

УДК 616-02:615.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ СДВИГИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОЛИКОВ ПРИ БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОКСИИ

Хисамова В.А., Габдрахманова И. Д.

*ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет
Минздрава России (450000, г. Уфа, Ул. Ленина 3, Hisamov7958@yandex.ru)*

Научный руководитель: проф. Еникеев Д.А.

В качестве материала изучения были использованы эритроциты кроликов при действии прерывистой барокамерной гипоксии в условиях разряжения воздуха, соответствующего 5-7 тыс. м. высоты в течение 24 часов. Исследование морфологических изменений эритроцитов проводилось в исходном состоянии, а также в разные сроки пребывания в камере (3,7,12,24 часа) и после действия пониженного барометрического давления - через 1,2,3,4,5 сутки. При этом преследовалась цель установления проявлений адаптивно-компенсаторных сдвигов со стороны морфологии красной крови. Так, через 3 часа действия барокамерной гипоксии наблюдался сфероцитоз, связанный с достоверным повышением толщины эритроцитов, который был обусловлен перераспределением периферической крови в виде выхода мелких, старых более сферических эритроцитов из депо крови, представляющий собой компенсаторную реакцию в ответ на гипоксическую гипоксию. Через 12, 24 часов действия пониженного парциального давления возникли признаки, отражающие адаптивные сдвиги, частности, в виде плеоцитоза. Последнее происходило при увеличении среднего диаметра и уменьшении средней толщины эритроцитов. Плеоцитоз оценивался в качестве позитивного адаптивного признака, который увеличивает функционирующую поверхность эритроцитов, способствует к снижению вязкости крови и повышению ее текучести и уменьшению величины СОЭ, а также как позитивный сдвиг реологических свойств циркулирующей крови, что имеет положительное значение для повышения качества перфузии в микроциркуляторном русле. Плеоцитоз наблюдался также и на 1, 2 сутки после действия гипоксической гипоксии.

Ключевые слова: размеры эритроцитов, барокамерная гипоксия, эксперимент.

UDC 616-02:615.7

MORPHOMETRICAL CHANGES OF ERYTHROCYTES OF RABBITS WITH ALTITUDE HYPOXIA

Khislamova V. A., Gabdrakhmanova I. D.

IN FGBOU Bashkir state medical University of Minzdrav of Russia (450000, Ufa, Ul. Lenina 3, Hisamov7958@yandex.ru)

As a material study was used rabbit erythrocytes under the action of intermittent altitude hypoxia in the conditions of the air discharge corresponding to 5-7 thousand meters altitude within 24 hours. The study of morphological changes of erythrocytes were carried out in the initial state, and at different times of stay in the chamber (3,7,12,24 hours) and after the action of the lowered barometric pressure - through the 1,2,3,4,5 day. In this case the aim was the establishment of the manifestation of adaptive-compensatory changes from the morphology of red blood. So, after 3 hours of the action of altitude hypoxia was observed in spherocytosis associated with a significant increase in the thickness of the erythrocytes, which was due to redistribution of the peripheral blood in the form of a small, old more spherical erythrocytes from the depot of blood, which is a compensatory reaction in response to hypoxic hypoxia. After 12, 24 hours of action of low partial pressure is showing signs that reflect adaptive changes, particularly in the form of pleocytosis. The last occurred with the increase in the average diameter and the average thickness reduction of red blood cells. Splenocytes was estimated as a positive adaptive trait that increases the functional surface of red blood cells, helps reduce blood viscosity and improve its fluidity, to decrease the ESR, as well as an improvement in the rheological properties of circulating blood that is positive for improving the quality of perfusion in the microvasculature. Splenocytes was also observed for 1, 2 days after the action of hypoxic hypoxia.

ВВЕДЕНИЕ.

По данным литературных источников хорошо известно об использовании пониженного барометрического давления с целью восстановления нормального физиологического состояния после перенесенных стрессов, не адекватных для организма физических перегрузок или лечения множества патологических состояний от бронхиальной астмы, сердечно-сосудистых заболеваний, заболевания желудочного тракта до нарушения обмена веществ и психоневрологии, а также нарушения репродуктивной функции [1]. Пребывание в барокамере сопровождается действием на организм ряда факторов - снижение парциального давления кислорода [2], пониженного барометрического давления, падение растворимости газов, в частности , азота. Придается особое значение адаптивному влиянию на организм гипоксической гипоксии [3,4]. С позиций диагностических значений в условиях пребывания организма в разреженной атмосферной среде широко применяются на практике и исследования гематологических показателей [5,6].

В данной работе целью ставилось определение морфометрических изменений в эритроцитах в условиях барокамерной гипоксии. При этом решались следующие задачи:

1. Установление параметров диаметра и радиуса эритроцитов и ретикулоцитов при гипоксической гипоксии.
2. Определение диапазона состояния сфероцитоза и планоцитоза в условиях нормы и кислородного голодания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве материала использовались эритроциты кроликов породы " Шиншилла". Было предпринято изучение различных размеров эритроцитов: диаметр, объем и толщина в условиях пребывания в барокамере при разрежении воздуха соответствующем 5-7 тыс. м. высоты в течение 24 часов. Исследование морфологических изменений эритроцитов проводилось в исходном состоянии, а также разные сроки пребывания в камере (3,7,12,24 часа) и после пребывания в барокамере - на 1,2,3,4,5 сутки.. Была составлена сводная эритроцитограмма, где приводились средний диаметр эритроцитов, процентное содержание, условно взятых для кроликов нормоцитов (от 6 мк до 7 мк), макроцитов (от 7,1 мк до 8,4 мк) и микроцитов (от 4,8 мк до 5,9 мк), а также величины наблюдаемого при этом анизоцитоза. Средний объем эритроцитов находили с помощью следующей формулы:
$$\frac{\text{количество делений гематокрита}}{\text{число млн. эритроцитов в 1мм}^3} \times 10 .$$

Средняя толщина эритроцитов определялась по формуле: $T = \frac{V}{\pi r^2}$, где T - средняя толщина эритроцита, V - средний объем эритроцита, πr^2 - средняя площадь эритроцита, r - средний радиус эритроцита.

Показатель планцитоза определялся по формуле $\frac{CDЭ}{T}$, где $CDЭ$ - средний диаметр эритроцитов, T - средняя толщина эритроцитов [7].

Установление статистической достоверности различий количественных показателей проводилось параметрически по t - критерию Стьюдента по программе М. Exell («Статистика»).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значимость исследования морфометрических данных эритроцитов определяется непосредственным влиянием их на текучесть, вязкость крови и скорости оседания эритроцитов (СОЭ). Исходя из этого, в данной работе было предпринято изучение размеров эритроцитов. Измерялись диаметр, объем и толщина в нормальных и экспериментальных условиях в динамике. Была составлена сводная эритроцитограмма, где приводились средний диаметр эритроцитов, процентное содержание, условно взятых для кроликов нормоцитов (от 6 мк до 7 мк), макроцитов (от 7,1 мк до 8,4 мк) и микроцитов (от 4,8 мк до 5,9 мк), а также величины наблюдаемого при этом анизоцитоза. Измерение диаметров эритроцитов с последующим выведением сводного среднего арифметического значения показывало, что непосредственно перед опытом последнее равняется 6,6 мк. Сводное процентное содержание нормоцитов составляло 69,2, макроцитов - 13,3, микроцитов – 17,5. Наблюдаемый при этом анизоцитоз находился в пределах 2,9 мк. (рис. 1).

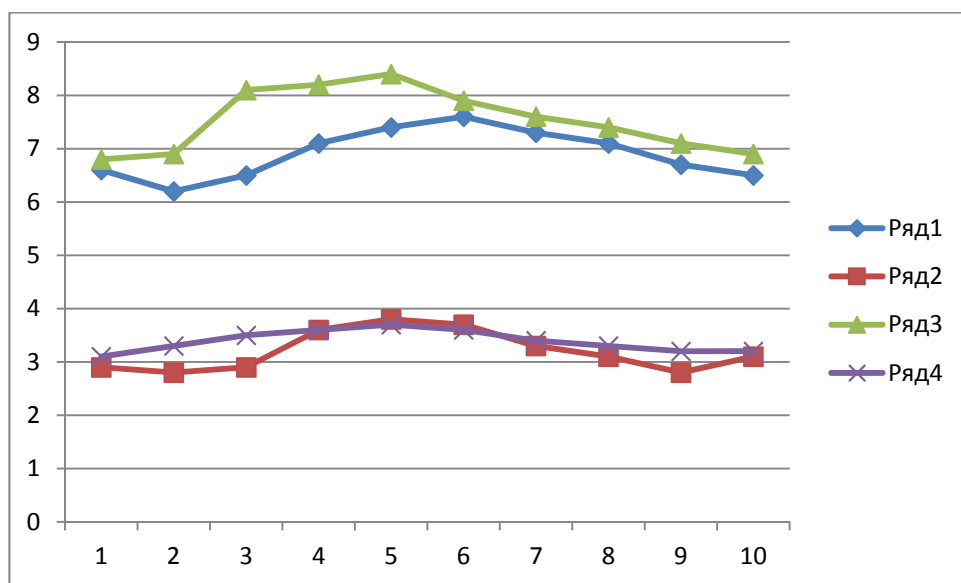


Рис. 1. Средний диаметр и величина анизоцитоза эритроцитов и ретикулоцитов в условиях барокамерной гипоксии и послеопытный период.

Ряд 1. Средний диаметр эритроцитов.

Ряд 2 . Средняя величина анизоцитоза эритроцитов.

Ряд 3. Средний диаметр ретикулоцитов.

Ряд 4. Средняя величина анизоцитоза ретикулоцитов.

1- Исходный уровень.

2- Через 3 часа пребывания в барокамере.

3- Через 7 часов пребывания в барокамере.

4- Через 12 часов пребывания в барокамере.

5- Через 24 часа пребывания в барокамере.

6- На 1 сутки после опыта.

7- На 2 сутки после опыта.

8- На 3 сутки после опыта.

9- На 4 сутки после опыта.

10- На 5 сутки после опыта.

С целью графического выражения происходящих изменений со стороны размеров эритроцитов при воздействии кислородной недостаточности, были составлены сводные эритроцитометрические кривые Прайс – Джонса в норме и в условиях эксперимента.

Эритроцитометрическая кривая, построенная по средним показателям диаметра эритроцитов непосредственно перед опытом, характеризовалась относительно ровными склонами и наличием одного «пика», достигающего по вертикали «26,6 %» (числа эритроцитов). Основание кривой по горизонтали занимало от 5,1 мк по 8,6 мк. «Пик» кривой по диаметру эритроцита соответствовал 6,6 мк. Если начало кривой по вертикали соответствовало «1,7», то конец - «1,2».

В первые часы гипоксии отмечалось снижение размеров эритроцитов. Так, после 3- часового пребывания кроликов в камере, как показывает сводная эритроцитограмма, средний диаметр эритроцитов математически значимо уменьшился до 6,2 мк. Также наблюдалось достоверное уменьшение количества нормоцитов и микроцитов до уровня 66,3% и 15,2% соответственно. Число макроцитов, наоборот, увеличивалось и составляло - 18,5%. Однако, некоторое увеличение содержания макроцитов и уменьшение числа микроцитов, с одной стороны, и понижение среднего диаметра эритроцитов, с другой, на первый взгляд создает противоречивое представление. Но, если учесть, что, во-первых, группа макроцитов и микроцитов содержит эритроциты с известной вариацией диаметра, среди которых могло увеличиться содержание клеток с малыми диаметрами,

а также, во-вторых, что произошло уменьшение процентного содержания нормоцитов, и при этом возможен аналогичный сдвиг размеров внутри группы их, становится ясным необоснованность предполагаемого выше противоречия. Мало того, такое обстоятельство, наоборот, показывает, что различные графы эритроцитограммы не дублируют одни и те же стороны, а отражают изменения размеров эритроцитов различных уровней и тем самым дают более полное представление об этом процессе.

В последующем происходило некоторое повышение размеров эритроцитов. При исследовании через 7 часов при гипоксии средний диаметр их составлял 6,5мк., который, однако, не имел статистический значимый характер. Число нормоцитов, продолжаясь уменьшаться, достигло 62,4% ($P < 0,05$). Содержание макроцитов и микроцитов, наоборот, продолжало увеличиваться и составляло соответственно 19,9% и 17,7% ($P < 0,05$).

Через 12 часов пребывания в условиях гипоксии наблюдалось дальнейшее увеличение размеров эритроцитов. Средний диаметр их равнялся 7,1мк. ($P < 0,05$). Продолжалось увеличение количества макроцитов (23,3%) и микроцитов (18,1%), а число нормоцитов все более уменьшалось ($P < 0,05$).

К концу опыта, т.е. через 24 часа пребывания животных в камере, изменения со стороны диаметра эритроцитов все более углублялись в таком же направлении. Сводный средний диаметр равнялся 7,4мк. ($P < 0,05$). Нормоцитов стало - 29,6% , микроцитов - 24,3% ($P < 0,05$).

Таким образом, в процессе опыта, в основном, наблюдалось увеличение диаметра эритроцитов, а также повышение процентного содержания макроцитов и микроцитов соответственно уменьшение относительного числа нормоцитов.

Со стороны диапазона вариации диаметра необходимо отметить, что заметный анизоцитоз наблюдался только через 12 часов (3,6 мк) в условиях гипоксии ($P < 0,05$).

На первые сутки постэкспериментального периода имело место дальнейшее нарастание описываемых изменений. Сводный средний диаметр равнялся 7,6 мк. ($P < 0,05$). нормоциты составляли 41,2 %, макроциты - 36,2%, микроциты - 32,6 % ($P < 0,05$). В последующем, наблюдалась тенденция постепенного возвращения описываемых показателей в исходное состояние. Исследование на вторые сутки после опыта показало начинающееся уменьшение диаметра эритроцитов, однако, сохранялась статистически значимая разница по сравнению с исходным уровнем. Средний диаметр равнялся 7,3 мк. ($P < 0,05$). Число нормоцитов стало увеличиваться и в этот срок равнялось 48,8 % ($P < 0,05$). Соответственно процентное содержание макроцитов и микроцитов начало уменьшаться; макроциты составляли 19,8 % ($P < 0,05$), а микроциты 31,4% ($P < 0,05$). Измерения на 3 и 4

сутки послеопытного периода показывали последовательные стадии нормализации приводимых показателей. Полное возвращение к исходному уровню происходило на пятые сутки. Со стороны степени анизоцитоза в потэкспериментальный период отмечалось постепенное уменьшение вариации диаметров эритроцитов. Если на 1 сутки после опыта степень анизоцитоза находилась в пределах 3,7мк., то на пятые сутки послеопытного периода в среднем составляла 3,1% мк.

Эритроцитометрическая кривая, составленная через 24 часа воздействия гипоксии, имела по сравнению с таковой в норме целый ряд отличий. Эти отличия прежде всего заключались в том, что «пик» кривой заметно переместился по горизонтали вправо, что указывало на увеличение среднего диаметра эритроцитов, а также расширилось основание кривой вследствие более выраженного при гипоксии величины анизоцитоза. «Пик» кривой соответствовал по горизонтали 7,8 мк, а основание кривой в целом находилось в пределах 5,1 мк.-11,0 мк. Кроме того, по склонам кривой отмечались довольно частые зубцы, указывающие на более выраженное количественное различие эритроцитов различного диаметра в условиях воздействия гипоксии. Начало кривой по вертикали соответствовало «11,8 %» (числу эритроцитов), что указывало на увеличение относительного количества микроцитов; а конец – «6,2 %» (то есть количеству наиболее крупных эритроцитов).

Таким образом, эритроцитометрическая кривая Прайс_Джонса при гипоксии в отличие от нормы, в основном, показала увеличение среднего диаметра эритроцитов и более выраженный анизоцитоз.

Исходный уровень перед экспериментом сводного среднего объема эритроцитов равнялся 61,9 мк³ (табл. 1). При обследовании крови через 3 часа опыта отмечалось некоторое уменьшение сводного среднего объема эритроцитов (59,9 мк³, P < 0,05).

Таблица 1

Морфометрические показатели красной крови в (M±m. n-10)

Сроки исследования	Объем эритроцитов	Толщина эритроцитов	Отношение диаметра к толщине эритроцитов	Показатель состояния эритрона
	(в мк ³)	(в мк)	(в единицах)	
Исходный уровень (норма)	61,9±1,1	1,8±0,04	3,66±0,13	-
После 3 часов пребывания в барокамере	59,3±1,2*	1,9±0,02	3,26±0,15*	сфероцитоз
После 7 часов пребывания в барокамере	61,9±2,3	1,8±0,03	3,60±0,14	-
После 12 часов пребывания в барокамере	64,4±2,4	1,7±0,3*	4,17±0,16**	паноцитоз
После 24 часов	68,1±2,5**	1,5±0,02*	4,9±0,14**	паноцитоз

пребывания в камере				
На 1 сутки после опыта	68,6±2,4*	1,5±0,01*	5,0±0,017*	планоцитоз
На 2 сутки после опыта	75,0±3,1*	1,8±0,02	4,0±0,16*	планоцитоз
На 3 сутки после опыта	71,5±2,9*	1,8±0,01	3,9±0,13*	-
На 4 сутки после опыта	63,4±2,2	1,75±0,03	3,9±0,15*	-
На 5 сутки после опыта	63,4±2,3	1,8±0,03	3,6±0,16	-

Примечание. * - $P < 0,05$. ** - $P < 0,001$. Сопоставление производилось с исходным уровнем

В последующие сроки эксперимента средний объем эритроцитов снова принимал исходные уровни, а концу опыта, то есть после 24-часового пребывания животных в камере описываемый показатель оказывался выше исходного уровня ($68,1 \text{ мк}^3$ $P < 0,05$).

Постэкспериментальный период характеризовался довольно высокими показателями объема эритроцитов. В первые сутки после опыта сводный средний объем эритроцитов равнялся $63,6 \text{ мк}^3$. ($P < 0,05$). На вторые сутки послеопытного периода этот показатель достиг максимальных выражений и был равен $75,0 \text{ мк}^3$ ($P < 0,05$). В последующем отмечалась тенденция постепенного снижения среднего объема эритроцитов. На 3 и 4 сутки после опыта сводные значения последних соответственно равнялись $71,5 \text{ мк}^3$ и $63,4 \text{ мк}^3$ ($P < 0,05$).

Следовательно, повышенный объем эритроцитов наблюдался и после пребывания животных в барокамере - в течение около 4 суток.

ВЫВОДЫ

1. Под действием барокамерной гипоксии у кроликов были отмечены математически значимые сдвиги в размерах эритроцитов. Через 3 часа наблюдалось снижение среднего диаметра эритроцитов, повышение средней толщины, величины анизоцитоза и как результат был зарегистрирован сфероцитоз со стороны эритронов.

2. Через 7 часов действия на организм низкого парциального давления кислорода изучаемые морфометрические показатели в основном вернулись к исходному уровню.

3. Через 12, 24 часа пребывания в камере у животных происходило повышение среднего диаметра и снижение средней толщины эритроцитов, наступил планоцитоз. Состояние планоцитоза отмечалось и на 1 и 2 сутки после опыта.

3. Таким образом, изменения эритроцитометрических показателей в условиях барокамерной гипоксии носили волнообразный характер: первые часы пребывания в барокамере происходило снижение, затем - возвращение к исходному уровню, а после 12

часов повышение величин исследуемых параметров. А на 4, 5 сутки эти показатели вернулись к исходному состоянию.

4. В механизме наблюдаемых сдвигов со стороны эритроцитов, очевидно, в первых часах пребывания в барокамере происходил перераспределительный процесс в циркулирующей крови, а в последующие сроки - активация эритроцитопоэза. Через 4-5 суток после действия гипоксической гипоксии пролиферативный процесс в красном костном мозге приобрел исходное перед началом опыта состояние.

5. Паноцитоз отражает позитивный адаптивный признак, который увеличивает функционирующую поверхность эритроцитов, способствует к снижению вязкости крови и к повышению ее текучести, к уменьшению величины СОЭ, а также является позитивный сдвиг в реологических свойствах циркулирующей крови.

Литература

1. <http://www.findpatent.ru/patent/248/2481814.html> © FindPatent.ru - патентный поиск, 2012-2017с.
2. Муркамилов И.Т. Гипоксическая барокамерная тренировка в лечении анемии при хроническом гломерулонефрите / Муркамилов И.Т. -Известия ВУЗов Киргизстана.-Бишкек: 2014. изд-во Наука и новые технологии, Бишкек.: № 6.-С. 71-76.
3. Меерсон Ф.З. Общий механизм адаптации и профилактики / Меерсон Ф.З. М.:2009.-341 с.
4. Лосев Н.И. Патофизиология гипоксических состояний и адаптации организма к гипоксии / Лосев Н.И., Хитров Н.К.и Грачев С.В.- М.:2010. – 182с.
5. Малкин В.Б. Острая и хроническая гипоксия./ Малкин В.Б. и Гиппенрейтер Е.Б. - М.: 2007. –145с.
6. Андреева А. Ю. Морфофункциональные характеристики эритроцитов *Scorpaena Porcus L.* в условиях гипоксии (эксперименты *in vitro*) // Автореф.дисс....к.б.н..- Севостополь: -2014. 27 с.
7. Большая медицинская энциклопедия. Эритроцитометрия.-2013.