

УДК 612.014.481 + 612.111.22 + 612.117.2 + 612.462.4

Шуваева В.Н., Тимошенко Т.Е., Дворецкий Д.П.

НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА КРОВИ КРЫС

(Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия)

В исследовании in vitro показано увеличение под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) с длиной волны 650 нм объема эритроцитов, деформируемости их мембран, вязкости крови и показателя гематокрита, а также снижение концентрации ионов Ca и Na.

Наши предыдущие исследования позволяют предположить, что воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) красного диапазона повышает устойчивость тканей к окислительному стрессу и сказывается не только на тонусе сосудов, но и на реологических свойствах крови [1, 2]. Целью данной работы было изучить влияние НИЛИ с длиной волны 650 нм на кровь *in vitro*, в условиях, исключающих воздействие НИЛИ на регулирующие системы организма: на средний объем эритроцита (MCV), осмотическую резистентность и деформируемость (IF) эритроцитарных мембран, показатель гематокрита (HCT) и концентрацию гемоглобина, степень агрегации эритроцитов, вязкость плазмы, крови и предельное напряжение сдвига (τ_0), а также на кислотно-щелочное равновесие крови (pH) и концентрацию в крови отдельных ионов, участвующих в регуляции транспорта воды и объема клеток.

Материалы и методы

У самцов крыс линии Вистар массой 250-350 г под наркозом (уретан, в/бр., 1-1.2 г/кг массы тела) после введения антикоагулянта (гепарин в/в 50 ЕД/100 г массы тела) забирали кровь из брюшной аорты либо из сонной артерии. Кровь облучали в термостатируемой ($37 \pm 0.3^\circ\text{C}$) кювете светодиодным лазером с длиной волны излучения 650 нм (плотность мощности – 15,6 мВт/см², в части опытов – 20 мВт/см², длительность облучения – 15 и 5 мин., соответственно) при непрерывном перемешивании. Кровь каждого животного разделяли на две равные порции, контрольную и опытную, подвергавшуюся облучению, для каждой из которых проводили исследования по нижеприведенным параметрам. Средний объем эритроцитов, показатель гематокрита и концентрацию гемоглобина определяли на гемоанализаторе (*AL Cellcounter 2000*, Германия), концентрацию ионов Na и Ca, а также величину pH в цельной крови – с помощью ионометрического преобразователя И-500 (Аквилон, Россия). Вязкость крови измеряли в микрореометре ВИР-75МБ (Россия). Вязкость плазмы определяли капиллярскопическим методом. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента на двустороннем уровне значимости для оценки достоверности разницы двух наблюдаемых частот ($p \leq 0.05$).

Результаты и их обсуждение

В ответ на облучение крови НИЛИ с длиной волны 650 нм зарегистрировано (табл.) увеличение объема эритроцитов, показателя гематокрита, деформируемости эритроцитарных мембран, снижение концентрации ионов Na и Ca в цельной крови.

Вследствие снижения относительно контроля концентрации ионов Na и Ca в облученной красным светом цельной крови повышается внутриклеточная концентрация этих ионов и создается осмотический градиент, обеспечивающий вхождение воды внутрь клеток, что приводит к увеличению объема эритроцитов. Это может быть фактором, приводящим к увеличению показателя гематокрита (табл.) и вязкости крови (рис. 1). В суспензии эритроцитов в аутологичной плазме (HCT=40 об.%) после облучения вязкость достоверно увеличивалась при скорости сдвига $1,17 \text{ c}^{-1}$ и выше. При этом предельное напряжение сдвига τ_0 (предел текучести), возрастало примерно в 2 раза относительно контроля, тогда как вязкость плазмы и степень агрегации эритроцитов не изменялись (табл.). После воздействия на кровь лазера, излучающего красный свет, отмечалась тенденция к снижению осмотической стойкости эритроцитов: уровень гемолиза возрастал примерно на 30%. при концентрациях гемолизующего раствора 0,35% ($74,28 \pm 15,06$ в контроле и $95,97 \pm 2,73$ после облучения) и 0,40% ($72,30 \pm 13,37$ в контроле и $95,73 \pm 2,68$ после облучения). Кроме того уменьшался индекс фильтруемости (IF) эритроцитов, что свидетельствует об увеличении деформируемости мембран клеток после облучения *in vitro*. В литературе в качестве основных механизмов, регулирующих объем клеток, рассматриваются реакции трансмембранного ионного транспорта [3, 4]. В то же время известно, что способность эритроцитов осуществлять газовый транспорт связана со свойствами их мембран (эластичность, деформируемость) [5]. Эритроциты увеличенного объема имеют округлую и менее жесткую форму, препятствующую образованию из них «монетных столбиков» [6]. При изменении агрегационной способности эритроцитов изменяется такой реологический показатель, как вязкость крови. В наших опытах под влиянием облучения увеличивались и вязкость крови, и предельное напряжение сдвига, характеризующее прочность эритроцитарных агрегатов [7]. Вероятно, в силу того, что белки плазмы, в основном, фибриноген, были вовлечены в агрегацию, вязкость плазмы не увеличилась, несмотря на поступление воды в клетки; под влиянием облучения возможна и повышенная сорбция плазменных белков на поверхности эритроцитов [8].

Хотя степень агрегации эритроцитов не увеличивалась, поскольку нарушение в облученной крови дискоидной формы эритроцитов препятствовало агрегации, вязкость крови возрастала. Это могло происходить либо за счет увеличения объема эритроцитов, либо за счет упрочения существующих агрегатов, что может быть обусловлено изменением как поверхностного электрического заряда мембраны эритроцитов, так и заряда плазменных белков. Наиболее значимо изменения объема и агрегационных свойств эритроцитов, приводящие к изменению вязкости движущейся крови, должны сказываться на кровотоке в мелких артериях и капиллярах, где скорость потока ниже, а напряжение сдвига на стенке много выше, чем в крупных сосудах. При действии красного НИЛИ на кожу человека излучение проникает на глубину около 4 мм [9], поэтому его непосредственное влияние на капиллярную кровь вполне вероятно.

Таблица - Показатели крови и концентрация ионов в крови крыс линии Вистар после облучения крови *in vitro* при температуре 37°C ($x \pm t_d$)

Показатели	Излучение красной области спектра ($\lambda = 650\text{nm}$)	
	Контроль	После облучения
Средний объем эритроцита, MCV, фл (1×10^{-15} л) (n = 28)	47,5 \pm 1,0	51,1 \pm 1,2*
Гематокрит, HCT, об.% (n = 28)	24,3 \pm 1,1	27,8 \pm 1,4*
Гемоглобин, HGB, г/л (n = 28)	10,2 \pm 0,9	10,1 \pm 1,1
Деформируемость эритроцитов IF, отн.ед. (HCT=15 об.%) (n=12)	3,70 \pm 0,37	2,25 \pm 0,43*
Степень агрегации эритроцитов, % (n=11), (HCT=40 об.%)	19,31 \pm 4,6	19,33 \pm 4,54
Предельное напряжение сдвига суспензии эритроцитов в плазме (HCT=40 об.%) τ_0 , мПа (n=14)	2,80 \pm 0,37	5,04 \pm 0,36*
Вязкость плазмы, отн.ед.(n=14)	1,42 \pm 0,11	1,43 \pm 0,10
[Na ⁺], мМ/л (n = 8)	140 \pm 7	119 \pm 11*
[Ca ²⁺], мМ/л (n = 12)	2,41 \pm 0,06	2,14 \pm 0,05*
pH (n=10)	7,83 \pm 0,05	7,91 \pm 0,08

n- количество животных; *– $p \leq 0,05$ достоверность отличия от контроля

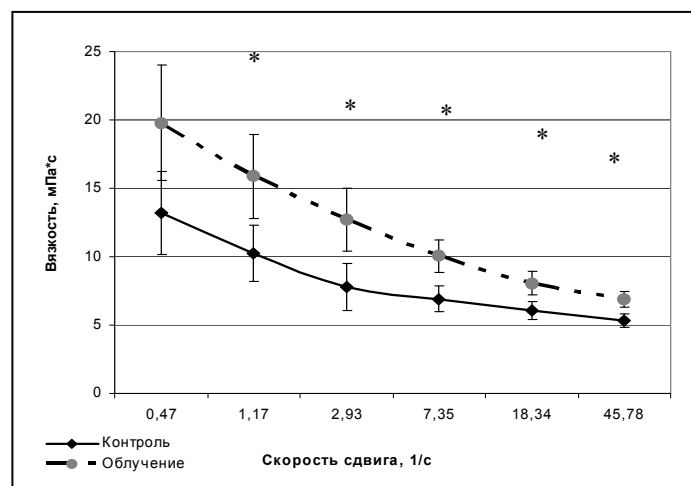


Рисунок 1 - Зависимость вязкости от скорости сдвига в необлученной (нижняя кривая) и облученной ($\lambda=650$ нм) суспензии эритроцитов, HCT=40 об.%. По оси ординат – вязкость, мПа·с; по оси абсцисс – скорость сдвига, 1/с. * - $p \leq 0,05$

Результаты наших исследований позволяют говорить о протекторном действии НИЛИ красной области спектра на клетки крови. Такое облучение, очевидно, продлевает срок жизни эритроцитов, замедляя дегидратацию клеток [10]. Помимо положительного влияния НИЛИ на кровь, возможно и негативное, повышающее вязкость крови и вероятность гемолиза.

Литература

1 Дворецкий Д.П., Тимошенко Т.Е., Белобокова Н.К. Влияние низкоинтенсивного излучения гелий-неонового лазера на микроциркуляцию в брыжееке крыс // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 2004. - Т.90. - №11. - С. 1356-1369.

2 Линькова Н.С., Горшкова О.П., Шуваева В.Н., Дворецкий Д.П. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения красного спектра на некоторые свойства эритроцитов крыс линии Wistar // Бюлл. эксперим. биол. и мед., 2008. - Т. 145. - №1. - С. 12-14.

3 Alexander R.T., Grinsten S. Na^+/H^+ exchangers and regulation of volume // *Acta Physiol*, 2006. - Vol. 187. - P. 159-167.

4 Kristensen K., Koldkjaer P., Berenbrink M. Wang T. Oxygen-sensitive regulatory volume increase and Na transport in red blood cells from cane toad, *Bufo marinus* // *J. Experim. Biol.*, 2007. - Vol. 210. - P. 2290-2299.

5 Зинчук В.В., Максимович Н.А., Борисюк М.В. Функциональная система транспорта кислорода. – Гродно, 2003.

6 Chicha I., Suzuki Y., Tateishi N., Maeda N. Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation; pH dependency and cell morphology // *Am.J.Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2003. Vol. 284. - P. H2335-H2342.

7 Ройтман Е.В., Фирсов Н.Н., Дементьева М.Г. и соавт. Термины, понятия и подходы к исследованиям реологии в клинике // *Тромбоз, гемостаз и реология*, 2000. - №3 (3). - С. 5–12.

8 Новиков А.Г. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в комплексном лечении больных с посттравматическим церебральным арахноидитом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - Саратов, 1998. - 24 с.

9 Барун В.В., Иванов А.П., Волотовская А.В., Улащик В.С. Спектры поглощения и глубина проникновения света в нормальную и патологически измененную кожу человека // *Журнал прикладной спектроскопии*, 2007. - Т.74. - №3. - С. 387-394.

10 Lang F., Lang K., Wieder T., Myssina S., Duranton Ch., Huber S. Cation channels, cell volume and the death of erythrocyte // *Pflügers Arch*, 2003. - Vol. 447. - P. 121-125.

Тұжырым

Толқын ұзындығы 650 нм, қарқындылығы төмен лазер сәулесінің әсерінен кейін *in vitro* эритроциттер көлемінің, мембраналардың қалыпсыздануының, қан тұтқырлығының және гематокрит көрсеткіштерінің жоғарылағаны, сонымен қатар Са және Na иондарының концентрациясы төмендегені анықталды.

Summary

We investigated *in vitro* effect of low-intensity laser (LILR) with a wavelength of 650 nm on hematological and rheological parameters of blood and the concentration of Ca^{2+} and Na^+ in Wistar rats. We are demonstrate an increase under the influence of LILR on erythrocyte deformability, blood viscosity and hematocrit index.

УДК 330.34(574)

Яковлева Н.А., Гончарова Т.Г., Лимешкина Е.С.*,
Альмурзаева С.И.*, Мартынова В.И., Зиганшин Р.К.

СНИЖЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ КАК ВАЖНЕЙШЕЕ УСЛОВИЕ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ АКТЮБИНСКОЙ ОБЛАСТИ (ТОО «Центр охраны здоровья и экопроектирования», г. Алматы; *Управление природных ресурсов и регулирования природопользования Актюбинской области, г. Актобе, Казахстан)

Одним из условий устойчивого развития Актюбинской области является обеспечение экологической безопасности, предотвращение риска влияния на здоровье населения негативных факторов окружающей среды. В исследовании дана оценка риска для здоровья населения загрязнения природных сред, представлены результаты накопления металлов в биологических средах детей г. Актобе. Установлены целевые показатели здоровья населения, качества окружающей среды, уровня риска для здоровья населения.

Обеспечение экологической безопасности, снижение экологического риска для здоровья населения в первую очередь актуально для интенсивно развивающихся регионов. К таким регионам с полным правом относится Актюбинская область, которая является признанным лидером хромдобывающей и хромперерабатывающей промышленности, перспективной с точки зрения нефтегазового потенциала.

Согласно результатам предыдущих исследований, на территории области сформировалась устойчивая хромовая биогеохимическая провинция, что привело к увеличению передвижения хрома в биосфере: почва – растения – животные – человек [1].

Максимальный удельный вес выбросов загрязняющих веществ области принадлежит предприятиям, расположенным в г. Актобе, где проживает около половины всего населения области. В связи с этим, устойчивое развитие данного города во многом определяет устойчивость развития области в целом.

Материалы и методы

Исследование проведено в 2007-2009 годах в рамках бюджетных программ. Оценка загрязнения атмосферного воздуха выполнена по материалам расчетов рассеивания, по данным стационарных постов

наблюдения, путем проведения выборочных замеров атмосферного воздуха. Выполнен полуколичественный спектральный анализ содержания в пробах почвы 40 химических элементов (хром⁺⁶-спектрометрическим методом), количественный анализ содержания в пробах растений тяжелых металлов. Оценка качества питьевой воды, воды поверхностных водоисточников проведена по данным мониторинга системы Казгидромет, Горводоканал, путем проведения выборочных лабораторных исследований.

Состояние здоровья населения оценено по данным официальной статистики, по материалам отчетных форм 112/у. Определен уровень содержания 25 химических элементов в пробах волос детей дошкольного возраста, посещающих 2 детских сада, расположенных в районах г.Актобе, отличающихся по уровню загрязнения объектов окружающей среды. Оценка риска влияния экологических факторов на состояние здоровья населения проведена по утвержденным методикам.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что территория города неоднородна по уровню загрязнения атмосферного воздуха, наиболее неблагоприятные районы прилегают к промзоне и железнодорожному вокзалу. Среди веществ, контролируемых в атмосферном воздухе города Актобе, превышение среднесуточных концентраций выявлено для двуоксида азота и формальдегида (ИЗА 8,9-10,6). Содержание валового хрома в почве города превышало нормативный уровень практически по всей территории, максимальный уровень достигал показателя 10800мг/кг (ПДК 90 мг/кг). Наиболее загрязненные участки находятся в промышленной зоне и прилегающей к ней селитебной территории. Установлено достоверное превышение уровня содержания хрома в картофеле и яблоках, выращенных на дачах, расположенных в зоне влияния промышленных предприятий, в сравнении с пробами, отобранными на контрольных дачных массивах.

Состояние здоровья населения г. Актобе отличается определенной региональной спецификой, характеризующейся ростом показателей заболеваемости населения по индикативным классам болезней (болезни эндокринной системы, нарушение питания и обмена веществ, болезни крови и кроветворных органов, болезни системы кровообращения).

В рамках данной работы впервые для условий г. Актобе и всей Актюбинской области была осуществлена оценка микроэлементного статуса детей дошкольного возраста. Установлено, что у детей, посещающих детский сад в загрязненной зоне, наряду с повышенным содержанием хрома в волосах наблюдается дефицит ряда эссенциальных элементов, в первую очередь кобальта, меди, цинка, селена.

Использование методологии оценки риска позволило выявить приоритетные факторы, оказывающие воздействие на здоровье населения.

Расчет доз поступления в организм химических веществ ингаляционным путем проведен по стандартному сценарию для условий селитебной зоны, при котором суточная экспозиция для населения составляет 24 ч. (наиболее консервативный сценарий). Расчет доз поступления веществ при случайном заглатывании воды во время купания в р. Илек проведен для периода в 45 дней в год, расчет доз при поступлении веществ с частицами почвы проведен для рекреационного периода (75дней/год).

Согласно полученным результатам, в г. Актобе уровень неканцерогенного риска кратковременного воздействия при ингаляционном пути поступления веществ не превышает 1. Ингаляционный риск хронического воздействия превышен для диоксида азота на всех постах контроля загрязнения атмосферного воздуха. Превышения установлены также для взвешенных веществ, сероводорода и формальдегида. Обобщенная характеристика риска представлена в таблице.

Таблица – Обобщенные результаты расчета неканцерогенных рисков по ПНЗ г. Актобе

№ ПНЗ	Нкр	Нхр	Нкр+хр
ПНЗ-1	0,34	6,05	2,09
ПНЗ-4	1,24	16,93	16,87
ПНЗ-5	0,92	11,69	12,23
В среднем по городу	0,6	15,24	16,54
Примечание - Нкр - индекс опасности кратковременного воздействия; Нхр - индекс опасности хронического воздействия; Нкр+хр - индекс опасности кратковременного и хронического воздействия			

Таким образом, для здоровья населения максимальный риск представляет не острое воздействие загрязнителей атмосферного воздуха, а их хроническое влияние. Ведущие вещества по уровню вклада в риск хронического воздействия – диоксид азота, взвешенные вещества, сероводород и формальдегид.

Установлено, что канцерогенный риск по территории города наблюдается в пределах от $2,4 \times 10^{-4}$ (п. Кирпичный) до $8,5 \times 10^{-4}$ (район ТЭЦ). В соответствии с принятой классификацией, данный уровень риска является средним. Такой уровень индивидуального канцерогенного риска ($1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$) в течение всей жизни приемлем для профессионалов и неприемлем для населения в целом; появление такого риска требует разработки и проведения плановых оздоровительных мероприятий в условиях населенных мест [2,3].

Таким образом, несмотря на низкие в сравнении с принятыми ПДК уровнями содержания шестивалентного хрома в атмосферном воздухе, он может представлять для здоровья населения канцерогенный риск средней степени. Уровни индивидуального канцерогенного риска, создаваемого бенз(а)пиреном и формальдегидом, являются низкими и минимальными, они не представляют реальной опасности для здоровья населения.

Неканцерогенный и канцерогенный риск при пероральном поступлении шестивалентного хрома из почвы минимальный. Выявлен минимальный неканцерогенный и канцерогенный риск при пероральном поступлении шестивалентного хрома с растениеводческой продукцией дачных массивов, при поступлении загрязняющих веществ с водой во время купания в р. Илек.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что наиболее опасным для здоровья является загрязнение атмосферного воздуха шестивалентным хромом.

Важным для обеспечения дальнейшего устойчивого развития региона является внедрение системы мониторинга и целевых показателей. Предложенные нами показатели для мониторинга и целевые показатели были сформированы по трем основным группам: здоровье населения; уровни риска; показатели загрязнения объектов окружающей среды.

Показатели здоровья населения

В качестве элементов обязательного мониторинга в системе оценки воздействия промышленных предприятий на окружающую среду и здоровье являются показатели здоровья населения: болезни эндокринной системы, нарушение питания и обмена веществ; болезни крови и кроветворных органов; болезни системы кровообращения.

Целевые показатели:

снижение уровня регистрации болезней эндокринной системы; нарушений питания и обмена веществ; болезней крови и кроветворных органов; болезней системы кровообращения.

Обязательным элементом должен стать биомониторинг содержания хрома в волосах детей дошкольного возраста.

Уровни риска воздействия факторов окружающей среды на здоровье населения

Система мониторинга должна включать показатели риска при различных путях поступления. По ежедневным данным стационарных постов наблюдения: риск хронического воздействия формальдегида, сероводорода, взвешенных частиц, в том числе по уровню дисперсности (PM 2,5 и PM 10), диоксида азота, диоксида серы, расчет суммарного риска хронического и острого воздействия по ПНЗ. Важным является оценка риска канцерогенного воздействия шестивалентного хрома при ингаляционном пути поступления.

Целевые показатели:

- 1) неканцерогенные риски - HQ и HI на уровне не выше 1;
- 2) канцерогенные риски - индивидуальный пожизненный канцерогенный риск (CR) на уровне 1×10^{-4} – 1×10^{-6} (в перспективе менее 1×10^{-6}).

Показатели загрязнения объектов окружающей среды

Мониторинг загрязнения объектов окружающей среды, проводящийся в регионе в настоящее время, должен быть существенно расширен и дополнен с учетом выявленных нами значимых уровней риска влияния отдельных факторов, регистрируемых на уровне ниже ПДК (например, хрома шестивалентного, содержащегося в атмосферном воздухе). В систему мониторинга должны быть включены новые показатели, такие как уровень содержания в атмосферном воздухе взвешенных частиц в зависимости от их дисперсности (PM 10 и PM 2,5).

Целевые показатели качества окружающей среды

Их установление основывается на определении воздействующей концентрации, дозы вещества, при которой не будет превышено значение принятого регионального целевого риска [4]. В частности, среднесуточное содержание в атмосферном воздухе хрома шестивалентного должно быть не выше $0,00004 \text{ мг/м}^3$ ($CR 1 \times 10^{-4}$).

Таким образом, проведенное исследование, основанное на комплексной гигиенической характеристике и оценке риска влияния промышленных предприятий на окружающую среду и здоровье человека, позволило определить основные направления снижения экологического риска для здоровья населения, что будет способствовать устойчивому развитию Актюбинской области.

Литература

1 Изтлеуов М.К., Картжанов У.А., Изтлеуов Е.М., Сулейменова Р.К., Бердешева Г.А. Круговорот хрома в биогеохимической провинции: материалы Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профессиональной патологии». – Караганда, 2005. – С. 272-277.

2 Онищенко Г.Г., Новиков С.М., Рахманин Ю.А., Авалиани С.А., Буштуева К.А. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. – М.: НИИ ЭЧ и ГОС, 2002. – 408 с.

3 Белоног А.А., Слажнева Т.И., Яковлева Н.А., Корчевский А.А., Абдрахманова Ш.З., Мащенко С.Н. Оценка риска воздействия на здоровье населения химических факторов окружающей среды: методические рекомендации. – Алматы, 2004. – 35 с.

4 Методические рекомендации. Критерии установления уровней минимального риска для здоровья населения от загрязнения окружающей среды. – М.:Санэпидмедиа, ГУ НИИ ЭЧ и ГОС имени А.Н. Сысина РАМН, Центр госсанэпиднадзора в г. Москве, 2003. – 40с.

Тұжырым

Ақтөбе облысының тұрақты дамуының бірден-бір шарты экологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету, тұрғындардың денсаулықтарына қоршаған ортаның жағымсыз факторларының ластануы салдарының ықпалын анықтау болып табылады. Зерттеу барысында, табиғи ортаның ластануының тұрғындардың денсаулығына ықпал етуіне баға берілді, Ақтөбе қаласының биологиялық балалар орталарында металдардың жинақталу нәтижелері жеткізілді. Тұрғындар денсаулығының, қоршаған ортаның сапасы, тұрғындар денсаулығына тәуекел ету межесіне мақсатты көрсеткіштер белгіленді.

Summary

One of the conditions for sustainable development of Aktobe oblast is to ensure environmental safety, prevention of the risk impact on the health of the population of negative environmental factors. In study the environmental risk assessment for the health of population were established, the results of metal accumulation in tissues of children Aktobe were given. The targets for public health, environmental quality, the level of risk to public health were established.