и антиоксидантными системами защиты клетки. Окислительный стресс является этиологическим фактором развития многих хронических заболеваний. В плазматической мембране инициируется процесс перекисного окисления липидов, нарушается работа антиоксидантных ферментов, следствием чего является нарушение целостности плазмалеммы, образование в ней пор, изменение мембранного потенциала, возникновение дисбаланса ионов по обе стороны от мембраны. В результате в клетке могут возникнуть необратимые изменения, приводящие к ее гибели. Особенно подвержена повреждению свободными радикалами и разнообразными химическими агентами эритроцитарная мембрана. Окислительный стресс может развиваться в эритроцитах при их длительном хранении и приводит к разнообразным биохимическим и морфологическим последствиям: изменяется осмотическая резистентность, уменьшаются функциональные свойства, возрастает содержание окисленных форм гемоглобина, окислительная модификация протеинов,

образование олигопептидов средней молекулярной массы. Осмотическая резистентность эритроцитов отражает их способность противостоять агрессивным внешним и внутренним факторам окружающей среды. Этот показатель может уменьшаться при старении.

Эритроцитарные мембраны обладают особенной уязвимостью к воздействию тяжелых металлов. При хроническом накоплении в организме тяжелых может изменяться осмотическая резистентность эритроцитов и накапливаться окисленные формы гемоглобина. Все эти процессы приводят к истощению энергии, повреждению эритроцитов, развитию патологических состояний в кровеносной системе с развитием патологического внутрисосудистого гемолиза. При гемолизе происходит выход гемоглобина через разрушенную эритроцитарную мембрану, что может являться важным критерием при оценке резистентности мембраны [1-5].

Цель работы: оценить влияние солей бария, стронция и марганца на осмотическую резистентность эритроцитов и образование в них метгемоглобина.

Материалы и методы исследования: объектом исследования служила цельная донорская кровь. Суспензию отмытых эритроцитов получали путем центрифугирования в режиме 3000 оборотов в минуту продолжительностью 10 минут. Затем плазму и лейкоцитарную пленку удаляли, после чего эритроциты дополнительно два раза промывали физиологическим раствором хлорида натрия.

Для определения осмотической резистентности эритроцитов готовили серию проб. В опытных пробах находилось 0,01 мл суспензии эритроцитов, 5 мл 0,5% (или 0,9%) растворов хлорида натрия и 5 мл раствора соли тяжелого металла. Концентрация соли металла составляла 10 мМ. Пробы инкубировали в термостате при стандартных условиях (температура 37оС) продолжительностью 30 минут. После инкубации на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ измеряли оптическую плотность растворов на длине волны 540 нм. Количество клеток, подвергшихся гемолизу, рассчитывали в процентах по отношению к полному гемолизу, вызванному 0,1% раствором карбоната натрия. В качестве контроля использовали пробы, не содержащие металл. Опыты проводили со следующими солями: хлорид бария, хлорид марганца и нитрат стронция [6].

Результаты исследования. В результате проведенного исследования установлено, что в пробах, содержащих физиологический раствор хлорида натрия, при добавлении 10 мМ раствора бария количество гемолизированных клеток возрастало в 9,6 раз, в пробах с стронция – в 8, с марганцем в 2,4 раз по сравнению с контролем (табл. 1).

В пробах с гипотоническим раствором хлорида натрия количество гемолизированных клеток через 30 мин инкубации достигало 90% в пробах с барием, 97% со стронцием, с марганцем 52%, со свинцом и железом – 100%, что соответствовало контрольным значениям. Таким образом, в гипотоническом растворе хлорида натрия изучаемые металлы обладают сходным действием, кроме марганца, вызывая практически 100% гемолиз через полчаса инкубации.

При добавлении 10 мМ раствора свинца количество гемолизированных клеток в физиологическом растворе хлорида натрия возрастало в 9,6 раз, в пробах с барием – также в 9,6, с железом – в 8,9 раз, с марганцем – в 2,3 раза, со стронцием – в 8 раз по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Количество гемолизированных клеток после воздействия тяжелых металлов, %

	Контроль	Pb^{2+}	Ba^{2+}	Fe^{2+}	Mn^{2+}	Sr^{2+}
0,5% NaCl	97,9	100	90	100	52	97
0,9% NaCl	7,6	73	73	68	18	61

Осмотическая устойчивость эритроцитов характеризует их резистентность к гипотоническим растворам хлорида натрия.

Тяжелые металлы и их органические и неорганические соли относятся к одним из самых высокотоксичных ксенобиотиков, которые способны взаимодействовать с биологическими мембранами клеток и оказывать на них разрушающее действие. Они проникают в организм человека при вдыхании выбросов промышленных предприятий, выхлопных газов автомобилей, компонентов табачного дыма. В процессе окислительного стресса усиливается окисление ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов эритроцитарной мембраны, следствием чего является гемолиз эритроцитов.

Источниками поступления свинца в атмосферу являются примеси к бензину (антидетонатор – тетраэтилсвинец), а также водопроводная система, в которой обязательным компонентом служит латунь. В состав латуни, кроме меди и цинка, зачастую входят такие металлы, как свинец, алюминий, олово, железо, никель и марганец). Основным путем проникновения свинца в организм человека является питье воды. Тетраэтилсвинец способен оказывать нейротоксическое влияние, проявляющееся, например, в нарушении пластического обмена. Имеются данные об усилениях процесса перекисного окисления липидов биологических мембран под воздействием свинца. Это сопровождается ингибированием ферментов антиоксидантной защиты клетки – супероксиддисмутазы, каталазы, различных видов пероксидаз. Полученные в результате исследования результаты подтверждают литературные данные о снижении осмотической резистентности эритроцитов с развитием неконтролируемого гемолиза в сосудистом русле при отравлении свинцом и его производными [5,6].

Барий входит в состав средств для удаления сульфат-ионов из масел, содержится в смазках, используется при производстве бумаги, компьютерных мониторов, глазурей. Большинство солей бария, кроме сульфата, являются токсичными и имеют свойство накапливаться в печени, легких и селезенке. Этот металл способен пролонгировать процесс стимуляции мышечного сокращения. Соли бария не всасываются в желудочно-кишечном тракте. Первые симптомы отравления при употреблении внутрь развиваются уже после первых двух часов после еды. Барий обладает нейротоксическим действием, проявляющимся в блокаде передачи нервных импульсов, а также способен вызывать заболевания нервной (параличи, нарушение рефлексов) и кровеносной систем (аритмии, гипертонии), а также респираторные (остановка дыхания) и метаболические (гипокалиемия) симптомы. Токсичными дозами для организма считаются 0,2-0,5 г [7].

Источником поступления стронция являются металлургические предприятия, производство аккумуляторов, холодильная промышленность, а также медицина и косметические средства. Он способен оказывать общетоксическое действие на организм человека и является нервным и мышечным ядом. В организме стронций находится в конкурентных отношениях с кальцием и приводит к развитию стронциевого рахита (уровская болезнь), который характеризуется повышенной ломкостью и уродливостью костей, деформацией суставов. Попадание солей стронция в организм оказывает местно-анестезирующее действие, вызывает желудочно-кишечные расстройства. Накопление соединений стронция в воде (в том числе и радиоактивного) приводит к увеличению заболеваемости болезнями кроветворной системы, костно-мышечного аппарата, раком [8].

Источниками поступления марганца в организм человека является производство стали, стекла, электросварочная мелкодисперсная пыль, а также сельское хозяйство. Он почти не выводится из организма, всасывается на протяжении всей тонкой кишки, способен быстро покидать кровяное русло, может забивать каналы нервных клеток и снижать проводимость нервного импульса. В тканях марганец депонируется в митохондриях клеток, накапливается в

костях, печени, головном мозге паренхиматозных органах, таких как поджелудочная железа. Отравление марганцем очень сложно поддается диагностике. К основным клиническим симптомам относятся усталость, депрессии, подавленные состояния, головные боли, головокружение, тремор верхних конечностей, повышается тонус мышц [9].

Источниками железа могут являться промышленные зоны, например, районы металлургических заводов, химических, нефтехимических, химико-фармацевтических производств. В организм человека также железо может поступить из продуктов, которые длительно хранились в луженых флягах. От валентности железа зависит его токсическое действие. Ионы двухвалентного железа являются мощными инициаторами процесса перекисного окисления липидов биологических мембран, в том числе мембран эритроцитов и митохондриальных мембран. Трехвалентное железо обладает прижигающим действием на желудочно-кишечный тракт, может вызвать рвоту. При нанесении на поверхность кожи оказывает сенсибилизирующее воздействие. Имеются данные о том, что инкубация эритроцитов в среде Фентона, содержащая ионы двухвалентного железа и пероксид водорода в кислой среде, повышает содержание в гемолизате эритроцитов продуктов перекисного окисления липидов – альдегидов и кетонов, а также увеличивает окислительную модификацию белков [2].

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что воздействие ионов тяжелых металлов приводит к увеличению проницаемости эритроцитарной мембраны. Изучение данного показателя, оценивающего физико-химические свойства мембраны эритроцитов, может эффективно использоваться для изучения влияния тяжелых металлов на организм [4].

Выводы:

1. Установлено, что в изотоническом растворе хлорида натрия наибольшим повреждающим действием на эритроцитарную мембрану обладают свинец и барий, а наименьшим – марганец. В гипотоническом растворе хлорида натрия изучаемые металлы обладают сходным действием, кроме марганца, вызывая практически 100% гемолиз через полчаса инкубации.

2. Полученные данные свидетельствуют о повреждающем влиянии солей тяжелых металлов на эритроциты, характеризующимся ухудшением осмотических свойств эритроцитарной мембраны вследствие инициации процессов перекисного окисления липидов в ней.

Список литературы

1. Li S., Zhang L., Yuan H., Yang L., Song F., Liu H., Wei C., Ding H., Ma Q., Su Y. Влияние низкой концентрации мелатонина на качество хранимых эритроцитов in vitro // Гематология и трансфузиология. 2022. № 67(1). С. 62-73.

2. Коношенко С. В., Большакова А. А., Елкина Н. М., Казакова В. В., Загноенко Н. Е. Роль температурного фактора в окислительной модификации белков и метгемоглобинообразования в эритроцитах в условиях развития окислительного стресса // Ученые записки Крымского федерального университета В. И. Вернадского. Биология. Химия. 2019. №4. С. 33-40.

3. Коношенко С. В., Елкина Н. М., Большакова А. А. Показатели деструктивных процессов в эритроцитах в условиях моделирования окислительного стресса in vitro // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. 2021. №2. С. 87-94.

4. Вельш О. А., Филончикова Е. С., Сизенцов Я. А. // Теория и практика приоритетных научных исследований: Сборник научных трудов по материалам VII Международной научно-практической конференции, Смоленск, 27 мая 2019 года. – Смоленск: Международный научно-информационный центр «Наукосфера». 2019. С. 9-14.

5. Голубева, М. Г. Осмотическая резистентность эритроцитов, методы определения и коррекции, значение при различных патологиях / М. Г. Голубева // Успехи современной биологии. 2019. Т. 139. № 5. С. 446-456.

6. Аралбаева А.Н., Маматаева А.Т., Утегалиева Р.С., Мурзахметова М.К. Сравнительное изучение влияния тяжелых металлов на резистентность мембран эритроцитов в условиях in vitro // Experimental Biology. №3 (80). 2019. С. 182-191.

7. Стопницкий А.А., Акалаев Р.Н., Хаджибаев А.М. Особенности клинического течения, диагностики и интенсивной терапии острых отравлений барием // НМП. 2021. №4. С. 818-823.
8. Фролов В.К., Полунина А.А., Волчкова А.А. Влияние концентрации стронция в питьевой воде на формирование патологий у детей 0-14 лет в тульской области // Universum: медицина и фармакология. 2023. №12 (104). С. 22-25.
9. Шендакова Т. А. Повышение безопасности труда при сварочных работах в АПК // Вестник техносферной безопасности и сельского развития. 2023. №3 (34). С. 4-9.

В механизме возникновении фибрилляции желудочков сердца ведущее место занимает Na-Ca обмен

Романькова Т.А., Крюкова А.А., Мякиева А.В., Алабовский А. В.
Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко
Научные руководители: д.м.н., проф. Алабовский В.В., к.м.н. Винокуров А.А.

Роль кальция в возникновении фибрилляции желудочков сердца общеизвестна. Главную роль в этой патологии отводят медленным кальциевым каналам, которые способны повышать внутриклеточную концентрацию ионов кальция и, тем самым, вызывать осцилляции мембранного потенциала

Однако имеются сведения об участии Na-Ca обмена, в возникновении аритмии. Вопрос о преимущественном участии этих двух разных механизмов в возникновении фибрилляции остается пока не выясненным. В связи с этим, задачей настоящего исследования явилось установление ведущей роли одного из двух патогенетических процессов.

В экспериментах, на изолированных сердцах белых крыс, активировали поток ионов кальция внутрь кардиомиоцитов с помощью Na-Ca обмена. При этом возникала фибрилляция желудочков сердца. После добавления в перфузионную среду селективного ингибитора медленных кальциевых каналов (изоптина) наблюдалось значительное (на 70%) снижение амплитуды сокращений сердца.

Однако присутствие ингибитора не предупреждало возникновение фибрилляции желудочков сердца. Она появлялась в 100 % опытов.

Исходя из полученных экспериментальных данных был сделан вывод о ведущей роли Na-Ca обменного механизма в патогенезе возникновения фибрилляции желудочков сердца.

Ключевые слова: Na-Ca обмен; перегрузка сердца кальцием; фибрилляция желудочков сердца; ингибиторы кальциевых каналов

Внезапная смерть при инфаркте миокарда, чаще всего, возникает от фибрилляции желудочков сердца. Патогенез ее развития сложен и поэтому возникло множество предположений о причине внезапного появления аритмии.

Одна из теорий ее возникновения, основана на свойстве внутриклеточного кальция инициировать осцилляции мембранного потенциала (повторные ответы) в кардиомиоцитах. При этом, высокочастотные потенциалы действия могут служить очагом триггерного влияния на миокард, вследствие чего развивается фибрилляция [1].

На наш взгляд более привлекательным механизмом ее возникновения является теория, предложенная группой авторов, в которой основным условием развития электрического хаоса в сердечной мышце является быстро нарастающая гетерогенность (неоднородность) электрофизиологического состояния отдельных кардиомиоцитов сердца [2]. Вследствие этого, фронт возбуждения, протекая по миокарду, разбивается на фрагменты, причем каждый участок становится очагом неконтролируемого возбуждения сердца.

Однако рассмотрение второго механизма требует ответа о причине нарастания избыточного количества кальция без участия селективных кальциевых каналов.