

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-4-224-230>

УДК 612.111.3

© Коллектив авторов, 2021

Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г.

**Дизрегуляторные сдвиги в системе красной крови при длительной интоксикации медно-цинковой колчеданной рудой (экспериментальное исследование)**

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Ленина, 3, Уфа, Россия, 450008

**Введение.** Соединения тяжёлых металлов, входящие в состав медно-цинковых колчеданных руд, могут негативно влиять на кроветворение и состав периферической крови у работников горнодобывающей и горноперерабатывающей промышленности. Изучение механизмов развития металиндуцированной анемии поможет в поиске путей коррекции нарушений в системе красной крови.

**Цель исследования** — изучить механизм функциональных нарушений центрального и периферического звеньев эритрона при длительной интоксикации природными соединениями тяжёлых металлов в эксперименте.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 50 белых нелинейных крысах-самцах весом 220,5±15,5 г. Образец исследуемой руды был предоставлен ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат» (г. Учалы, Республика Башкортостан, Россия). Подопытным животным ежедневно в течение 90 дней за 1 час до кормления перорально вводили водную суспензию порошка медно-цинковой колчеданной руды, дозу рассчитывали исходя из предельно допустимой концентрации свинца (0,2–0,5 мг/кг) и кадмия (0,02–0,1 мг/кг) в зерне и хлебе. В периферической крови определяли количество эритроцитов, ретикулоцитов, гемоглобина и концентрацию эритропоэтина. Костномозговой эритропоэз оценивали по количественному и качественному составу эритробластических островков (ЭО) и показателям пролиферации и созревания эритробластов в ЭО. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов Манна–Уитни и парной корреляции Пирсона.

**Результаты.** Начиная с 10-х суток, в костном мозге полностью исчезли молодые ЭО, а эритропоэз поддерживался исключительно за счёт реконструкции. В периферической крови количество эритропоэтина снизилось на 22%, число ретикулоцитов увеличилось в 2 раза. На 30 сутки в 2 раза возросло число зрелых ЭО в костном мозге. К 90 суткам число ретикулоцитов в крови вернулось к норме, но в костном мозге содержание молодых форм ЭО было в 5 раз меньше контрольных значений. Корреляционный анализ показал отсутствие свойственных контрольной группе прямых связей между центральным и периферическим звеньями эритрона у животных с хронической интоксикацией медно-цинковой колчеданной рудой.

**Выводы.** При длительном сочетанном воздействии тяжёлых металлов природного происхождения нарушаются регуляторные процессы в системе красной крови, что сопровождается торможением эритропоэза в эритробластических островках.

**Этика.** Исследование проведено с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» Минздрава РФ, протокол № 5 от 13.09.2017.

**Ключевые слова:** крысы; медно-цинковая колчеданная руда; соли тяжёлых металлов; эритропоэз; эритробластический островок; ретикулоциты; эритропоэтин

**Для цитирования:** Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г. Дизрегуляторные сдвиги в системе красной крови при длительной интоксикации медно-цинковой колчеданной рудой (экспериментальное исследование). *Мед. труда и пром. экол.* 2021; 61(4): 224–230. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-4-224-230>

**Для корреспонденции:** Зиякаева Клара Рашитовна, старший преподаватель каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет». E-mail: [klazia@yandex.ru](mailto:klazia@yandex.ru)

**Участие авторов.** Концепция и дизайн исследования — Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г., Зиякаева К.Р.

Сбор и обработка данных, написание текста — Зиякаева К.Р.

Редактирование — Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность Павлову В.Н., член-корр. РАН, профессору, ректору ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» за помощь в проведении исследования.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 19.01.2021 / Дата принятия к печати: 29.04.2021 / Дата публикации: 25.05.2021

Klara R. Ziyakaeva, Aliya F. Kayumova, Valentina G. Shamratova

**Disregulatory shifts in the red blood system during prolonged intoxication with copper-zinc-pyrite ore (experimental study)**

Bashkir State Medical University, 3, Lenina Str., Ufa, Russian Federation, 450008

**Introduction.** Heavy metal compounds of copper-zinc pyrite ores can negatively affect the blood-forming and composition of peripheral blood of workers at mining and milling industry. Studying of the mechanisms of the development of metal-induced anemia will help in the search of ways to correct disorders in the red blood system.

**The study aims** to estimate the mechanism of functional disorders of the central and peripheral parts of erythron in the long-term intoxication of natural heavy metal compounds in the experiment.

**Material and methods.** The work was carried out on 50 white non-linear male rats weighing 220,5±15,5 g. Sample of the studied ore was provided by Uchalinsky Mining and Refining Plant (Uchaly, Bashkortostan Republic, Russia). The rats were given a water suspension of copper-zinc powder daily for 90 days for 1 hour before feeding, the dose was calculated on the basis of the maximum allowable concentration of lead (0,2–0,5 mg/kg) and cadmium (0,02–0,1 mg/kg) in grain and bread. The number of red blood cells, reticulocytes, hemoglobin and the concentration of erythropoietin were determined in the peripheral blood. Bone marrow erythropoiesis was evaluated by the quantitative and qualitative composition of erythroblastic islets (EI) and indicators of proliferation and maturation of erythroblasts in the EI. Statistical analysis was conducted using Mann–Whitney's non-parametric methods and Pearson's paired correlation.

**Results.** On the 10<sup>th</sup> day young EI completely disappeared in the bone marrow, and erythropoiesis was supported only by reconstruction. In the peripheral blood the number of erythropoietin decreased by 22%, the number of reticulocytes doubled. The number of mature EI in the bone marrow was doubled by 30 days. By 90 days the number of reticulocytes in the blood returned to normal, but in the bone marrow the content of young forms of EI was 5 times less than the control values. Correlational analysis showed the absence of direct links between the central and peripheral parts of erythron in animals with chronic intoxication of copper-zinc pyrite ore, that present in the control group.

**Conclusion.** With long-term combined exposure with heavy metals of natural origin, regulatory processes in the red blood system are disrupted, that is accompanied with inhibition of erythropoiesis in the EI.

**Ethics.** The study was carried out in compliance with the principles of the Principles of Good Laboratory Practice. The animals were kept with the 2010/63/EU Directive on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. The study was approved by the local ethical committee of the Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, protocol No. 5 of 13.09.2017.

**Keywords:** rats; copper-zinc pyrite ores; heavy metal salts; erythropoiesis; erythroblastic islet; reticulocytes; erythropoietin

**For citation:** Ziyakaeva K.R., Kayumova A.F., Shamratova V.G. Disregulatory shifts in the red blood system during prolonged intoxication with copper-zinc-pyrite ore (experimental study). *Med. truda i prom. ekol.* 2021; 61(4): 224–230. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-4-224-230>

**For correspondence:** Klara R. Ziyakaeva, heard teacher, normal physiology department Bashkir State Medical University. E-mail: klazia@yandex.ru

**Information about authors:** Ziyakaeva K.R. <https://orcid.org/0000-0002-3923-2736>

Kayumova A.F. <https://orcid.org/0000-0003-1983-1392>

Shamratova V.G. <https://orcid.org/0000-0002-7633-4264>

**Contribution.** Concept and design of the study — Kayumova A.F., Shamratova V.G., Ziyakaeva K.R.

Data collection, analysing the results, text writing — Ziyakaeva K.R.

Editing — Kayumova A.F., Shamratova V.G.

**Acknowledgment.** The authors are grateful to Valentin N. Pavlov member-corr. RAS, professor, rector of the Bashkir State Medical University for assistance in carrying out the study.

**Funding.** The study had no funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received: 19.01.2021 / Accepted: 29.04.2021 / Published: 25.05.2021

**Введение.** Для работников горнодобывающих и горноперерабатывающих предприятий, а также для людей, проживающих в их окрестностях, особую опасность представляют тяжёлые металлы, входящие в состав руды. Несмотря на то, что в малых количествах эти элементы необходимы для синтеза биологических активных веществ и регуляции процессов жизнедеятельности, накапливаясь в организме, они вызывают морфологические и функциональные изменения в органах и тканях, что нарушает естественный ход физиологических процессов и, в итоге, наносит существенный вред здоровью. Изучение механизмов развития металлндуцированной патологии и поиск возможных путей её коррекции — чрезвычайно важные задачи для медицинской науки Башкортостана, поскольку в республике находятся 5 активно разрабатываемых месторождений колчеданных руд, которые содержат в своём составе свинец, селен, теллур, кадмий, никель, кобальт, мышьяк, ртуть, сурьму, таллий и барий.

Система красной крови, наряду с дыхательной и кровеносной системами, является неотъемлемой частью механизмов транспорта кислорода. В то же время из-за высокой скорости пролиферативных процессов, происходящих в костном мозге, она оказывается наиболее чувствительной к воздействию солей тяжёлых металлов, и зачастую изменения в системе красной крови появляются раньше признаков нарушения функций других органов и тканей [1]. Экспериментальное моделирование хронической интоксикации природными соединениями тяжёлых металлов позволило нам изучить не только состояние периферической крови, но и темп развития эритроидных клеток в костном мозге — по количественному и качественному составу эритробластических островков (ЭО). У всех млекопитающих, включая человека, эритропоэз происходит именно в этих особых морфофункциональных ассоциациях, состоящих из клеток двух линий — моноцитарной и эритроцитарной. В каждом ЭО находится центрально расположенный костномозговой макрофаг, который окружён

«коронной» эритроидных клеток разной степени дифференцированности — от проэритробласта до ретикулоцита [2, 3]. Макрофаг играет роль своеобразной «клетки-няньки» по отношению к окружающим его эритробластам: он продуцирует разнообразные биологически активные вещества и цитокины, формирует необходимое для развития эритроидных клеток микроокружение [4], фагоцитирует ядра нормобластов после их денуклеации [5]. Анализ состояния ЭО используется в экспериментальной гематологии для характеристики последовательности волн амплификации и темпа созревания эритроидных клеток при стимуляции и торможении эритропоэза [6], а также при оценке состояния центрального звена системы красной крови при различной экспериментальной патологии [7, 8].

**Цель исследования** — выявление дизрегуляторных механизмов развития эритроидных клеток в костном мозге и связанных с ними функциональных нарушений периферического звена эритрона при длительной интоксикации природными соединениями тяжёлых металлов. С учётом высокой вероятности возникновения анемии у работников горнодобывающей отрасли, ежедневно контактирующих с солями тяжёлых металлов, изучение центральных и периферических механизмов ее развития позволит в дальнейшем включить полученные результаты в методику управления профессиональным риском у работников, направленную на сохранение их здоровья и работоспособности.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 50 белых нелинейных крысах-самцах возраста 3–4 месяца и весом  $220,5 \pm 15,5$  г. Исследование было проведено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и рекомендациями о соблюдении биоэтических норм биоэтического совета ФГБОУ ВО «Башкирский государствен-

ный медицинский университет» Минздрава России. Животные содержались в стандартных клетках ( $n=5$ ) в условиях свободного доступа к воде при температуре воздуха в виварии  $+24\pm 2^\circ\text{C}$  в соответствии с правилами СП 2.2.1.3218. Все болезненные манипуляции с животными и эвтаназию путём декапитации проводили под эфирным наркозом в отдельном от вивария помещении.

Образец исследуемой руды был предоставлен ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат» (г. Учалы, Республика Башкортостан). Анализ образца руды был выполнен на атомно-абсорбционном спектрометре (*Shimadzu AA 6200*, Япония) и рентген-флуоресцентном спектрометре (*Shimadzu EDX 800*, Япония) в Управлении государственного аналитического контроля Республики Башкортостан (табл. 1).

Для создания экспериментальной модели хронической интоксикации опытным группам животных (4 группы по 10 крыс в каждой) ежедневно в течение 90 дней за 1 час до стандартного кормления перорально вводили водную суспензию порошка медно-цинковой колчеданной руды. Медно-цинковая колчеданная руда содержит множество растворимых компонентов (оксид мышьяка, ангидрид серной кислоты, фосфорный ангидрид). Все эти вещества легко проникают в кровоток, как через аэрогематический барьер, так и через кишечную стенку, поэтому использование перорального пути введения порошка руды было вполне обоснованным, так как токсические компоненты попадали в кровоток животных так же, как это было бы при ингаляционном введении. Вводимую дозу руды для опытной группы крыс рассчитывали исходя из предельно допустимой концентрации свинца (0,2–0,5 мг/кг) и кадмия (0,02–0,1 мг/кг) в зерне и хлебе [9]. Дозу руды корректировали каждый раз после очередного взвешивания животного (через каждые 14–15 дней). В контрольную группу вошли интактные крысы ( $n=10$ ), не получавшие медно-цинковую колчеданную руду. Первую группу подопытных крыс выводили из эксперимента на 10 сутки, вторую — на 30 сутки, третью — на 60 сутки, четвертую — на 90 сутки.

Количество эритроцитов и концентрацию гемоглобина определяли с помощью ветеринарного полуавтоматического гематологического анализатора *Vet Exigo 19* (Швеция). Кровь для подсчёта ретикулоцитов окрашивали в пробирках готовым раствором бриллиантового крилового синего (ЗАО «ЭКОлаб», Россия), подсчёт клеток осуществляли с помощью комплекса автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 софт (Россия) на микроскопе *AXIO Lab.A1* (*ZEISS*, Германия) при увеличении  $\times 900$ , используя масляную иммерсию. Содержание эритропоэтина

в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на микропланшетном фотометре *Stat Fax 2100* (США) с помощью набора реагентов «Эритропоэтин-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-БЕСТ», Россия). ЭО выделяли из костного мозга и подсчитывали их общее количество методами, разработанными в лаборатории культур тканей костного мозга Южно-Уральского государственного медицинского университета [3, 10]. Для определения общего количества ЭО взвесь костномозговых клеток окрашивали 0,1% раствором нейтрального красного (ЗАО «Химреактивснаб», Россия), после чего подсчитывали островки во всех клетках камеры Горяева при увеличении  $\times 200$ . Далее костномозговую взвесь разливали по чашкам Петри и инкубировали 30 мин в термостате при температуре  $+37^\circ\text{C}$ . За время инкубации макрофаги с «коронай» из эритроидных клеток адгезировались к пластику. После инкубации чашки Петри с помощью пастеровской пипетки отмывали средой *RPMI-1640* от неадгезировавшихся клеток, а затем центрифугировали 3 мин при 1000 об/мин в бакет-роторе центрифуги (*Eppendorf*, Германия) для равномерного распределения клеток ЭО. Препараты фиксировали 2–3 мин по Май-Грюнвальду красителем-фиксатором «эозин-метиленовый синий» (ООО «МиниМед», Россия), далее отмывали фосфатным буфером с pH 6,7, а затем 8–10 мин окрашивали 1% красителем Гимза («ПанЭко», Россия).

Подсчёт ЭО различных классов зрелости производили методом световой микроскопии при увеличении  $\times 900$  с использованием масляной иммерсии, при этом ЭО разделяли на 5 классов зрелости. «Корона» ЭО 1 класса была представлена проэритробластами и базофильными эритробластами с числом клеток от 2 до 8, «корона» ЭО 2 класса — базофильными и ранними полихроматофильными эритробластами с числом клеток от 9 до 16. В «короне» ЭО 3 класса зрелости содержались полихроматофильные эритробласты, оксифильные нормобласты и ретикулоциты с числом клеток от 17 до 32, «корона» инволюцирующих островков (ЭОинв) была представлена поздними полихроматофильными эритробластами, оксифильными нормобластами и ретикулоцитами с числом ядросодержащих клеток менее 16. К реконструирующимся островкам (ЭОрек) относили инволюцирующие ЭО, имевшие в составе «короны» молодые эритроидные клетки (проэритробласты и/или базофильные эритробласты), т. е. формирование данных островков являлось результатом дифференцировки присоединившегося к макрофагу инволюцирующего островка колониеобразующей единицы эритроцитарной (КОЕ-Э). Для оценки эффективности костномозгового эритропоэза рассчитывали показатель интенсивности вовлечения КОЕ-Э в эритропоэз ( $\text{ЭО1} + \text{ЭОрек}$ ) и показатель созревания эритробластов ( $(\text{ЭО3} + \text{ЭОинв})/(\text{ЭО1} + \text{ЭО2} + \text{ЭОрек})$ ).

Статистическую обработку полученных данных проводили в русифицированной лицензионной программе *Statistica 10* (*StatSoft*, США). Для каждого показателя рассчитывали среднее значение ( $M$ ) и стандартную ошибку среднего значения ( $m$ ). Достоверность различий определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ ). Для выявления положительных или отрицательных связей ( $R$ ) между показателями центрального и периферического звеньев эритрона пользовались непараметрическим методом парной корреляции Пирсона.

Таблица 1 / Table 1

**Процентное содержание металлов в медно-цинковой колчеданной руде**

**The percentage of metals in copper-zinc pyrite ore**

Оксид	Доля оксида в пробе	Доля металла в пробе	Оксид	Доля оксида в пробе	Доля металла в пробе
1 $\text{Fe}_2\text{O}_3$	17,603	12,312	6 $\text{CuO}$	0,123	0,0978
2 $\text{SiO}_2$	12,803	12,803	7 $\text{As}_2\text{O}_3$	0,083	0,063
3 $\text{P}_2\text{O}_5$	2,541	5,985	8 $\text{PbO}$	0,065	0,060
4 $\text{ZnO}$	2,465	2,258	9 $\text{MnO}$	0,060	0,046
5 $\text{CaO}$	0,565	0,404	10 $\text{CdO}$	0,01	0,0088

**Влияние длительного введения медно-цинковой колчеданной руды на эритропоэз**  
**Effect of long-term administration of copper-zinc pyrite ore on erythropoiesis**

Показатели	Контроль	10 суток	30 суток	60 суток	90 суток
Общее количество ЭО ( $\times 10^3$ )	327,0 $\pm$ 20,4	381,0 $\pm$ 46,5	362,5 $\pm$ 22,8	266,5 $\pm$ 18,9*	361,6 $\pm$ 10,8*
ЭО 1 ( $\times 10^3$ )	18,1 $\pm$ 2,9	0	0	0	3,3 $\pm$ 0,9*
ЭО 2 ( $\times 10^3$ )	29,1 $\pm$ 3,1	1,0 $\pm$ 0,7*	2,1 $\pm$ 0,9*	0	6,8 $\pm$ 1,9*
ЭО 3 ( $\times 10^3$ )	93,8 $\pm$ 4,3	117,1 $\pm$ 18,5	70,4 $\pm$ 6,1**	39,2 $\pm$ 5,1**	93,1 $\pm$ 4,1*
ЭО инв. ( $\times 10^3$ )	127,8 $\pm$ 7,6	185,9 $\pm$ 19,9*	250,6 $\pm$ 15,7**	190,98 $\pm$ 12,9**	212,3 $\pm$ 11,9*
ЭО рек. ( $\times 10^3$ )	58,4 $\pm$ 5,6	77,0 $\pm$ 9,8	39,4 $\pm$ 2,7**	36,3 $\pm$ 3,7*	46,2 $\pm$ 3,9
Эритроциты ( $\times 10^{12}/\text{л}$ )	7,7 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 0,3**	6,7 $\pm$ 0,5*	6,6 $\pm$ 0,2*
Гемоглобин (г/л)	142,5 $\pm$ 1,5	131,0 $\pm$ 3,7	119,2 $\pm$ 4,2**	133,8 $\pm$ 9,1*	133,6 $\pm$ 2,5
Rtc ( $\times 10^9/\text{л}$ )	1,4 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,3*	2,2 $\pm$ 0,8**	2,7 $\pm$ 0,1*	1,6 $\pm$ 0,2*
ЭПО (мМЕ/мл)	2,3 $\pm$ 0,2	1,8 $\pm$ 0,2*	1,8 $\pm$ 0,2*	2,3 $\pm$ 0,3*	2,0 $\pm$ 0,2

Примечания: Rtc — количество ретикулоцитов в крови; ЭПО — содержание эритропоэтина в сыворотке; \* статистически значимые отличия между контрольной и опытными группами ( $p < 0,05$ ); \*\* статистически значимые отличия показателя от аналогичного показателя, зарегистрированного в предыдущий срок наблюдения ( $p < 0,05$ ).

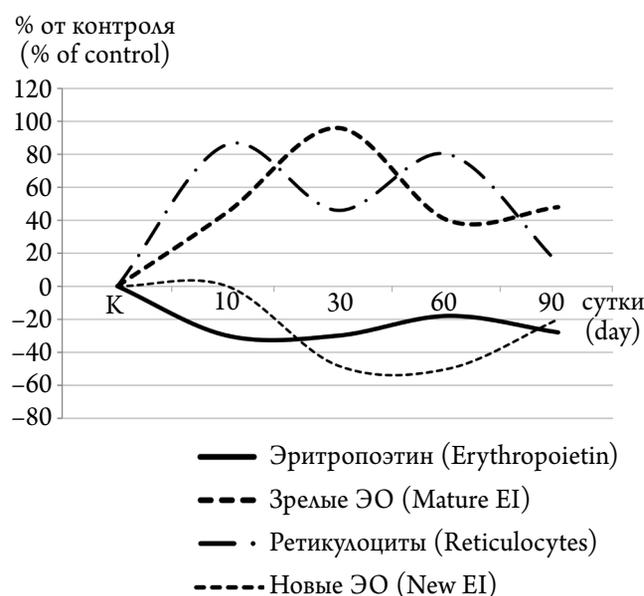
Notes: Rtc — the number of reticulocytes in the blood; ЭПО — the content of erythropoietin in the serum; \* statistically significant differences between the control and experimental groups ( $p < 0.05$ ); \*\* statistically significant differences between the indicator and the analogous indicator recorded in the previous observation period ( $p < 0.05$ ).

**Результаты.** Хроническое введение медно-цинковой колчеданной руды сопровождалось выраженным торможением эритропоэза у подопытных животных (*табл. 2*).

Начиная с 10-х суток, в их костном мозге полностью исчезли молодые ЭО, формирующиеся на основе контактов свободных костномозговых макрофагов с КОЕ-Э (ЭО 1 класса зрелости); появление данных ЭО было зарегистрировано только на 90 день эксперимента. Все это время костномозговой эритропоэз у подопытных крыс поддерживался исключительно за счёт процесса реконструкции, то есть путём присоединения КОЕ-Э не к свободным макрофагам, а к макрофагам, уже имеющим эритроидную «корону» (ЭО реконструирующиеся). Дизрегуляторные изменения процесса развития эритроидных клеток в костном мозге при хронической интоксикации природными соединениями тяжёлых металлов происходили на фоне снижения количества главного регулятора эритропоэза – эритропоэтина. Прекращение новообразования ЭО, скорее всего, и было связано с недостатком данного гормона, поскольку аффинитет КОЕ-Э к свободным костномозговым макрофагам напрямую зависит от количества эритропоэтина, продуцируемого почками, или добавленного в культуральную среду [6]. Реконструкция эритропоэза в ЭО зависит от почечного эритропоэтина в меньшей степени, поскольку макрофаги, уже имеющие эритроидную «корону», сами могут активно синтезировать так называемый «эндогенный» эритропоэтин. Одновременно с обнаруженной перестройкой процесса новообразования ЭО в костном мозге крыс, ежедневно получающих медно-цинковую колчеданную руду, стало увеличиваться количество инволюцирующих ЭО, содержащих в своей «короне» уже не способные к делению эритроидные клетки. При этом в периферической крови подопытных животных отмечался достоверный прирост количества ретикулоцитов, что можно расценивать как признак компенсаторной реакции эритрона, развивающейся в ответ на торможение начальных этапов эритропоэза. Для того чтобы можно было наглядно оценить выраженность дизрегуляторных сдвигов,

происходящих в системе красной крови при хронической интоксикации организма медно-цинковой колчеданной рудой, полученные нами данные (исходно имеющие разную размерность) были внесены в диаграмму, на которой представлены процентные изменения показателей (*рисунок*).

На диаграмме видно, как значительно изменялось количество молодых и зрелых ЭО в костном мозге подопытных крыс: число вновь образованных ЭО снизилось уже через 10 суток интоксикации и не достигло показателей интактных животных к 90-м суткам; число зрелых островков наиболее интенсивно нарастало на 30 сутки эксперимента и



**Рисунок.** Дизрегуляторные сдвиги показателей красной крови при хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды  
**Figure.** Disregulatory shifts in red blood parameters in chronic intoxication with components of copper-zinc pyrite ore

несколько снизилось к 60-м суткам. Динамика выхода ретикулоцитов из костного мозга в периферическую кровь имела 2 пика: первый отмечался на 10-е сутки (быстрый компенсаторный ответ), второй — на 60-е сутки. Продукция почечного эритропоэтина снизилась в течение первых 10 дней интоксикации и осталась на этом уровне до конца эксперимента.

В физиологических условиях центральное звено эритрона, периферическая кровь и продукция почечного эритропоэтина были тесно связаны между собой. У интактных животных содержание эритроцитов и гемоглобина в крови напрямую зависят от общего числа ЭО, количества пролиферирующих островков в костном мозге, числа КОЕ-Э, начавших дифференцировку, а также от концентрации сывороточного эритропоэтина (табл. 3).

В норме существующие тесные положительные связи между численностью вновь образованных островков (ЭО1, ЭО2 и ЭО3) отражают последовательность процессов пролиферации, дифференцировки и окончательного созревания эритроидных клеток в гемопоэтической ткани, завершающуюся выходом в циркуляцию ретикулоцитов. И только между скоростью созревания эритробластов

и содержанием эритропоэтина существует отрицательная связь, поскольку эритропоэтин преимущественно стимулирует процессы пролиферации эритроидных клеток, а не их созревание. Хроническая интоксикация природными солями тяжёлых металлов коренным образом изменила взаимоотношения между центральным и периферическим звеньями эритрона. Уже через 10 суток токсического воздействия исчезли прямые связи между показателями, характеризующими зрелые эритроциты, и показателями пролиферации эритроидных клеток в костном мозге, и на первый план вышла прямая зависимость компенсаторной ретикулоцитарной реакции от интенсивности созревания эритробластов. Корреляционный анализ показателей, зарегистрированных на 30-е сутки эксперимента, подтвердил предположение о том, что выявленное относительное уменьшение числа ретикулоцитов (рисунок) было связано с накоплением в костном мозге числа зрелых ЭО, т. е. с задержкой созревания оксифильных эритробластов, составляющих «корону» инволюционирующих островков. На 60-е сутки эксперимента не было выявлено никаких положительных или отрицательных корреляционных связей в системе эритрона. В то же время 90-е сутки характеризовались тенденцией к восстановлению связей в системе эритрона, поскольку была выявлена прямая зависимость между содержанием эритропоэтина в крови и показателями периферического звена — числом ретикулоцитов и количеством гемоглобина.

**Обсуждение.** На фоне длительной интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды дисрегуляция в красной крови может возникать как на системном, так и на местном уровне. На системном уровне это обусловлено снижением продукции эритропоэтина перитубулярными клетками почек. Показано, что тяжёлые металлы даже в условиях гипоксии подавляют экспрессию эритропоэтиновой мРНК и продукцию самого гормона путем угнетения активности транскрипционного фактора *HIF-1* (индуцируемый гипоксией фактор — 1) [11]. На местном уровне — в самой кроветворной ткани — нарушение эритропоэза может возникать как со стороны эритроидных клеток, так и со стороны макрофагов, формирующих в норме очень большое количество ЭО. Непосредственной причиной торможения пролиферации и дифференцировки эритробластов могло стать изменение активности транскрипционных факторов, определяющих фенотип эритроидных клеток. Например, показано, что соединения мышьяка, ранее считавшиеся исключительно стимулирующими эритропоэз веществами, на самом деле обладают двухфазным действием, связанным с изменением функций транскрипционного фактора *GATA-1*. Кроме того, под воздействием тяжёлых металлов происходит инактивация и других факторов транскрипции, необходимых для выживания и дифференцировки эритроидных клеток [12, 13]. Второй, немаловажной причиной торможения эритропоэза в костном мозге могло стать нарушение функций костномозговых макрофагов, вокруг которых должна образовываться эритроидная «корона». Тяжёлые металлы вызывают в макрофагах усиление продукции тормозящего эритропоэз цитокина — фактора некроза опухоли альфа (ФНО-альфа) [14]. Прекращение новообразования ЭО могло развиваться и вследствие снижения способности макрофагов к миграции в гемопоэтической ткани. Тяжёлые металлы, в частности кобальт, подавляют этот процесс путём активации в макрофагальных клетках матриксной металлопротеиназы-9 [15], а мышьяк

Таблица 3 / Table 3

**Достоверные коэффициенты корреляции между показателями центрального и периферического звеньев эритрона у крыс с хронической интоксикацией медно-цинковой колчеданной рудой**  
**Significant correlation coefficients between the indices of the central and peripheral erythron units in rats with chronic pyrite ore intoxication**

Показатели	Rtc	Эритроциты	Hb	ЭПО
<b>Интактные крысы</b>				
Общее количество ЭО		0,9	0,97	0,9
ЭО 1 класса		0,9	0,97	0,9
ЭО 2 класса		0,9	0,97	0,9
ЭО 3 класса			0,87	
Количество КОЕ-Э, вступивших в дифференцировку		0,9	0,97	0,9
Показатель созревания эритробластов				-0,87
<b>10-е сутки интоксикации</b>				
Показатель созревания эритробластов	0,75			
<b>30-е сутки интоксикации</b>				
ЭО инволюционирующие	-0,65			
<b>90-е сутки интоксикации</b>				
ЭПО	0,79		0,81	

Примечания: ЭПО — количество сывороточного эритропоэтина, Rtc — количество ретикулоцитов в крови, Hb — количество гемоглобина в крови.

Notes: ЭПО is the amount of serum erythropoietin, Rtc is the amount of reticulocytes in the blood, Hb is the amount of hemoglobin in the blood.

тормозит экспрессию генов макрофагальных хемокинов [16]. Помимо указанных факторов, не исключается и нарушение лимфоцитарного контроля развития эритроидных клеток в ЭО, поскольку в «короне» молодых ЭО находятся Т-лимфоциты, биологически активные вещества которых способны изменять скорость пролиферации и дифференцировки эритробластов [17]. Недавнее исследование, проведенное канадскими учеными, доказало, что кобальт и хром усиливают миграцию [18], а также вызывают апоптоз как в покоящихся, так и в активированных Т-лимфоцитах [19].

**Заключение.** Несмотря на развитие некоторых компенсаторных реакций, при длительном токсическом воздействии природных солей тяжёлых металлов в организме наблюдается утрата пластичности функциональной системы красной крови. Это состояние обусловлено, прежде всего,

ослаблением регулирующего влияния почечного эритропоэтина на процесс кроветворения, что привело к снижению аффинитета КОЕ-Э к свободным костномозговым макрофагам и прекращению образования новых ЭО, а также к замедлению темпа созревания эритробластов. Кроме того, торможение эритропоэза может быть связано с нарушением функциональных свойств костномозговых макрофагов, формирующих ЭО и поддерживающих процессы дифференцировки и созревания в эритроидных клетках. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о существующей опасности развития патологии со стороны системы крови у рабочих, длительно контактирующих с медно-цинковой колчеданной рудой в производстве, а также у людей, проживающих в горнозаводских зонах, и подтверждают необходимость постоянного контроля показателей периферического звена эритропоэза.

### Список литературы

1. Рыспекова Н.Н., Нурмухамбетов А.Н., Аскарлова А.Е., Аканов А.А. Роль тяжелых металлов в развитии анемий (обзор литературы). *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2013; 3 (2): 46–51.
2. Yeo J.H., Cosgriff M.P., Fraser S.T. Analyzing the formation, morphology, and integrity of erythroblastic islands. *Methods Mol. Biol.* 2018; 1698: 133–52.
3. Тишевская Н.В., Болотов А.А., Захаров Ю.М. Математическое моделирование межклеточных взаимодействий в культуре эритробластических островков. *Медицинский академический журнал*. 2005; 5(4): 50–9.
4. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Гликозаминогликаны эритробластических островков костного мозга крыс. *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 1994; 80(11): 32–6.
5. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние гуморальных факторов на фагоцитарную активность центральных макрофагов в культуре эритробластических островков. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2002; 88(9): 1191–98.
6. Тишевская Н.В., Шевяков С.А., Захаров Ю.М. Влияние эритропоэтина и макрофагального колониестимулирующего фактора на пролиферативную активность эритроидных клеток в культурах эритробластических островков. *Медицинский академический журнал*. 2003; 3(3): 67–72.
7. Hom J., Dulmovits B.M., Mohandas N., Blanc L. The erythroblastic island as an emerging paradigm in the anemia of inflammation. *Immunol. Res.* 2015; 63(1–3): 75–89.
8. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Дементьева Е.В. Антианемическое действие реамберина в остром периоде аллоксанового диабета у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008; 71(6): 23–7.
9. Сульдина Т.И. Содержание тяжелых металлов в продуктах питания и их влияние на организм. *Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы*. 2016; 1: 136–140.
10. Tishevskaya N.V., Zakharov Yu.M., Golubotovskii E.V., Kolesnikov O.L., Trofimova N.V., Arkhipenko Yu.V., Sazontova T.G. Effects of fullerene C<sub>60</sub>(OH)<sub>24</sub> on erythropoiesis in vitro. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014; 157(1): 49–51.
11. Horiguchi H., Kayama F., Oguma E., Willmore W.G., Hradecky P., Bunn H.F. Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell culture: clinical implications. *Blood*. 2000; 96(12): 3743–47.
12. Zhang Y., Wang S., Chen C., Wu X., Zhang Q., Jiang F. Arsenic Primes Human Bone Marrow CD34+ Cells for Erythroid Differentiation. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2015: 751013. <https://doi.org/10.1155/2015/751013>
13. Saulle E., Riccioni R., Pelosi E., Stafness M., Mariani G., De Tuglie G., Peschle C., Testa U. In vitro dual effect of arsenic trioxide on hemopoiesis: inhibition of erythropoiesis and stimulation of megakaryocytic maturation. *Blood Cells Mol. Dis.* 2006. 36(1): 59–76.
14. Gardner R.M., Nyland J.F., Evans S.L., Wang S.B., Doyle K.M., Crainiceanu C.M., Silbergeld E.K. Mercury induces an unopposed inflammatory response in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Environmental health perspectives*. 2009. 117: 1932–8.
15. Xu J., Yang J., Nyga A., Ehteramyan M., Moraga A., Wu Y., Zeng L., Knight M.M., Shelton J.C. Cobalt (II) ions and nanoparticles induce macrophage retention by ROS-mediated down-regulation of RhoA expression. *Acta Biomater.* 2018. 72: 434–446.
16. Bourdonnay E., Morzadec C., Sparfel L., Galibert M.D., Jouneau S., Martin-Chouly C., Fardel O., Vernhet L. Global effects of inorganic arsenic on gene expression profile in human macrophages. *Mol. Immunol.* 2009. 46(4): 649–56.
17. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Современный взгляд на роль Т-лимфоцитов в регуляции эритропоэза. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(1): 83–96.
18. Baskey S.J., Lehoux E.A., Catelas E.A. Effects of cobalt and chromium ions on lymphocyte migration. *J. Orthop. Res.* 2017; 35(4): 916–24.
19. Akbar M., Brewer J.M., Grant M.H. Effect of chromium and cobalt ions on primary human lymphocytes in vitro. *J. Immunotoxicol.* 2011; 8(2): 140–9

### References

1. Ryspekova N.N., Nurmukhambetov A.N., Askarova A.E., Akanov A.A. Role of heavy metals in anemia (Review). *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2013; 3(2): 46–51.
2. Yeo J.H., Cosgriff M.P., Fraser S.T. Analyzing the formation, morphology, and integrity of erythroblastic islands. *Methods Mol. Biol.* 2018; 1698: 133–152.
3. Tishevskaya N.V., Bolotov A.A., Zakharov Yu.M. Mathematical modeling of intercellular interactions in the erythroblastic islets culture. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2005; 5(4): 50–9.
4. Kharchenko M.F., Kornilova N.V., Zakharov Yu.M., Bitjukova E.S. Glycosaminoglycans of rat bone marrow erythroblastic islets. *Fiziologicheskiy Zhurnal im. Sechenova*. 1994; 80(11): 32–6.
5. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. The effect of humoral factors on phagocytic activity of central macrophages

- in the erythroblastic islets culture. *Rossiyskiy fiziologicheskiy Zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2002; 88(9): 1191–98.
6. Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A., Zakharov Yu.M. The effect of erythropoietin and macrophage colony stimulating factor on the proliferative activity of erythroid cells in erythroblastic islets cultures. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal*. 2003; 3(3): 67–72.
  7. Hom J., Dulmovits B.M., Mohandas N., Blanc L. The erythroblastic island as an emerging paradigm in the anemia of inflammation. *Immunol. Res.* 2015; 63(1–3): 75–89.
  8. Volchegorskii I.A., Tishevskaya N.V., Dement'eva E.V. Antianemic effect of reamberin in rats with acute alloxan-induced diabetes. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2008; 71(6): 23–7.
  9. Sul'dina T.I. The content of heavy metals in food and their effects on the body. *Ratsional'noye pitaniye, pishchevyye dobavki i biostimulyatory*. 2016; 1: 136–140. (In Russ.)
  10. Tishevskaya N.V., Zakharov Yu.M., Golubotovskii E.V., Kolesnikov O.L., Trofimova N.V., Arkhipenko Yu.V., Sazontova T.G. Effects of fullerene C<sub>60</sub>(OH)<sub>24</sub> on erythropoiesis in vitro. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014; 157(1): 49–51.
  11. Horiguchi H., Kayama F., Oguma E., Willmore W.G., Hradecky P., Bunn H.F. Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell culture: clinical implications. *Blood*. 2000; 96(12): 3743–47.
  12. Zhang Y., Wang S., Chen C., Wu X., Zhang Q., Jiang F. Arsenic primes human bone marrow CD34+ cells for erythroid differentiation. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2015: 751013. <https://doi.org/10.1155/2015/751013>
  13. Saule E., Riccioni R., Pelosi E., Stafness M., Mariani G., De Tuglie G., Peschle C., Testa U. In vitro dual effect of arsenic trioxide on hemopoiesis: inhibition of erythropoiesis and stimulation of megakaryocytic maturation. *Blood Cells Mol. Dis.* 2006. 36(1): 59–76.
  14. Gardner R.M., Nyland J.F., Evans S.L., Wang S.B., Doyle K.M., Crainiceanu C.M., Silbergeld E.K. Mercury induces an unopposed inflammatory response in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Environmental health perspectives*. 2009. 117: 1932–8.
  15. Xu J., Yang J., Nyga A., Ehteramyan M., Moraga A., Wu Y., Zeng L., Knight M.M., Shelton J.C. Cobalt (II) ions and nanoparticles induce macrophage retention by ROS-mediated down-regulation of RhoA expression. *Acta Biomater.* 2018. 72: 434–46.
  16. Bourdonnay E., Morzadec C., Sparfel L., Galibert M.D., Jouneau S., Martin-Chouly C., Fardel O., Vernhet L. Global effects of inorganic arsenic on gene expression profile in human macrophages. *Mol. Immunol.* 2009. 46(4): 649–56.
  17. Tishevskaya N.V., Gevorkyan N.M., Kozlova N.I. A modern view of the role of T-lymphocytes in regulation of erythropoiesis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2016; 136(1): 83–96.
  18. Baskey S.J., Lehoux E.A., Catelas E.A. Effects of cobalt and chromium ions on lymphocyte migration. *J. Orthop. Res.* 2017; 35(4): 916–24.
  19. Akbar M., Brewer J.M., Grant M.H. Effect of chromium and cobalt ions on primary human lymphocytes in vitro. *J. Immunotoxicol.* 2011; 8(2): 140–9.
-