

Влияние α -токоферола и наночастиц серебра на морфологический состав крови мышей при экспериментальной кадмиевой интоксикации

*Е.А. Ткаченко, аспирантка,
М.А. Дерхо, д.б.н., профессор, Уральская ГАВМ*

Современная патология человека и животных тесно связана с проблемой загрязнения окружающей среды. Широко распространёнными загряз-

нителями биосферы считаются тяжёлые металлы, среди которых серьёзную опасность представляет кадмий и его соединения [1], так как при их поступлении в организм животных, даже в минимальных количествах, развивается токсический процесс [2–6]. В связи с этим проблема разработки

эффективных способов детоксикационной терапии и поиска для этих целей новых препаратов не потеряла своей актуальности.

В настоящее время имеется большое количество детоксикантов в виде антагонистов тяжёлых металлов, адсорбентов, премиксов и кормовых добавок, способных выводить из организма животных тяжёлые металлы. Однако их применение чаще всего сопровождается побочными эффектами, так как они выводят из организма и жизненно важные тяжёлые металлы (микроэлементы), и ионы. Поэтому в последнее время в качестве детоксикантов пробуют использовать биологически активные вещества, обладающие не только антитоксическим, но и биологическим действием. В частности, витамин Е уменьшает степень токсического действия кадмия на живые организмы, положительно влияет на обменные процессы и скорость реакций перекисного окисления липидов [7, 8]; наночастицы серебра повышают уровень антиоксидантной защиты тканей и за счёт этого резистентность организма животных [9, 10]. Логично предположить, что антиоксидантные свойства витамина Е и наночастиц серебра способствуют повышению устойчивости мембран клеток органов и тканей к кадмию, что снижает степень его токсичности для организма.

В связи с этим целью нашей работы явилась оценка антитоксических свойств альфа-токоферола и наночастиц серебра при кадмиевом токсикозе по лейкоцитарному составу крови мышей.

Материалы и методы исследований. Материалы, представленные в работе, являются результатом собственных исследований, получены в период 2013–2014 гг. на базе вивария и кафедры органической, биологической и физколлоидной химии Уральской ГАВМ.

Объектом исследования служили половозрелые самцы белых лабораторных мышей с массой тела 22–24 г. Все животные находились в виварии на стандартном пищевом и водном рационе, при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде.

Для проведения экспериментальной работы были сформированы три опытные группы мышей по 60 особей в каждой. I гр. служила фоном токсического действия кадмия на организм животных. С этой целью мыши ежедневно *per os* (в составе корма) получали CdSO_4 в дозе 40 мг/на гол. (21,5 мг Cd^{2+} на гол.). Во II гр. введение кадмия сочетали с добавлением в пищу α -токоферола ацетата в дозе

4,5 мг на гол., или 0,225 IE на 1 г массы тела, а в III гр. — с добавлением в суточную дозу питьевой воды наночастиц серебра из расчёта 0,27 мг на гол. (0,014 мг на 1 г массы тела). Наночастицы серебра животные получали химическим методом.

Материал для исследований (кровь) получали после декапитации мышей, которую проводили под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, до интоксикации, через 1, 3, 7 и 15 сут. интоксикации.

Мазки крови изготавливали сразу после взятия материала, затем окрашивали по методу Романовского — Гимзы. Лейкоциты подсчитывали в камере Горяева, их морфологию оценивали с помощью иммерсионного объектива.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики на ПК с помощью табличного процессора «Microsoft Excel-2003» и пакета прикладной программы «Биометрия». Достоверность различий между группами оценивали с учётом непараметрического критерия Манна — Уитни.

Результаты исследований и их обсуждение. Накопление кадмия в живом организме сопровождается мобилизацией и поражением практически всех звеньев иммунитета, что обуславливает включение защитного иммунного механизма, направленного на борьбу с чужеродным воздействием [2]. Первичное представление о состоянии защитных сил в организме можно получить по лейкоцитарному профилю периферической крови [6].

В ходе экспериментального кадмиевого токсикоза общее количество лейкоцитов в крови животных опытных групп соответствовало границам нормы (табл. 1). Однако через сутки после начала поступления металла в организм у мышей I и II опытных гр. увеличивалось общее количество лейкоцитов на 27,8 и 58,6% ($p > 0,05$) соответственно по сравнению с показателями до интоксикации. Через 3 сут. токсикоза было отмечено снижение их уровня, как по сравнению с первыми сутками, так и их количеством до интоксикации. При этом в последующие дни эксперимента уровень клеток у мышей I гр. планомерно повышался, превышая исходную величину через 15 сут. металлотоксикоза на 8,43%, у животных II, наоборот, снижался и был меньше доинтоксикационного показателя на 21,67%. Следовательно, α -токоферол не оказывал

1. Динамика лейкоцитов в крови мышей ($n = 10$, $\bar{X} \pm S_x$)

Показатель	Группа	До интоксикации	Продолжительность кадмиевой интоксикации, сут.			
			1	3	7	15
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	I	7,12 $\pm$ 0,29	9,10 $\pm$ 0,20*	5,88 $\pm$ 0,20*	6,52 $\pm$ 0,17	7,72 $\pm$ 0,21
	II	6,92 $\pm$ 0,21	10,98 $\pm$ 0,13*	6,52 $\pm$ 0,25	5,94 $\pm$ 0,18*	5,42 $\pm$ 0,19*
	III	6,81 $\pm$ 0,15	6,28 $\pm$ 0,13	8,55 $\pm$ 0,56*	9,35 $\pm$ 0,47*	9,38 $\pm$ 0,37*

Примечание: * — $p > 0,05$ по сравнению с величинами до интоксикации

2. Лейкограмма крови мышей ($n = 10$; $\bar{X} \pm Sx$)

Показатель	Группа		До интоксикации	Продолжительность кадмиевой интоксикации, сут.			
				1	3	7	15
Нейтрофилы, %	п/я	I	3,80±0,20	4,00±0,29	3,00±0,25	3,80±0,24	8,60±0,16
		II	3,58±0,15	6,10±0,35	8,50±0,17	10,00±0,21	9,70±0,76
		III	4,00±0,20	4,60±0,26	4,80±0,21	4,40±0,26	4,40±0,26
	с/я	I	12,20±0,12	5,60±0,16*	7,40±0,33*	11,90±0,37	13,80±0,38
		II	13,64±0,21	15,70±0,37	13,10±0,40	15,80±0,57	19,40±0,95
		III	13,10±0,10	15,10±0,90	15,40±1,33	15,30±0,97	15,20±0,82
Эозинофилы, %	I		5,00±0,14	18,80±0,49*	18,10±0,37*	10,60±0,49*	10,40±0,16*
	II		5,00±0,14	6,90±0,1	7,80±0,29	8,20±0,29	5,80±0,39
	III		4,00±0,14	1,50±0,16	1,30±0,21	1,14±0,23	1,50±0,4
Базофилы, %	I		1,40±0,16	0,20±0,13	0,20±0,13	0,40±0,16	1,00±0,29
	II		1,46±0,121	1,33±0,3	2,75±0,56	1,66±0,37	1,40±0,16
	III		1,30±0,16	1,00±0,21	1,30±0,3	1,25±0,22	1,33±0,3
Моноциты, %	I		2,00±0,15	1,20±0,13*	1,20±0,13*	2,10±0,23	1,80±0,24
	II		3,10±0,16	2,8±0,25	2,6±0,54	1,60±0,16	2,20±0,32
	III		2,00±0,15	2,00±0,21	1,50±0,45	1,60±0,16	1,80±0,24
Лимфоциты, %	I		75,60±0,22	69,80±0,85*	70,10±0,52*	71,20±0,41	64,40±0,40*
	II		73,22±0,22	67,70±0,47	65,50±1,08	63,40±0,58	62,00±0,34
	III		75,6±0,22	76,20±0,98	75,70±1,58	76,80±1,13	76,20±0,92
Клетки Тюрка	I			—	0,40±0,26	—	0,20±0,13
	II						
	III						

Примечание: * — $p > 0,05-0,001$ по сравнению с величинами до интоксикации

влияния на иммунную реактивность организма мышей.

Изменчивость общего количества лейкоцитов в крови мышей III опытной гр. имела противоположную направленность. Начиная с 3 сут. токсикоза уровень клеток увеличивался, достигая максимума в конце периода исследований (табл. 1). Следовательно, наночастицы серебра стимулировали сопротивляемость организма мышей в условиях кадмиевого токсикоза. Наши результаты согласуются с данными Е.Н. Зининой, которая также установила, что коллоидное серебро способствует повышению резистентности организма кур [9].

При анализе лейкоцитарной формулы было установлено, что в крови мышей I опытной гр. в течение трёх суток интоксикации значимо снижалось относительное количество сегментоядерных нейтрофилов (в 2,18 раза; $p > 0,001$) и повышалось эозинофилов (в 3,14 раза; $p > 0,001$) (табл. 2). Уровень лимфоцитов хотя и оставался в границах нормы, но достоверно уменьшался на 8,3% ($p > 0,001$). Данные изменения свидетельствовали об иммуносупрессивном действии кадмия на органы лейкопоза. При этом ионы кадмия раздражали костный мозг, что обуславливало появление в кровяном русле клеток Тюрка. Через 7 сут. от начала эксперимента и до конца периода исследований в лейкоцитарной формуле мышей данной группы увеличилась процентная доля сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и снижалось эозинофилов. Однако в кровяном русле снова появились клетки Тюрка. Следовательно, начиная с 7-х сут. токсикоза в организме мышей

появлялись признаки иммуностимуляции органов лейкопоза, но они имели патологический характер, так как в лейкоцитарной формуле появлялись признаки регенеративного сдвига влево.

Анализ лейкограммы мышей II опытной гр. показал, что кадмиевый токсикоз, протекающий на фоне поступления α -токоферола, не сопровождался снижением сегментоядерных нейтрофилов (табл. 2). Уровень данных клеток планомерно нарастал, за исключением 3-х сут. токсикоза, но это происходило на фоне увеличения палочкоядерных нейтрофилов и отражало формирование регенеративного сдвига влево. Однако в организме мышей данной группы по сравнению с I была менее выражена аллергическая реакция, но сохранялся характер изменений лимфоцитов. Несмотря на некоторые отличия в динамике изменений лейкоцитарных клеток в мазках крови мышей II опытной гр. по сравнению с I, общая тенденция сдвигов свидетельствовала, что кадмий в их организме прямо (лимфоциты) и опосредованно (эозинофилы) воздействовал на клетки крови и соответственно органы лейкопоза. Следовательно, α -токоферол хотя и способствовал снижению уровня токсичности сульфата кадмия в организме мышей, вероятно, за счёт снижения скорости образования активных радикалов кислорода, но существенно на уровень иммунной защиты организма мышей не влиял.

У мышей III опытной гр. сдвиги в лейкограмме характеризовались отсутствием аллергической реакции, незначительной стимуляцией синтеза сегментоядерных нейтрофилов и сохранением лимфоцитов. Хотелось бы отметить, что в кро-

вяном русле мышей циркулировали в основном лимфоциты малого размера, преимущественно обладающие антиоксидескими свойствами и обеспечивающие полноценный иммунный ответ организма. Иммуностимулирующее действие серебра было установлено при использовании в рационе цыплят кросса Ross-308 коллоидного серебра [9]. О способности серебра повышать эффективность фагоцитоза сообщалось ранее [11].

Вывод. Таким образом, α -токоферол, обладая антиоксидантными свойствами, повышал устойчивость клеточных мембран лейкоцитарных клеток, что снижало степень прямого и опосредованного воздействия кадмия на клетки крови и органы лейкопоза, но существенно не влияло на иммунную реактивность организма мышей. Наночастицы серебра ингибировали как прямое, так и опосредованное воздействие кадмия, повышали защитные силы организма за счёт стимуляции синтеза сегментоядерных нейтрофилов и сохранения уровня лимфоцитов. Наночастицы серебра обладали более выраженными антиоксидескими свойствами в отношении лейкоцитарных клеток по сравнению с α -токоферола ацетатом.

Литература

1. Дзугоева Ф.С., Дзугоев С.Г., Такоева Е.А. и др. Влияние сульфата кадмия на функцию почек и гемодинамические показатели в эксперименте крыс // Физиология и патология почек и водно-солевого обмена: матер. междунар. науч. конф., посв. 100-летию со дня рожд. профессора Н.Н. Проининой. Владикавказ: Литера, 2012. С. 119–122.
2. Арушанян Э.Б., Эльбекян К.С. Иммунотоксичность солей металлов и защитная роль эпифизарных факторов // Биомедицинская химия. 2006. Т. 52. Вып. 6. С. 547–555.
3. Османов И.М. Роль тяжёлых металлов в формировании заболеваний органов мочевой системы // Российский вестник перенатологии и педиатрии. 1996. № 1. С. 36–39.
4. Радцева Г.Л., Ершова В.П., Радцев Ю.А. и др. Морфологические изменения в сосудистой системе и тканях органов иммунной системы при длительном поступлении кадмия // Материалы II межрегион. науч.-практич. конф. Кабард.-Балкар. отд.-ния Всерос. науч. общества анатомов, гистологов и эмбриологов совместно с мед. фак. Кабард.-Балкар. ГУ им. Х.М. Бербекова, посвящ. 30-летию медицин. факультета. Нальчик: Эль-Фа, 1997. С. 55–57.
5. Соцкий П.А., Дерхо М.А. Влияние кумуляции тяжёлых металлов в организме бычков на некоторые функции печени // Ветеринарный врач. 2008. № 1. С. 13–16.
6. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 3 (47). С. 196–199.
7. Бирюкова С.В. Влияние тяжёлых металлов и детоксикантов на продуктивные показатели цыплят-бройлеров: автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. Новосибирск: НГАУ, 2012. 16 с.
8. Осипова В.П., Ильина С.А., Есина О.И. и др. Применение витамина Е в качестве антидота при токсическом воздействии хлорида кадмия // Вестник АГТУ. 2005. № 6 (29). С. 53–58.
9. Зинина Е.Н. Местная защита слизистых оболочек и состояние резистентности у кур после применения серебро-содержащего препарата «Silvecoll»: автореф. дисс. ...канд. вет. наук. Саранск: Мордовский ГУ им. Н.П. Огарева, 2013. 17 с.
10. Ткач О.Б., Трохимчук А.К., Левицкий А.П. Биохимические маркеры воспаления и антиоксидантной защиты в тканях полости рта крыс при воздействии липополисахарида и наночастиц золота и серебра. URL.: <http://www.herald.cjm.ua/2013/03/13/13pdf> (дата обращения 10.08.2014).
11. Лобанов А.А., Чернова С.Н., Андронов С.В. и др. Воздействие металлического серебра на фагоцитарную активность нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью лёгких // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т. XVI. № 2. С. 43.