

**Аралбаева А.Н.¹, Маматаева А.Т.¹,
Утегалиева Р.С.¹, Мурзахметова М.К.²**

¹Алматинский технологический университет, Казахстан, г. Алматы,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Тяжелые металлы (в том числе, ртуть, свинец, кадмий) и их соединения относятся к числу распространённых и высокотоксичных веществ, способных к накоплению в живых организмах. Соли тяжелых металлов взаимодействуют с биологическими компонентами клеток, оказывая существенное влияние на функции организма. Ингибирование ферментов и необратимые конформационные изменения макромолекул могут приводить к изменению ряда метаболических процессов. Для оценки потенциальной патофизиологической роли тяжелых металлов при действии на организм и выяснения механизма изолированного и комбинированного действия токсикантов были проведены настоящие исследования влияния ацетата свинца и хлорида ртути на резистентность мембран эритроцитов в условиях *in vitro*.

Результаты наших исследований показали, что ацетат свинца и хлорид ртути дозозависимо снижают осмотическую и перекисную резистентность эритроцитов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект на гемолиз эритроцитов наблюдается при действии всех исследованных концентраций хлорида ртути. Сравнение проницаемости эритроцитарных мембран при действии возрастающих концентраций ацетата свинца и хлорида ртути показало, что оба токсиканта оказывают повреждающий эффект на состояние мембран эритроцитов, что приводит к дозозависимому повышению гемолиза эритроцитов. Высокие концентрации ацетата свинца и хлорида ртути, равные 20,0 мМ, вызывают максимальное значение гемолиза эритроцитов. Установлено, что совместное действие ионов тяжелых металлов на состояние мембран эритроцитов в условиях *in vitro* сопровождается снижением резистентности мембран эритроцитов. Показано, что значения эффекта комбинированного действия ионов Pb²⁺ и Hg²⁺ значительно превосходят значения, полученные при их изолированном влиянии.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что ионы тяжелых металлов как при изолированном, так и при совместном действии оказывают неблагоприятное влияние на состояние мембран эритроцитов.

Ключевые слова: тяжелые металлы, резистентность, гемолиз, эритроциты.

Aralbaeva A.N.¹, Mamataeva A.T.¹,
Utegalieva R.S.¹, Murzakhmetova M.K.²

¹Almaty Technological University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz

²al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Comparative study of heavy metals influence on erythrocyte membrane resistance *in vitro*

Heavy metals (including mercury, lead, cadmium) and their compounds are the common and highly toxic substances that can accumulate in living organisms. Salts of heavy metals interact with the biological components of cells, having a significant impact on body functions. Inhibition of enzymes and irreversible conformational changes in macromolecules can lead to changes in a range of metabolic processes. Investigations of the lead acetate and mercury chloride effects on erythrocyte membranes resistance *in vitro* condition were carried out to value the potential pathophysiological role of heavy metals on the body and to find out the mechanism of isolated and combined action of toxicants.

The study results have shown that lead acetate and mercury chloride dose-dependently reduce the osmotic and peroxide resistance of erythrocytes. It should be noted that the most significant effect on erythrocyte hemolysis is observed under the action of all concentrations of mercury chloride. Compari-

son of the erythrocyte membranes permeability under the action of lead acetate and mercury chloride increasing concentrations showed that both toxicants have a damaging effect on the state of erythrocyte membranes, which leads to a dose-dependent increase in hemolysis. High concentrations of lead acetate and mercury chloride, equal to 20.0 mm, cause the maximum hemolysis value of erythrocytes. The joint action of heavy metal ions on the state of erythrocyte membranes *in vitro* was accompanied by a decrease in the resistance of erythrocyte membranes. It is shown that the combined action of Pb^{2+} and Hg^{2+} ions effect significantly exceeds the values obtained with their isolated effect. The results of our studies have shown that both isolated and combined action of heavy metal ions have an adverse effect on the erythrocyte membranes state. The results of our studies have shown that both isolated and combined action of heavy metal ions have an adverse effect on the erythrocyte membranes state.

Key words: Heavy metals, resistance, hemolysis, erythrocytes.

Аралбаева А.Н.¹, Маматаева А.Т.¹,
Утегалиева Р.С.¹, Мурзахметова М.К.²

¹Алматы Технологиялық Университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: Maira.Murzakhmetova@kaznu.kz

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Ауыр металдардың эритроциттер мембраналарының төзімділігіне *in vitro* жағдайындағы әсерін салыстырмалы түрде зерттеу

Ауыр металдар (соның ішінде сынап, қорғасын, кадмий) мен олардың қосылыстары кең тараған тірі ағзаларда жинақталу қабілеті бар улылығы жоғары заттар қатарына жатады. Ауыр металдардың тұздары клеткалардың биологиялық компоненттерімен әрекеттесіп ағзаның қызметтеріне кері әсерін тигізеді. Ферменттердің жаншылуы және макромолекулалар конформациясының қайтымсыз түрде өзгеруі бірқатар метаболизм процестерінің ауытқуына алып келеді. Ауыр металдардың организмге әсер етуі кезінде патофизиологиялық роліне баға беру үшін және токсиканттардың жекелей және қосарлы әсерінің механизмін анықтау мақсатында қорғасын ацетаты және сынап хлоридінің эритроциттер мембранасының төзімділігіне әсері *in vitro* жағдайында зерттелді.

Біздің зерттеулеріміздің нәтижесінде сынап және қорғасын тұздары эритроциттердің осмотық және асқын тотықтық резистенттігін концентрацияға тәуелді түрде төмендететіні анықталды. Эритроциттер гемолизіне сынап хлоридінің барлық концентрацияларының әсері жоғары болғандығын ескеру керек. Қорғасын ацетаты мен сынап хлоридінің өспелі концентрацияларының эритроцит мембраналарының өткізгіштігіне әсерін салыстыру барысында, екі токсиканттың да эритроцит мембранасын зақымдап гемолиз дәрежесін арттыратындығы анықталды. Қорғасын мен сынап қосылыстарының 20,0 мМ тең болатын жоғары концентрацияларының әсері эритроциттердің дерліктей толық гемолизге ұшырауына алып келді. Ауыр металдардың эритроциттер мембраналарының күйіне қосарлы әсері *in vitro* жағдайында эритроцит мембранасының резистенттігінің төмендеуіне алып келетіні белгілі болды. Pb^{2+} және Hg^{2+} иондарының бірлескендегі зақымдаушы әсері олардың оқшаулы түрде әсер еткендегі эффектсінен жоғары болды. Сонымен, біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, ауыр металдардың иондары оқшаулы және қосарлы әсер ету кезінде эритроцит мембраналарына зақымдаушы әсер көрсетеді.

Түйін сөздер: ауыр металдар, резистенттілік, гемолиз, эритроциттер.

Введение

Среди большого разнообразия неблагоприятных факторов, влияющих на организм в экологически неблагоприятных регионах, особое место занимают соли тяжелых металлов. Тяжелые металлы (в том числе, ртуть, свинец, кадмий) и их соединения относятся к числу распространенных и высокотоксичных веществ способных к накоплению в живых организмах [1, 2, 3]. Соли свинца, кадмия, ртути и таллия считаются высокотоксичными веществами. В окружающую среду эти соединения поступают в результате

как природных процессов, так и деятельности человека.

Одним из основных источников выбросов свинца в атмосферу являются антидетонационные добавки к бензину. Другими источниками поступления свинца в атмосферу являются производство красок, полиграфическое дело, сжигание каменного угля и т.д. [4, 5, 6, 7].

Введение свинца в желудок крысам в течение 8 недель приводит к значительному накоплению свинца во всех отделах мозга [8]. Перекисное окисление липидов во всех исследованных образцах после действия свинца усиливается и на-

блюдается линейная корреляция между увеличением ПОЛ и уровнем свинца в ткани. Усиление ПОЛ сопровождается значительным угнетением активности антиоксидантных ферментов: СОД, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Изучение механизмов токсического действия свинца на печень выявило, что в печени тоже наблюдается значительная аккумуляция свинца, которая приводит к усилению липидной перекисидации и ингибированию активности антиоксидантных ферментов [9]. Следовательно, свинец усиливает окислительное повреждение мембран, и таким образом нарушает клеточные функции.

Среди химических соединений, оказывающих неблагоприятное действие на человека, особое место занимает ртуть. Ртуть является одним из наиболее известных токсикантов, оказывающих ряд неблагоприятных эффектов на здоровье человека и животных [10, 11, 12]. Поскольку источников поступления ртути в окружающую среду много, население подвергается влиянию ртути в повседневной жизни, в профессиональной деятельности, и при случайных воздействиях.

Ртуть существует в широком разнообразии физических состояний и химических форм, каждое из которых имеет уникальные характеристики целевой органоспецифичности [13, 14]. Ртуть и ее соединения применяются для производства взрывчатых веществ, хлора, некоторых пестицидов, лечебных препаратов, бумаги, при синтезе пластмасс, красителей, для заполнения измерительных приборов [3, 11]. Токсикант поступает в организм с питьевой водой, пищевыми продуктами, через легкие и кожу. Попадая в организм, ртуть поражает различные системы и органы, а также накапливается в различных тканях. Пары, проникая в организм, поражают желудочно-кишечный тракт, почки, нервную систему с характерным развитием психических и двигательных расстройств [11]. Наиболее высокое накопление токсиканта происходит в почках. Кроме того, имеются данные о токсическом действии $HgCl_2$ на печень при острой и хронической интоксикации. Ртуть относится к тиоловым ядам и вступает в химическое взаимодействие с сульфгидрильными группами белков [14], которым также принадлежит можно сказать исключительная, ключевая роль в осуществлении биохимических процессов и поддержании жизнедеятельности.

Химические элементы поступают в организм с аэрозолями через дыхательные пути и кожу, а также с пищей через желудочно-кишечный

тракт. На всех этапах прохождения через организм элементы могут претерпевать химические превращения, т.е. менять свою химическую форму в результате взаимодействия с биологическими структурами. Наиболее чувствительны к интоксикации неорганическими элементами структура и функции нуклеиновых кислот и белков, мембраны клеток и субклеточных органелл [15]. Следует отметить, что под влиянием токсикантов происходит изменение многих физиологических функций вплоть до развития патологических состояний [16, 17]. Показано, что ионы некоторых тяжелых металлов обладают гемолитическим действием, однако механизмы этих явлений еще недостаточно ясны [18, 19].

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует, что тяжелые металлы оказывают токсическое действие на организм. Поскольку тяжелые металлы встречаются в окружающей среде в виде гетерогенных смесей, совместное воздействие тяжелых металлов на биологические системы может привести к нарушению структуры и функции клеточных мембран, ингибированию ферментов, необратимых изменений белков и нуклеиновых кислот [2, 20, 21, 22].

Следовательно, проблема изучения изолированного и комбинированного действия токсикантов на организм человека и животных приобретает в настоящее время не только общегигиеническую, но и общепатологическую значимость.

Для оценки потенциальной патофизиологической роли тяжелых металлов при действии на организм и выяснения механизма изолированного и комбинированного действия токсикантов были проведены настоящие исследования влияния ацетата свинца и хлорида ртути на резистентность мембран эритроцитов в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследований

Объект исследования. В соответствии с целью и задачами работы проведены эксперименты на 10 взрослых лабораторных крысах-самцах массой 200-280 г в условиях *in vitro*.

Выделение эритроцитов. После декапитации крыс, кровь собирали в мерный стакан в присутствии гепарина. Эритроциты получали, центрифугируя кровь 10 мин при 1000g. Плазму и клетки белой крови удаляли, а эритроциты дважды промывали средой инкубации (СИ), содержащей 150 mM NaCl, 5 mM Na_2HPO_4 (pH-7,4). Полученную суспензию эритроцитов

использовали для проведения исследований. Перед опытом эритроциты предварительно разводили в 10 раз СИ и инкубировали 5 мин при 37°C.

Осмотическая резистентность эритроцитов. Состояние мембран эритроцитов изучали, инкубируя пробы в термостате при 37°C в течение 20 мин в растворах хлористого натрия различной концентрации (0,5 и 0,9 г/100мл). Оптическую плотность регистрировали при длине волны 540 нм. Уровень гемолиза клеток рассчитывали в процентах по отношению к 100%-ному гемолизу, вызванному раствором Na_2CO_3 в концентрации 0,1г/100мл.

Перекисный гемолиз эритроцитов. Интенсивность перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ) определяли по методу [23] в модификации [24]. Эритроциты разводили 5 раз СИ, инкубировали 10 мин при температуре 37°C и центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g. К осадку эритроцитов добавляли такой же объем СИ и по 100 мкл суспензии эритроцитов вносили в 2 мл среды инкубации. Перекисный гемолиз проводили с использованием 1 М раствора H_2O_2 . Для получения полного гемолиза использовали раствор додецилсульфата натрия в концентрации 8 г/100мл. Все пробы инкубировали в течение 2 час при 37°C, затем центрифугировали при 1000 g 10 мин. Оптическую плотность супернатанта измеряли при длине волны 540 нм.

Проницаемость эритроцитарных мембран. (ПЭМ) определяли по методу Колмакова, Радченко [25]. Принцип метода определения ПЭМ гемолиз в смесях изотонических растворов мочевины и хлористого натрия, обусловленный способностью мочевины быстро диффундировать через клеточную мембрану и, создавая гиперосмолярную концентрацию внутри эритроцита, вызывать его набухание с последующим гемолизом.

Суспензию эритроцитов добавляли в среду, содержащую растворы мочевины (18 г/л) и NaCl (0,9 г/100 мл) в соотношении 50:50. 100%-ный гемолиз вызывали, помещая суспензию эритроцитов в раствор Na_2CO_3 в концентрации 0,1г/100мл. После 3 минутной инкубации пробы центрифугировали при 1000 g 10 мин и определяли оптическую плотность надосадочной жидкости при длине волны 540 нм. Уровень гемолиза клеток рассчитывали в процентах по отношению к 100%-ному гемолизу, вызванному раствором Na_2CO_3 .

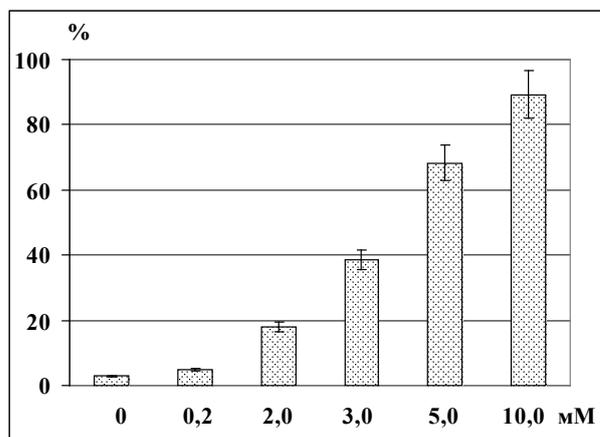
Статистические методы обработки полученных результатов. Полученные результа-

ты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel, рассчитывая среднюю арифметическую параметра, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней арифметической. С учетом критерия Фишера-Стьюдента зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты исследования и обсуждение

Для изучения влияния ацетата свинца и хлорида ртути на состояние клеточных мембран нами были проведены исследования действия возрастающих концентраций токсикантов на гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах NaCl . Известно, что в гипотоническом растворе хлорида натрия, эритроциты разрушаются вследствие «набухания» клеток и разрыва клеточной мембраны.

На рисунке 1 приведены данные по влиянию ацетата свинца на осмотическую резистентность эритроцитов в 0,5 г/100 мл NaCl . Из рисунка видно, что концентрация ацетата свинца равная 0,2 мМ оказывает незначительное влияние на степень гемолиза эритроцитов, и количество гемолизированных клеток остается на уровне контроля.



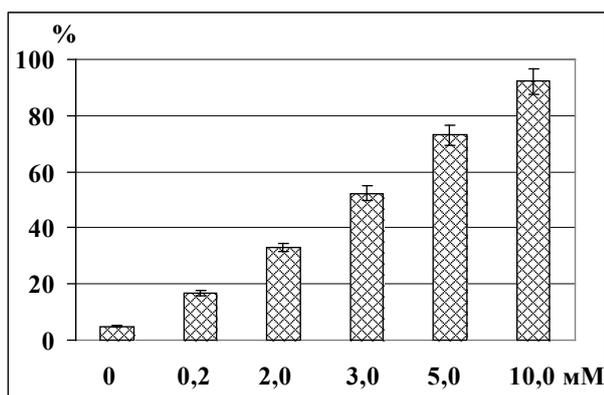
По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца, мМ;
по оси ординат: величина гемолиза, %.

Рисунок 1 – Влияние ацетата свинца на осмотическую резистентность эритроцитов

С увеличением концентрации токсиканта с 2,0 до 5,0 мМ наблюдается резкое повышение гемолиза эритроцитов до 68,3±5%, увеличение токсиканта до 10 мМ приводит к дальнейшему

повышению гемолиза, гемолиз достигает величины равной $89,3 \pm 5\%$ ($p \leq 0,005$).

Данные по влиянию хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов в физиологическом растворе NaCl (0,5 г/100 мл) представлены на рисунке 2. Действие токсиканта в концентрации 0,2 мМ приводит к резкому увеличению гемолиза в 4 раза по сравнению с контрольным значением гемолиза эритроцитов без добавления хлорида ртути. Дальнейшее повышение концентрации токсиканта до 2 и 3 мМ вызывает доза-зависимое увеличение гемолиза. Резкое увеличение гемолиза эритроцитов наблюдается при концентрации хлорида ртути равной 5 мМ, гемолиз достигает $73 \pm 5\%$. При более высоких концентрациях хлорида ртути наблюдалось дальнейшее увеличение степени гемолиза, которая достигла максимального уровня $92,2 \pm 5\%$ при концентрации токсиканта 10,0 мМ.



По оси абсцисс: концентрация хлорида ртути, мМ;
по оси ординат: величина гемолиза, %.

Рисунок 2 – Влияние хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов

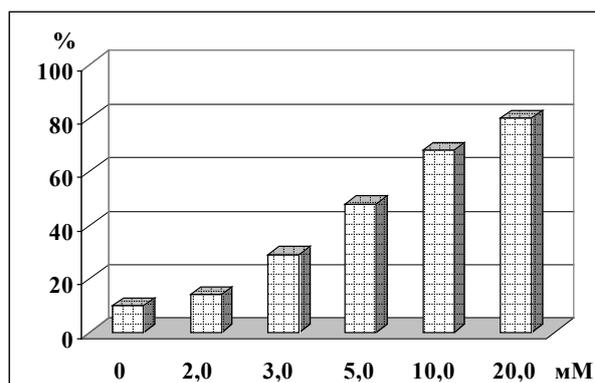
Сравнение результатов экспериментов влияния ацетата свинца и хлорида ртути на осмотическую резистентность эритроцитов в физиологическом растворе NaCl показали, что тенденция доза-зависимого увеличения гемолиза наблюдается при действии обоих токсикантов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект проявляет хлорид ртути при действии всех исследованных концентраций на осмотический гемолиз эритроцитов.

Результаты опытов по изучению эффектов хлорида ртути и ацетата свинца на перекисную резистентность эритроцитов представлены на рисунках 3 и 4.

Из рисунка 3 видно, что действие ацетата свинца в концентрации 2 мМ вызывает увеличение перекисного гемолиза эритроцитов в 1,5 раза по сравнению с контрольной величиной гемолиза в отсутствие токсиканта. Дальнейшее увеличение концентрации ацетата свинца от 2,0 до 20,0 мМ вызывает доза-зависимый рост гемолиза эритроцитов до 80 %.

Результаты экспериментов по влиянию хлорида ртути на перекисную резистентность эритроцитов показали аналогичные результаты как и при действии ацетата свинца на перекисный гемолиз эритроцитов. Как видно из рисунка 4, наличие в среде инкубации токсиканта в концентрации 2 мМ вызывает увеличение гемолиза эритроцитов в 2 раза по сравнению с контрольным значением и количество гемолизированных клеток достигает 20,0%. С повышением концентрации хлорида ртути от 2,0 до 10,0 мМ наблюдается доза-зависимое увеличение степени гемолиза от $20,0 \pm 1,0$ до $74,0 \pm 1,5$ %. Увеличение количества токсиканта до 20 мМ приводит к дальнейшему подъему уровня гемолиза эритроцитов, который составляет $85,0 \pm 1,5$ %.

Таким образом, результаты опытов по исследованию перекисной резистентности эритроцитов при действии хлорида ртути и ацетата свинца в концентрациях от 2,0 до 20,0 мМ показали, что хлорид ртути вызывает усиление перекисного гемолиза по сравнению с ацетатом свинца.

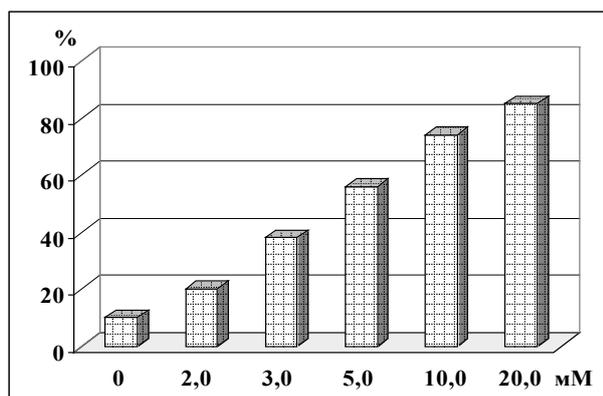


По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца в мМ;
по оси ординат: величина гемолиза в % ($p \leq 0,005$)

Рисунок 3 – Влияние ацетата свинца на перекисную резистентность эритроцитов

Известно, что токсические соединения могут оказывать свое действие не только при изолированном влиянии на организм. В большинстве

случаев токсиканты действуют совместно или комбинированно, оказывая влияние друг на друга, усиливая или ослабляя токсический эффект. Поэтому в следующей серии экспериментов были проведены сравнительные исследования изолированного и в сочетанного действия на эритроциты Pb^{2+} и Hg^{2+} .



По оси абсцисс: концентрация хлорида ртути мМ; по оси ординат: величина гемолиза в % ($p \leq 0,005$)

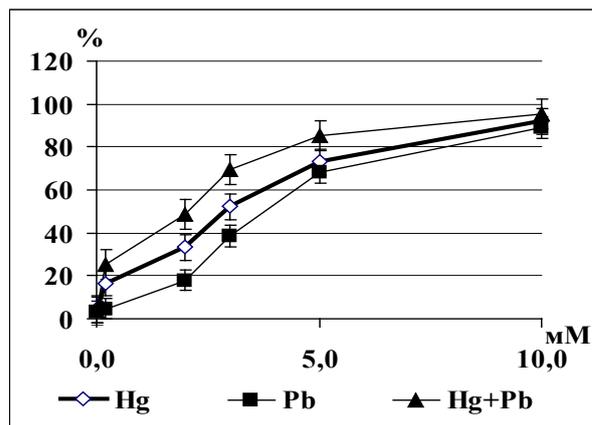
Рисунок 4 – Влияние хлорида ртути на перекисную резистентность эритроцитов

На рисунке 5 представлены результаты исследования изолированного и сочетанного действия ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на осмотическую резистентность эритроцитов. Ацетат свинца и хлорид ртути как при изолированном, так и при совместном действии оказывают доза-зависимый эффект на осмотический гемолиз эритроцитов. По сравнению с изолированным действием совместное действие токсикантов вызывают увеличение выхода гемоглобина из эритроцитов и повышены гемолиза при всех исследованных концентрациях.

Таким образом, полученные данные выявили, что комбинированное действие Pb^{2+} и Hg^{2+} приводит к еще большему повышению гемолиза эритроцитов по сравнению с их изолированным действием.

Результаты влияния совместного действия Pb^{2+} и Hg^{2+} на перекисный гемолиз эритроцитов приведены на рисунке 6. Из рисунка видно, что гемолиз эритроцитов увеличился по сравнению с изолированными действиями этих токсикантов при всех исследованных концентрациях. Следовательно, при комбинированном действии Pb^{2+} и Hg^{2+} увеличивают перекисный гемолиз мембран эритроцитов и тем самым увеличивают выход гемоглобина из эритроцитов.

Таким образом, результаты исследований показали, что эффект совместного действия ацетата свинца и хлорида ртути выше по сравнению с их изолированным действием. Следует отметить, что эффекты исследованных токсикантов не суммируются, так как гемолиз при их совместном действии выше на 10-15% по сравнению с их изолированным действием.



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути в мМ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

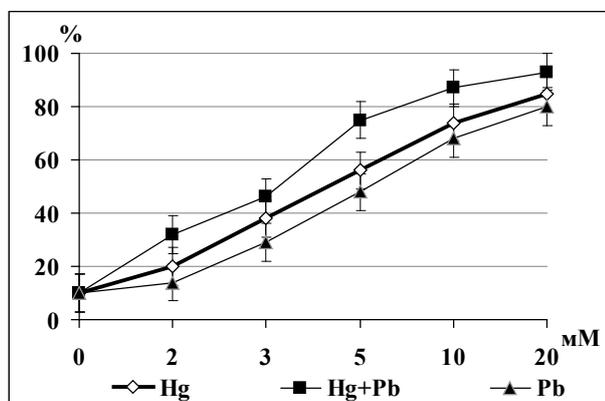
Рисунок 5 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на осмотическую резистентность эритроцитов

Для того, чтобы проверить какое влияние оказывают ацетат свинца и хлорид ртути при совместном действии на проницаемость эритроцитарных мембран были проведены следующие исследования. Как видно из рисунка 7, сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на проницаемость эритроцитарных мембран вызывает повышение гемолиза эритроцитов при всех исследованных концентрациях токсикантов.

Таким образом, результаты исследований по сравнению комбинированного действия ионов тяжелых металлов с их изолированным влиянием показали, что при совместном действии эффект исследованных токсикантов значительно превосходил значения, полученные при их изолированном действии.

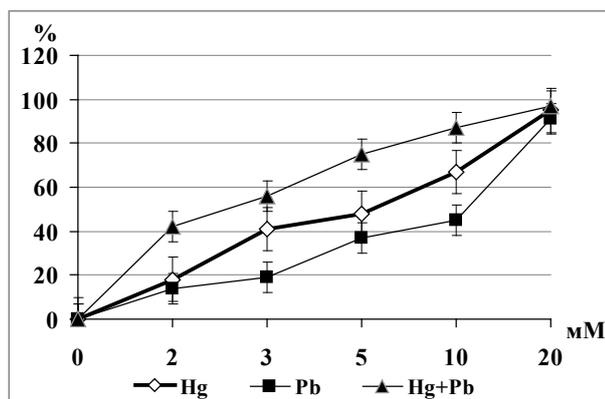
Необходимо отметить, что при сочетанном действии ацетат свинца и хлорид ртути вызывают более выраженные нарушения мембран эритроцитов, что проявляется в большем по сравнению с изолированным действием уровне гемолиза эритроцитов. Сопоставление данных по проницаемости эритроцитарных мембран и осмотической резистентности эритроцитов, по-

зволяет заключить, что наблюдается корреляция: чем больше проницаемость при совместном действии токсикантов, тем выше уровень гемолиза эритроцитов.



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути мМ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

Рисунок 6 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на перекисную резистентность эритроцитов



По оси абсцисс: концентрация ацетата свинца и хлорида ртути мМ; по оси ординат: величина гемолиза в %.

Рисунок 7 – Изолированное и сочетанное влияние ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} на проницаемость эритроцитарных мембран

Обсуждение результатов исследований

Тяжелые металлы, являясь продуктами производственной и бытовой деятельности человека, особо опасны и вредны для организма человека.

Как показали наши исследования, ацетат свинца в диапазоне концентрации от 0,2 до 10 мМ как в гипотоническом (0,5 г/100 мл), так и в физиологическом растворе NaCl доза-зависи-

мо повышали осмотический гемолиз мембран эритроцитов. При концентрации ацетата свинца равной 10 мМ наблюдалось увеличение гемолиза до максимальных значений $89,3 \pm 5\%$ ($p \leq 0.005$).

Аналогичные результаты получены при исследовании осмотического гемолиза эритроцитов под действием хлорида ртути. Исследование влияния ионов Hg^{2+} на состояние мембран эритроцитов показало, что при низких концентрациях (0,2 мМ) ионы резко повышали гемолиз эритроцитов, увеличивая уровень гемолиза в 4 раза по сравнению с контрольной величиной. Дальнейшее увеличение концентрации токсиканта дозозависимо снижало резистентность эритроцитов и при концентрации хлорида ртути равной 5-10 мМ наблюдается практически полный гемолиз эритроцитов.

При повышении концентрации токсикантов доза-зависимо увеличивается проницаемость мембран и перекисный гемолиз эритроцитов.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что гемолиз эритроцитов повышается с увеличением концентраций исследуемых токсических соединений. Ранее было показано, что Pb^{2+} повышает проницаемость мембран эритроцитов для катионов, снижает деформируемость эритроцитов, непосредственно взаимодействуя с гемоглобином, способен вызывать образование супероксидных радикалов [26]. В литературе имеются сведения, что гемолиз эритроцитов под действием тяжелых металлов связан с развитием перекисных процессов в мембране эритроцитов [18, 19, 26, 27]. Ранее было также предположено, что активация перекисного окисления липидов может вносить вклад в токсическое действие ионов Pb^{2+} у человека [28]. Кроме того, имеются данные, что перекисное окисление предшествует гемолизу. Активные формы кислорода, генерируемые металл-индуцированным автоокислением гемоглобина, способны к инициации процессов перекисного окисления липидов мембран, в результате чего изменяется физико-химическое состояние мембран

К настоящему времени большое значение приобретают исследования комбинированного действия токсикантов на организм. Изучение комбинированного действия химических веществ особо важно потому, что в окружающей среде содержатся тысячи видов вредных химических веществ и человек подвергается воздействию не одного какого-то соединения, а комплекса токсикантов. Кроме того, при комбинированном действии токсических соединений

эффекты могут отличаться от их изолированно-го воздействия [29]. Помимо самостоятельного влияния на различные функции организма многие чужеродные для человека вещества при комбинированном воздействии оказывают влияние друг на друга, усиливая или ослабляя токсическое действие [29].

Комбинированное влияние ионов свинца и ртути приводит к увеличению уровня гемолиза эритроцитов по сравнению с их изолированным действием. Изменение проницаемости мембраны эритроцитов под действием исследованных токсических соединений, по-видимому, происходит в результате изменения физико-химического состояния липидного бислоя мембран, что и способствует выходу гемоглобина из эритроцитов. Как показали наши исследования, совместное действие ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} приводит к резкому увеличению выхода гемоглобина из эритроцитов. Необходимо отметить, что при сочетанном действии токсикантов гемолиз значительно выше, чем сумма показателей гемолиза при их изолированном действии. Можно предположить, что при комбинированном действии происходит взаимная активация гемолитических эффектов ионов тяжелых металлов.

Заключение

Результаты наших исследований показали, что ацетат свинца и хлорид ртути доза-зависимо снижают осмотическую резистентность эритроцитов. Следует отметить, что наиболее существенный эффект на осмотический гемолиз

эритроцитов наблюдается при действии всех исследованных концентраций хлорида ртути.

Результаты опытов по исследованию перекисной резистентности эритроцитов показали, что действие хлорида ртути и ацетата свинца при концентрации токсикантов до 20,0 мМ показали, что хлорид ртути вызывает усиление перекисного гемолиза по сравнению с ацетатом свинца.

Сравнение проницаемости эритроцитарных мембран при действии возрастающих концентраций ацетата свинца и хлорида ртути показали, что оба токсиканта оказывают повреждающий эффект на состояние мембран эритроцитов, что приводит к дозозависимому повышению гемолиза эритроцитов. Высокие концентрации ацетата свинца и хлорида ртути, равные 20,0 мМ вызывают максимальное значение гемолиза эритроцитов.

Установлено, что совместное действие ионов тяжелых металлов на состояние мембран эритроцитов в условиях *in vitro* сопровождается снижением резистентности мембран эритроцитов. Показано, что эффект комбинированного действия ионов Pb^{2+} и Hg^{2+} значительно превосходят значения, полученные при их изолированном влиянии.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что ионы тяжелых металлов как при изолированном, так и при совместном действии оказывают неблагоприятное влияние на состояние мембран эритроцитов.

Конфликт интересов. Все авторы прочитали и ознакомились с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Литература

- 1 Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. – М.: Медицина, 1989 – 272 с.
- 2 Wu X., Cobbina S. J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2016. – Vol. 23. – P. 8244–8259.
- 3 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K. N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdiscip. Toxicol. – 2014. – Vol. 7, No 2. – P. 60–72.
- 4 Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // Toxicology. – 2011 – Vol. 283. – P. 65–87.
- 5 Flora G., Gupta D. and Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates // Interdiscip Toxicol. – 2012. – Vol. 5, No 2. – P. 47–58.
- 6 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N.. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdiscip. Toxicol.- 2014. – Vol. 7, No 2. – P.60-72.
- 7 Wani A.L., Ara A., and Usmani J.A. Lead toxicity: a review // Interdiscip. // Toxicol. – 2015. – Vol. 8, No 2.- P. 55–64.
- 8 Sandhir R., Julka D., Gill K.D. Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes // Pharmacol.Toxicol. – 1994. – Vol.74, No 2. – P.66-71.
- 9 Sandhir R., Gill K.D. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats // Biol.Trace Elem. Res. – 1995. – Vol.48, No 1. – P. 91-97.
- 10 Kazantzis G. Mercury exposure and early effects: an overview // Med. Lav. – 2002. -Vol. 93, N 3. – P. 139-147.

- 11 Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects // *Environ. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 47, No 10. – P. 4967-4983.
- 12 Magos L., Clarkson T.W. Overview of the clinical toxicity of mercury // *Ann. Clin. Biochem.* – 2006. – Vol. 43(Pt 4). – P.257-268.
- 13 Guzzi G., La Porta C.A. Molecular mechanisms triggered by mercury // *Toxicology.* – 2008. – Vol. 244, No 1. – P. 1-12.
- 14 Bernhoft R.A. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature // *J. Environ. Public Health.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 460508.
- 15 Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12, No 10. – P. 1161-1208.
- 16 Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // *Curr Top Med Chem.* – 2001. – Vol. 1, No 6. – P.529-539.
- 17 Valko M., Jomova K., Rhodes C. J., Kuc'a K., Musnlek K. Redox and non redox metal induced formation of free radicals and their role in human disease // *Arch. Toxicol.* – 2016. – Vol. 90. – P. 1–37.
- 18 Karai I., Fukumoto K., Kageyama K., Horiguchi S. Effect of lead in vitro on water metabolism and osmotic fragility of human erythrocytes // *Br. J. Ind. Med.* – 1982. – Vol. 39, No 3. – P.295-296.
- 19 Ahmad S., Mahmood R. Mercury chloride toxicity in human erythrocytes: enhanced generation of ROS and RNS, hemoglobin oxidation, impaired antioxidant power, and inhibition of plasma membrane redox system // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2019. – Vol. 26, No 6. P.5645-5657.
- 20 Фурдуй Ф.И., Хайдарли С.Х., Мамалыга Л.М. Комбинированное воздействие на организм экстремальных факторов. Кишинев: Штиина, 1985 – 140 с.
- 21 Lin X., Gu Y., Zhou Q., Mao G., Zou B. and Zhao J. Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells // *J. Appl. Toxicol.* – 2016. – Vol. 36. – P.1163-1172.
- 22 Venter C., Oberholzer H.M., Cummings F.R., Bester M.J. Effects of metals cadmium and chromium alone and in combination on the liver and kidney tissue of male Sprague-Dawley rats: An ultrastructural and electron-energy-loss spectroscopy investigation // *Microsc. Res. Tech.* – 2017. – Vol. 80, No 8. – P. 878-888.
- 23 Покровский А.А., Абрарова А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов // *Вопр. Питания.* – 1964. – № 16. – С. 44-49.
- 24 Мирошина Т.Н., Мурзахметова М.К., Утегалиева Р.С., Шайхынбекова Р.М., Михалкина Н.И. Корректирующее влияние индоламинов на состояние мембран эритроцитов при действии тяжелых металлов // *Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия биол.* – 2002. – № 3. – С. 80-86.
- 25 Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний // *Терапевтический архив.* – 1982. – Т.54, № 2. – С. 59-62.
- 26 Ribarov S.R., Benov L.C. Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1981. – Vol. 640, No 3. – P. 721 – 726.
- 27 Fernandes A., Mira M.L., Azevedo M.S., Manso C. Mechanisms of hemolysis induced by copper // *Free Radic. Res. Commun.* – 1988. – Vol. 4, No 5. – P. 291-298
- 28 Nikolić R., Krstić N., Jovanović J., Kocić G., Cvetković T.P., Radosavljević-Stevanović N. Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione // *Toxicol. Ind. Health.* – 2015. – Vol. 31, No 3. – P. 239-246.
- 29 Carpenter D.O., Arcaro K.F., Bush B., Niemi W.D., Pang S., Vakharia D.D. Human health and chemical mixtures: an overview // *Environ. Health Perspect.* – 1998. – Vol. 106, No 6. – P. 1263-1270.

References

- 1 Ahmad S., Mahmood R. (2019) Mercury chloride toxicity in human erythrocytes: enhanced generation of ROS and RNS, hemoglobin oxidation, impaired antioxidant power, and inhibition of plasma membrane redox system. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, vol. 26, no 6, pp.5645-5657.
- 2 Bernhoft R.A. (2012) Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J. Environ. Public. Health*, vol. 2012:460508.
- 3 Carpenter D.O., Arcaro K.F., Bush B., Niemi W.D., Pang S., Vakharia D.D. (1998) Human health and chemical mixtures: an overview. *Environ. Health Perspect.*, vol. 106, no 6. pp. 1263-1270.
- 4 Driscoll C.T., Mason R.P., Chan H.M., Jacob D.J., Pirrone N. (2013) Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no 10, pp. 4967-4983.
- 5 Ercal N, Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. (2001) Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.*, vol.1, no 6, pp. 529-539.
- 6 Ershov Yu.A., Pleteneva T.V. (1989) *Mehanizmyi toksicheskogo deystviya neorganicheskikh soedineniy* [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. M.: Meditsina, 272 p.
- 7 Fernandes A., Mira M.L., Azevedo M.S., Manso C. (1988) Mechanisms of hemolysis induced by copper. *Free Radic. Res. Commun.* vol. 4, no 5, pp. 291-298.
- 8 Flora G., Gupta D. and Tiwari A. (2012) Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 5, no 2, pp. 47–58.
- 9 Furduy F.I., Haydarli S.H., Mamalyga L.M. (1985) *Kombinirovannoe vozdeystvie na organizm ekstremalnykh faktorov* [Combined effects on the body of extreme factors]. Kishinev: Shtiina, 140 p.

- 10 Guzzi G., La Porta CA. (2008) Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology*, vol. 244, no 1, pp. 1-12.
- 11 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K. N. (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.*, vol. 7, no 2, pp. 60–72.
- 12 Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. (2014) Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 7, no 2 pp. 60-72.
- 13 Jomova K., Valko M. (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, vol. 283, pp. 65–87.
- 14 Karai I., Fukumoto K., Kageyama K., Horiguchi S. (1982) Effect of lead in vitro on water metabolism and osmotic fragility of human erythrocytes. *Br. J. Ind. Med.* vol. 39, no 3. pp. 295-296.
- 15 Kazantzis G. (2002) Mercury exposure and early effects: an overview. *Med. Lav.*, vol. 93, no 3, pp. 139-147.
- 16 Kolmakov V.N., Radchenko V.G. (1982) Znachenie opredeleniya pronitsaemosti eritrotsitarnykh membran (PEM) v diagnostike hronicheskikh zabolevaniy [The value of determining the permeability of erythrocyte membranes (PEM) in the diagnosis of chronic diseases]. *Terapevticheskiy arhiv*. vol.54, no 2, pp. 59-62.
- 17 Lin X., Gu Y., Zhou Q., Mao G., Zou B. and Zhao J. (2016) Combined toxicity of heavy metal mixtures in liver cells. *J. Appl. Toxicol.*, vol. 36, pp. 1163-1172.
- 18 Magos L., Clarkson TW. (2006) Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann. Clin. Biochem.*, vol. 43(Pt 4), pp. 257-268.
- 19 Miroshina T.N., Murzahmetova M.K., Utegalieva R.S., Shajhynbekova R.M., Mihalkina N.I. (2002) Korrigiruyushee vliyaniye indolaminov na sostoyaniye membran eritrotsitov pri deystvii tyazhelykh metallov [Corrective effect of indoleamines on the state of erythrocyte membranes under the action of heavy metals]. *Vestnik KazNU im. Al-Farabi. Seriya biol.* no 3, pp. 80-86.
- 20 Nikolić R., Krstić N., Jovanović J., Kocić G., Cvetković T.P., Radosavljević-Stevanović N. (2015) Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione. *Toxicol. Ind. Health*, vol. 31, no 3, pp.239-46.
- 21 Pokrovskiy A.A., Abrarova A.A. (1964) K voprosu o perekisnoy rezistentnosti eritrotsitov [To the question about peroxide resistance of erythrocytes]. *Vopr. Pitaniya*, vol. 16, pp. 44-49.
- 22 Ribarov S.R., Benov L.C. (1981) Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 640, no 3. pp. 721 – 726.
- 23 Sandhir R., Gill K.D. (1995) Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol. Trace. Elem. Res.*, vol.48, no 1. – pp. 91-97.
- 24 Sandhir R., Julka D., Gill K.D. (1994) Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes. *Pharmacol. Toxicol.*, vol.74, no 2, pp. 66-71.
- 25 Valko M., Jomova K., Rhodes C. J., Kuc̆a K., Mus̆ek K. (2016) Redox and non redox metal induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch. Toxicol.*, vol. 90, pp. 1–37.
- 26 Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress (2005) *Curr Med Chem.*, vol.12, no 10, pp.1161-1208.
- 27 Venter C., Oberholzer H.M., Cummings F.R., Bester M.J. (2017) Effects of metals cadmium and chromium alone and in combination on the liver and kidney tissue of male Spraque-Dawley rats: An ultrastructural and electron-energy-loss spectroscopy investigation. *Microsc. Res. Tech.*, vol. 80, no 8, pp. 878-888.
- 28 Wani A.L., Ara A., Usmani J.A. (2015) Lead toxicity: a review. *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 8, no 2, pp. 55–64.
- 29 Wu X., Cobbina S. J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. (2016) A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 23, pp. 8244–8259.