

УДК 616-008-9:613.644]-092.9

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ МЕДИ И ЦИНКА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ЛИМФЕ У КРЫС ПРИ ВИБРАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ, В РАННИЙ И ПОЗДНИЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ

С.В. БОБРОВА, Е.В. КИРИЧЕНКО, Ю.В. НАЧАРОВ, Е.Н. САМСОНОВА*

Современная медицина труда стоит перед проблемой индивидуального подхода к лицам, подвергающимся в процессе трудовой деятельности воздействию вредных факторов производственной среды, поэтому оценка и изучение течения адаптивных реакций в организме работающего человека, методов и способов адекватной терапевтической коррекции возникающих патологических сдвигов представляет все более возрастающий интерес. Внешние факторы производственной и окружающей среды оказывают влияние на процессы метаболической адаптации, которые определяют состояние гомеостаза организма.

Высокий удельный вес вибрационной болезни в структуре профессиональных заболеваний, сравнительная стойкость, а в выраженных случаях малая обратимость патологического процесса, поражающего, как правило, квалифицированных работников наиболее трудоспособного возраста – все это придает проблеме изучения, профилактики и лечения вибрационной патологии важное народно-хозяйственное значение. Все это определяет актуальность исследований по изучению многопланового влияния вибрационного фактора на организм и необходимость совершенствования методов диагностики, оптимизации терапии и медицинской реабилитации вибрационной патологии и ее проявлений [1, 8, 14–15]. Клиническая картина вибрационной болезни в настоящее время характеризуется полиморфностью симптоматики с вовлечением в патологический процесс различных звеньев гомеостаза, многих органов и систем, который при прогрессировании имеет тенденцию к генерализации [1–2, 7, 9, 19].

В последние годы внимание ученых привлекает исследование клеточно-молекулярных механизмов вибрационного повреждения в органах-мишенях. Работы экспериментального характера свидетельствуют о дестабилизирующем влиянии вибрации на состояние плазматических мембран и мембран митохондрий с нарушением фосфолипидного состава и активности мембрансвязанных ферментов [16, 19]. Компенсация при гомеостатических сдвигах в значительной степени ложится на кровеносную и лимфатическую системы, которые активно участвуют в тонких реакциях организма по обеспечению необходимого уровня обменных процессов и отражают изменения, происходящие на клеточном уровне. В связи с этим большое значение приобретает изучение лимфатической системы и определение ее адаптивно-компенсаторной роли в сохранении гомеостаза [3, 12, 13].

Эссенциальные биометаллы играют важную роль практически во всех жизненно необходимых процессах гомеостаза. Тем удивителен факт, что эти параметры при вибрационной патологии почти не изучались, не говоря уже о межсистемных взаимоотношениях биометаллов в системе «плазма – лимфа». В то же время имеется ограниченное число исследований, посвященных обмену биометаллов при вибрационной патологии [6]. Однако биологические эффекты биометаллов настолько важны для регуляции гомеостатических функций организма в целом, что комплексное исследование межсистемных нарушений обмена биометаллов при вибрационной патологии имеет не только теоретическое, но и важное практическое значение.

Цель работы – оценка изменений баланса меди и цинка в организме при экспериментальной вибрационной патологии, включающие как плазменные, так и лимфатические параметры.

Материалы и методы. В работе используются результаты экспериментального исследования, проведенного на самцах белых крыс линии Вистар, полученных из вивария Института цитологии и генетики СО РАН, массой 180 – 220 мг, в осенне-зимний период. Животные подвергались воздействию общей вертикальной вибрации (частотой 32 Гц при ускорении 50 м/с²) в специальной клетке, установленной на площадке вибратора от вибростенда ВЭДС-100Б, ежедневно по 1 ч в течение 30 суток. Выбранные параметры вибрации в эксперименте позволяют создать картину вибрационной болезни у экспериментальных

животных, стандартизировать условия проведения исследований и проследить процессы поражения и восстановления.

Воздействие на животных: острое однократное и многократно повторяющееся в течение 10, 30 суток. Животные были разделены на несколько групп, по 24 особи в каждой группе: 12 интактных крыс и 12 опытных, подвергнутых воздействию общей вертикальной вибрации. Для оценки восстановительного периода были использованы крысы, предварительно подвергнутые 30-дневному вибрационному воздействию.

Животных первой экспериментальной группы подвергали воздействию вибрации ежедневно в течение 1, 10, 30 суток (по 1 ч ежедневно) без фармакологической коррекции. Животных другой экспериментальной группы подвергали вибрационным воздействиям на фоне введения препарата эссенциальных фосфолипидов. Животных выводили из эксперимента на 1, 10, 30 сутки воздействия вибрации и на 20, 30 сутки (ранний восстановительный период) и 60 сутки отдаленного, восстановительного периода (поздний восстановительный период) после прекращения вибрационных нагрузок (поствибрационная реабилитация). Центральная лимфа и плазма крови забирались на 1, 10 и 20 сутки воздействия и на 20, 30 и 60 сутки восстановительного периода. Забор биологического материала у животных проводили натошак в одно и то же время суток с 10 до 11 часов утра.

Забор биоматериала. Лимфа. Под внутрибрюшинным гексеналовым наркозом производился кожный разрез в месте пересечения реберной дуги с *m. erector spinae* параллельно последней и длиной 1 см. После рассечения наружной косой мышцы живота забрюшинная клетчатка тупо расслаивали до визуализации цистерны Хиля грудного протока, которая пунктировалась и с помощью аспирационного насоса вели забор лимфы. Этот метод позволяет забрать до 1 мл лимфы у взрослой крысы [4].

Кровь. Кровь экспериментальных животных после мгновенной декапитации под гексеналовым наркозом забиралась в сухие центрифужные пробирки и немедленно центрифугировалась при 900 g (3000 об/мин) в течение 10 минут. Содержание биометаллов в плазме крови и центральной лимфе определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Unicam- 939» (Великобритания), чувствительность которого составляет 10⁻⁵ мг/л. Содержание меди, железа и цинка в плазме крови и лимфе выражалось в мг/л, кальция и магния – в г/л.

Вычисление плазменно-лимфатического индекса. Для оценки перераспределения изучаемых биометаллов в системе «плазма- лимфа» был использован плазменно-лимфатический индекс (ПЛИ), рассчитанный как отношение концентраций вещества в плазме к его концентрации в лимфе [10], используя следующую формулу:

$$ПЛИ = \frac{\text{Концентрация показателя в плазме}}{\text{Концентрация показателя в лимфе}}$$

Статистическая обработка материала осуществлялась пакетом прикладных программ Excel 7.0 на PC Pentium- 166 MMX. При анализе результатов определялись среднее арифметическое (М), ошибка среднего (m), проводилась оценка значимости двух соседних средних арифметических по t-критерию Стьюдента. Достоверными считались результаты при P< 0.05.

Таблица 1

Динамика содержания меди в плазме крови и лимфе у крыс при вибровоздействиях, в ранний и поздний восстановительный периоды (мг/л) (М ± m)

Сроки исследования	Плазма	Лимфа
Контроль	1.90 ± 0.01	0.40 ± 0.02
1 сутки возд.	1.43 ± 0.11*	0.80 ± 0.06*
10 сутки возд.	1.43 ± 0.12*	0.78 ± 0.05*
30 сутки возд.	1.17 ± 0.13*	0.58 ± 0.05
20 сутки восст.	1.20 ± 0.09*	0.24 ± 0.03*
30 сутки восст.	1.30 ± 0.15*	0.28 ± 0.02*
60 сутки восст.	1.28 ± 0.11*	0.52 ± 0.03*

Примечание: здесь и далее* – обозначены величины, достоверно (P<0.05) отличающиеся от контрольных значений.

Результаты. У животных контрольной группы содержание меди в сыворотке крови составило 1.90±0.01 мг/л. На протяжении всего периода наблюдения отмечалось снижение содержания меди в сыворотке крови (табл. 1). Минимальные показатели были зафиксированы на 30-е сутки вибрационного воздействия и на 20

* Новосибирский госмедуниверситет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ

сутки восстановительного периода ($1,17 \pm 0,09$ и $1,20 \pm 0,15$ мг/л соответственно). При этом в лимфе контрольные значения составили $0,40 \pm 0,02$ мг/л, на 1-е и 10-е сутки вибрационного воздействия данный показатель в 2 раза превысил контрольные значения, в раннем восстановительном периоде шло его снижение в 1,4-1,6 раза и последующее повышение на 60 сутки восстановления до уровня, в 1.3 раза выше контрольного значения.

Уровень цинка в плазме крови у особей контрольной группы составил $0,014 \pm 0,0001$ мг/л, на 1 сутки вибровоздействия оно выросло в 5.6 раза, и далее уменьшалось до 60 суток периода восстановления до уровня, в 1.4 ниже контрольного (табл. 2).

Таблица 2

Динамика уровня цинка в плазме крови и лимфе у крыс при вибровоздействиях, в ранний и поздний восстановительный периоды (мг/л) ($M \pm m$)

Сроки исследования	Плазма	Лимфа
Контроль	0.014 ± 0.0001	0.041 ± 0.0002
1 сутки возд.	$0.079 \pm 0.004^*$	0.049 ± 0.006
10 сутки возд.	$0.074 \pm 0.008^*$	0.047 ± 0.005
30 сутки возд.	$0.031 \pm 0.003^*$	$0.014 \pm 0.001^*$
20 сутки восст.	$0.032 \pm 0.003^*$	0.038 ± 0.002
30 сутки восст.	0.012 ± 0.001	0.046 ± 0.004
60 сутки восст.	0.010 ± 0.002	$0.031 \pm 0.002^*$

Уровень цинка в лимфе у особей контрольной группы составил 0,041 мг/л, на 1 сутки воздействия он увеличился в 1.2 раза, затем было зафиксировано уменьшение на 20 сутки периода восстановления в 2.9 раза ниже контрольных значений, далее – повышение на 30 сутки восстановления до значения, в 1.1 раза выше контрольных значений, и далее на 60 сутки восстановления – снижение его до уровня в 1,3 ниже контрольных значений. Значение ПЛИ меди на 1 сутки воздействия уменьшалось в 2.6 раза, затем повышалось на 20 сутки восстановления до контрольного значения и далее постепенно снижалось на 60 сутки восстановления до значения, в 1.9 раза ниже контрольного (табл. 3).

Таблица 3

Динамика ПЛИ меди и цинка у крыс в условиях экспериментального моделирования вибрации, в поствибрационный период и при фармакологической коррекции эссенциальными фосфолипидами ($M \pm m$)

Сроки исследования	ПЛИ меди	ПЛИ цинка
Контроль	4.75 ± 0.30	0.30 ± 0.01
1 сутки возд.	1.80 ± 0.08	1.60 ± 0.06
10 сутки возд.	$1.83 \pm 0.10^*$	$1.57 \pm 0.05^*$
30 сутки возд.	$2.17 \pm 0.20^*$	$2.20 \pm 0.15^*$
20 сутки восст.	5.00 ± 0.32	$0.84 \pm 0.04^*$
30 сутки восст.	4.60 ± 0.24	0.26 ± 0.02
60 сутки восст.	$2.50 \pm 0.18^*$	0.32 ± 0.02

Отмечалось увеличение ПЛИ цинка на 30 сутки воздействия в 7.3 раза, затем его понижение на 30 сутки восстановления в 1.1 раза ниже контрольного значения, и далее – снова его увеличение на 60 сутки восстановления до контрольного значения.

Заключение. Обнаруженное повышение содержания цинка в плазме крови в остром периоде (1-е сутки воздействия) обусловлено, вероятно, поступлением этого микроэлемента из поврежденных миоцитов и выходом его из тканевого «депо» под действием глюкокортикоидов [18]. В период воздействия вибрации, когда выражен т.н. «окислительный стресс», в плазме повышается уровень цинка с 1-х суток, что может трактоваться нами как возможный вариант антиоксидантной защиты. Повышение уровня цинка может тормозить свободно-радикальное окисление в клетках (особенно гепатоцитах), обеспечивать обратимость повреждений ДНК. Следует подчеркнуть иммуностимулирующую роль цинка, что в условиях вторичной иммунологической недостаточности после воздействия стрессорного фактора является совершенно необходимым звеном поддержания системного гомеостаза. Цинк индуцирует экспрессию в клетках белков-металлотионеинов и белков-иммуофилинов класса hsp-70 (heat stress protein). Последние являются частью универсального механизма клеточной защиты от стрессорных повреждений [11]. Учитывая мощный репаративный эффект цинка, резкое повышение ПЛИ этого микроэлемента на 1-е сутки воздействия отражает реакцию на повреждение тканей при вибрационном

воздействии. Цинк оказывает стабилизирующее действие на цитоплазматические мембраны, препятствуя высвобождению гидролитических ферментов (катепсин D и коллагеназа, контролирующей скорость распада поврежденных тканей [17]).

Медь первоначально связывается с металлотионеином в печени, в дальнейшем включаясь в церулоплазмин и другие медь-содержащие ферменты. Церулоплазмин наряду со своими функциями оксидазы выполняет также роль транспортного белка, переносящего медь на тканевые ферменты, в первую очередь на цитохромоксидазу [20]. Снижение содержания меди в плазме с 30-х суток воздействия может быть связано с нарушениями в системе микросомального окисления печени [5]. Медь может в определенной степени влиять на интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) через образование супероксиддисмутазы (СОД). Некоторые авторы подвергают сомнению ее связь с какой-либо конкретной патологией, мотивируя это тем, что супероксидный ион-радикал является короткоживущим и малоактивным при физиологических значениях pH. Но при этом не учитывается ни массивность образования свободных радикалов, ни изменения кислотно-щелочных характеристик крови, поэтому нам предпочтительной представляется точка зрения, согласно которой существует связь между балансом микроэлементов (в том числе меди) и активностью ПОЛ. Медь может рассматриваться как компонент антиоксидантной защиты. Совокупность полученных в ходе экспериментального моделирования вибрационной патологии данных позволяет говорить о системных нарушениях соотношения меди и цинка. Выявлено активное участие лимфатической системы в адаптивно-компенсаторных реакциях организма на вибрационное воздействие, направленных на поддержание гомеостаза биометаллов.

При вибрационной патологии как мощном стрессирующем факторе идет перераспределение биометаллов между кровеносным и лимфатическим руслом, что вносит вклад в развитие, усугубление и прогрессирование вибрационной патологии.

Литература

1. Артамонова В. и др. // Гигиена: прошлое, настоящее, будущее: Сб. науч. тр. / Под ред. А.И.Потапова. – М., 2001. – С. 258.
2. Безрукова Г.А., Спирин В.Ф. // Мед. тр. пром. экол. – 2003. – № 11. – С. 7–13.
3. Боброва С.В. Структурно-функциональные нарушения лимфоидных органов при вибрационных воздействиях и их коррекция эссенциальными фосфолипидами: дис... д-ра мед. наук. – Новосибирск, 2002. – 500 с.
4. Бородин Ю.И. и др. Актуальные вопросы патофизиологии лимфатической системы. – Новосибирск, 1995. – С. 9–10.
5. Васильев И.В. Метаболизм ксенобиотиков в печени и корреляция его изменений в декомпрессионном периоде при синдроме длительного сдавления: дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 1994. – 125 с.
6. Вербовой А. // Гигиена и санитария. – 2001. – № 6. – С. 42.
7. Егорова И.В. и др. // Иммунология – 1997. – № 3. – С. 23.
8. Измеров Н.Ф. // Мед. тр. пром. экол. – 2000. – №10. – С. 1.
9. Любченко П.Н., Яньшина Е.Н. // Мед. тр. пром. экол. – 2001. – №6. – С. 15–19.
10. Макаров Д.В. Гемо-лимфатические отношения показателей липидного обмена при синдроме длительного сдавления: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Новосибирск, 1996. – 15 с.
11. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М.: Гипоксия, 1993. – 332 с.
12. Панков В.А., Дьякович М.П. // Мед. тр. пром. экол. – 2003. – № 3. – С.1–5.
13. Пенкинович А. и др. // Мед. тр. пром. экол. – 2004. – № 7. – С.29–31.
14. Рочева И.И. и др. // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. – №2. – С. 44–47.
15. Сухаревская Т.М. и др. Микроангио- и висцеропатии при вибрационной болезни. – 238 с.
16. Усенко В.Р. и др. Вибрация, шум и здоровье человека: Сб. науч. трудов. – Л., 1988. – С. 16–19.
17. Harkonen H., Riihimäki H. // Brit. J. Industr. Med. – 1984. – Vol. 44. – №1. – P. 133–136.
18. Kir'jakov V.A. et al. // Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk. – 2005. – № 3. – P.27–29.
19. Krajnak K. // J. Appl. Physiol. – 2006. – Vol. 100. – P.1230.
20. Shamberger R. Trace metals in health and disease // Nutrition elements and clinical biochemistry. – 1980. – P. 241–275.