



УДК 577.121.2:599.323.4

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ $CdCl_2$ ЩУРАМ НА ПОКАЗНИКИ ЛЕЙКОПОЕЗУ

Л. П. Білецька

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: lilua70@gmail.com*

Показано, що у щурів, яким тривалий час (7 і 21 добу) щоденно вводили $CdCl_2$ (3 мг/кг маси), зростає кількість лейкоцитів у крові відповідно на 57,3 і 38,5%. Ці зміни відбуваються за рахунок збільшення на 54,7% вмісту сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів. Аналіз динаміки клітин системи лейкопоезу за дії $CdCl_2$ свідчить про те, що зменшення вмісту моноцитів сприяє зниженню вмісту агранулоцитів у крові щурів. Отже, у тварин, які зазнають тривалого впливу $CdCl_2$, стадія презентації антигена може відбуватися менш ефективно внаслідок зменшення кількості макрофагів. Разом зі зниженням вмісту імунокомпетентних клітин лімфоцитів такий ефект може погіршувати імунний захист у тварин.

Ключові слова: лейкоцити, кадмій, нейтрофільні гранулоцити.

Процеси лімфопоезу, тобто утворення, диференціація і дозрівання лімфоцитів, значною мірою визначають функціональну активність системи імунного захисту у людини і тварин [1, 5]. Показано, що експериментально введений тваринам Кадмій у вигляді $CdCl_2$ активно нагромаджується в кістковому мозку, зумовлюючи тут гіперплазію та інші пошкодження [9, 10]. Кадмій виявляє залежний від дози і тривалості надходження вплив на утворення лейкоцитів, надходження їх у русло крові та на функціональну активність цих клітин в організмі людини й експериментальних тварин [4, 6]. Система лейкопоезу може вважатися найбільш чутливим показником, що характеризує вплив на організм шкідливих чинників, а також фізіологічний стан і патологічні зміни, що відбуваються у функціонуванні різних органів і тканин.

Метою даної роботи було експериментально виявити клітини системи лейкопоезу, які найшвидше реагують на надходження в організм $CdCl_2$ і які найбільш уразливі до його дії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні використані білі нелінійні щурі-самці вагою 180–240 г. Досліди проводили згідно з загальними етичними принципами роботи з тваринами, ухвалені Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Було сформовано три групи тварин: дві дослідні (Д1, Д2) та контрольна (К), по 5 особин у кожній. Тваринам групи Д1 щодоби вводили у шлунок розчин $CdCl_2$ (3 мг/кг маси) впродовж

семи діб. Тваринам групи Д2 вводили CdCl_2 у зазначеній вище дозі упродовж двадцяти однієї доби. Щурам контрольної групи вводили у шлунок фізіологічний розчин за такою ж схемою. Для дослідження забирали кров тварин контрольної та дослідних груп, яку отримували через 24 год після закінчення експерименту.

З крові тварин за стандартною методикою виділяли лейкоцити, застосовуючи градієнт густини фіколу („Pharmacia Fine Chemicals”) і верографіну („Sprofa”) [3]. У пробірки вносили 1,5 мл сумішей цих реагентів із питомою густиною 1,119 і 1,077 г/см^3 , які готували за допомогою ареометрів. На цю суміш наносили 1 мл плазми, в якій містилися лейкоцити, і центрифугували при 3 000 г упродовж 15 хв із застосуванням горизонтального ротора. Отримували дві фракції лейкоцитів. Фракція клітин на межі між плазмою і шаром з питомою густиною 1,077 г/см^3 була збагачена лімфоцитами, а фракція клітин на межі між шарами з питомою густиною 1,077 і 1,119 г/см^3 – гранулоцитами. Клітини обох фракцій промивали фізрозчином, центрифугували при 3 000 г упродовж 5 хв й аналізували під мікроскопом цілісність і життєздатність клітин, яку перевіряли за допомогою фарбування 1% розчином трипанового синього [2, 8]. Крім того, цитологічний аналіз клітин проводили на мазках суспензій клітин, які фіксували метиловим спиртом (3–5 хв) і фарбували за Романовським–Гімзою. Ідентифікацію лейкоцитів і мієлоїдних клітин здійснювали за морфологічними ознаками [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що у щурів, які зазнавали тривалого впливу CdCl_2 , зростає вміст лейкоцитів, причому виразніші відмінності спостерігали на початковій стадії експерименту (табл. 1). Так, у крові тварин, яким вводили CdCl_2 упродовж 7-ми діб, вміст лейкоцитів зростав відносно контрольних тварин на 57,3%, а на 21-ту добу цей показник збільшувався на 38,5%. Ці результати дають підстави вважати, що на початковій стадії експерименту, головним чином, зростав на 54,7% вміст нейтрофільних гранулоцитів, зокрема, сегментоядерних форм цих клітин (рис. 1). Виявлений ефект може бути зумовлений мобілізацією клітин із кісткового мозку та пристінкового простору кровоносних судин, імовірно, внаслідок стресового стану, який розвивається в організмі під впливом катіонів Кадмію. Відомо, що стрес супроводжується секрецією у кров катехоламінів і глюкокортикоїдів, які стимулюють процеси вивільнення

Таблиця 1. Вміст лейкоцитів і їхніх популяцій у крові щурів, яким вводили кадмію хлорид ($M \pm m$, $n=5$)

Table 1. Effects of cadmium on the content of leukocytes and their populations in the peripheral blood of the rat ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Контроль (К)	Введення CdCl_2	
		7 діб	21 доба
		Група Д1	Група Д2
Лейкоцити, $1 \times 10^3/\text{мм}^3$	9,75 \pm 0,64	15,34 \pm 1,28*	13,50 \pm 0,95*
Паличкоядерні нейтрофіли, %	4,20 \pm 0,30	5,80 \pm 0,35*	4,70 \pm 0,42
Сегментоядерні нейтрофіли, %	23,60 \pm 1,50	36,50 \pm 2,2*	39,50 \pm 2,40*
Лімфоцити, %	63,50 \pm 2,80	49,00 \pm 4,00*	45,30 \pm 3,50*
Моноцити, %	4,70 \pm 0,20	4,10 \pm 0,24	3,50 \pm 0,30*

Примітка. * – вірогідність різниці становила $p < 0,05$ у показниках між контрольною і дослідною групами тварин.

гранулоцитів із органів гемопоезу та пристінкового пулу в кровоносних судинах [7]. На розвиток стресу у піддослідних тварин вказує зростання вмісту молодих клітин – паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів у крові тварин (табл. 1), наведені дані узгоджуються з результатами інших авторів щодо активації секреторної функції надниркових залоз під впливом катіонів Кадмію [7].

Установлений ефект активації процесів гранулоцитопоезу супроводжується вірогідним зниженням відносного вмісту лімфоцитів і збільшенням співвідношення нейтрофіли/лімфоцити у крові тварин (табл. 1, рис. 1). Слід зазначити, що у крові щурів, яким вводили кадмію хлорид, зменшується співвідношення між вмістом молодих і зрілих нейтрофілів, незважаючи на збільшення частки паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів на 7-му добу введення CdCl₂ (рис. 1).

Аналізуючи одержані дані про динаміку вмісту клітин системи лейкопоезу, необхідно відзначити зменшення вмісту моноцитів, що сприяє зниженню вмісту гранулоцитів у крові тварин, яким вводили кадмію хлорид (табл. 1).

ВИСНОВКИ

Під впливом кадмію хлориду, відбуваються зміни в клітинах імунної системи, які охоплюють різні популяції цих клітин. Зростання кількості лейкоцитів разом із збільшенням частки нейтрофільних гранулоцитів може свідчити про реакцію системи лейкопоезу на стрес, спричинений катіонами Кадмію. Під впливом такого стресового стану в тварин, яким вводили кадмію хлорид, відбувається пригнічення процесів лімфопоезу, на що вказує зменшення відносного вмісту лімфоцитів крові.

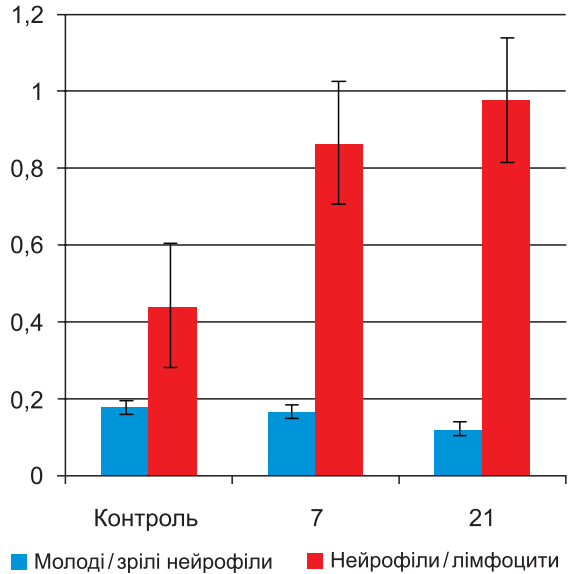


Рис. 1. Співвідношення між вмістом субпопуляцій лейкоцитів у крові щурів після тривалого введення тваринам кадмію хлориду ($M \pm m$, $n=5$)

Fig. 1. Relationship between the content of populations of leukocytes in the blood of rats after prolonged administration of cadmium chloride ($M \pm m$, $n=5$)

1. Грузєва О.В. Стан забруднення довкілля в країнах Європи та Україні. **Укр. наук.-мед. молодіжн. журнал**, 2007; (1–2): 36–40.
2. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., Привольнев Т.И. **Гематология животных и рыб**. М.: Колос, 1969. 240 с.
3. Boyum A.A. A one-stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood. **Scand. J. Clin. Lab. Invest**, 1968; 21(97): 51–76.
4. Holvoet P. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. **Ther. Apher**, 1999; 3: 287–293.
5. Liu J., Qu W., Kadiiska M.B. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. **Toxicol. Appl. Pharmacol**, 2009; 238(3): 209–214.

6. Li Y.S., Hayakawa K., Hardy R.R. The regulated expression of B lineage associated genes during B cell differentiation in bone marrow and fetal liver. **J. Exp. Med.**, 1993; 178(3): 951–960.
7. Min K.S., Ueda H., Tanaka K. Involvement of intestinal calcium transporter 1 and metallothionein in cadmium accumulation in the liver and kidney of mice fed a low-calcium diet. **Toxicol. Lett.**, 2008; 176(1): 85–92.
8. Mishell B.B., Shiigi S.M. **Selected Methods in Cellular Immunology**. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 1980: 486 p.
9. O'Flaherty E.J. Physiologically based models for bone-seeking elements. IV. Kinetics of lead disposition in humans. **Toxicol. App. Pharmacol.**, 1991; 118: 16–29.
10. Thompson J., Bannigan J. Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. **Reprod. Toxicol.**, 2008; 25(3): 304–315.

INFLUENCE OF LONG-TERM INJECTION OF CdCl₂ ON THE ACTIVITY OF LEUCOPOIESIS PROCESSES IN RATS

L. P. Biletska

Danylo Halytsky National Medical University of Lviv, 69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: lilua70@gmail.com

It was shown that long-term (7 and 21 day) administration of CdCl₂ (3 mg/kg) increases the number of white blood cells in rats appropriately for 57.3% and 38.5%, these changes we are mediated by 54.7% increase of the content of polymorphonuclear granulocytes. Analysis of the dynamics of cells of leukopoiesis system under the influence of CdCl₂ indicates that decreased monocytes content results in a decrease of number of agranulocytes in rats' blood. Thus, in animals, exposed to long-term influence of CdCl₂, the stage of antigen presentation might occur less effective due to a diminished number of macrophages. Such effect, together with a decrease of leukocytes content, could impair the immune defense in treated animals.

Keywords: leukocytes, cadmium, neutrophilic granulocytes.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ КРЫСАМ CdCl₂ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕЙКОПОЭЗА

Л. П. Білецька

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина
e-mail: lilua70@gmail.com

Показано, что у крыс, которым длительное время (7 и 21 сутки) ежедневно вводили CdCl₂ (3 мг/кг), возрастает количество лейкоцитов в крови соответственно на 57,3 и 38,5%. Эти изменения происходят за счет увеличения на 54,7% содержания сегментоядерных нейтрофилов. Анализ динамики клеток системы лейкопоэза при действии CdCl₂ свидетельствует о том, что уменьшение содержания моноцитов способствует снижению содержания агранулоцитов в крови крыс. Так что у животных, которые испытывают длительное воздействие CdCl₂, стадия презентации антигена может происходить менее эффективно вследствие уменьшения количества макрофагов. Наряду со снижением содержания иммунокомпетентных клеток лимфоцитов такой эффект может ухудшать иммунную защиту у животных.

Ключевые слова: лейкоциты, кадмий, нейтрофильные гранулоциты.

Одержано: 05.04.2012