

УДК 616-02:615.

РЕТИКУЛОЦИТАРНАЯ РЕАКЦИЯ КРОВИ КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОКСИИ

Хисамова В.А. Ишбульдина К. Р., 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.

Материалом исследования явились ретикулоциты периферической крови кроликов. Целью в работе ставилось установление ответной реакции эритроцитопоэза на действие кратковременной барокамерной гипоксической гипоксии. Разрежение воздуха, соответствовало 5-7 тыс. м. высоты. Экспозиция составляла 24 часа. Изучение морфологических изменений ретикулоцитов проводилось в исходном состоянии перед опытом, через 3, 7, 12, 24 часа пребывания в камере, а также в послеопытный период - на 1,2,3,4,5 сутки. Количество ретикулоцитов периферической крови определялось относительно из расчета на 1000 эритроцитов в единицах промилли (‰) в мазках крови, окрашенных суправитально по методу Сейфарза. В процессе исследований было установлено, в первые часы пребывания животных в барокамере, в частности, через 3 часа, количество ретикулоцитов в крови математически значимо снижалось, что указывает на угнетение в условиях острой гипоксии эритроцитопоэза. В последующие сроки пребывания кроликов в барокамере наблюдалось последовательное повышение числа ретикулоцитов в циркулирующей крови, которое носило статистически достоверный характер. Подобная тенденция отмечалась и на 1 сутки после опыта. Восстановление исходного уровня содержания ретикулоцитов происходило на 4,5 сутки после опыта. Изменения в ретикулоцитарной формуле носили в целом прямо пропорциональный характер относительно количеству ретикулоцитов. Расхождение наблюдалось лишь через 3 часа пребывания в барокамере, когда также как и во всех сроках гипоксии имел место «сдвиг влево» за счет увеличения числа более малодифференцированных ретикулоцитов.

Ключевые слова: ретикулоциты, ретикулоцитарная формула, барокамерная гипоксия, эксперимент.

RETIKULIARNA THE REACTION OF BLOOD OF RABBITS IN CONDITIONS OF ACUTE ALTITUDE HYPOXIA

Khisamova V. A. Ishbuldina K. R. Gabdrakhmanova I. D.

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

Supervisor: prof D. A. Enikeev

The research material was peripheral blood reticulocytes of rabbits. The aim of the work was put on the establishment of the response of an erythrocytogenesis at the action a short time altitude hypoxic hypoxia. Vacuum air, corresponded to 5-7 thousand meters height. The exposition was 24 hours. The study of morphological changes of reticulocytes was performed in the initial state before experience, 3, 7, 12, 24 hours of stay in the chamber and after the test period is for 1,2,3,4,5 day. The number of reticulocytes in the peripheral blood was determined based on 1000 erythrocytes in units of promille (‰) in blood smears, colored by the method of supravital Saharsa. During the research it was established, in the early hours of the animals ' stay in the chamber, in particular after 3 hours, the number of reticulocytes in the blood is mathematically significantly decreases, which indicates inhibition in conditions of acute hypoxia erythrocytogenesis. In subsequent periods of stay of rabbits in the chamber there was a steady increase in the number of reticulocytes in the circulating blood, which was statistically significant in nature. A similar trend was observed and 1 day after the experience. Restore the original levels of reticulocytes

occurred 4.5 days after the experience. Changes in reticulocytes the formula was generally directly proportional the total number of reticulocytes. The discrepancy was observed only after 3 casatrapani in the chamber, when also as in all periods of hypoxia has been a "shift left" by increasing the number of undifferentiated reticulocytes.

Key words: reticulocytes, reticulocytes formula, altitude hypoxia, the experiment.

ВВЕДЕНИЕ.

Снижение парциального давления кислорода с последующим развитием в организме гипоксического состояния имеет широкое распространение как в области патологии, так и в нормальных условиях существования [1]. В целях профилактики и коррекции эндогенных гипоксий часто используется некоторые параметры положительного влияния пониженного барометрического давления [2]. Придается большое значение применению адекватного кислородного голодания организма в для активации адаптивных механизмов [3,4]. В процессе контроля над уровнем развития гипоксии в организме находят широкое применение гематологические тесты, в частности, по состоянию эритроцитопоза [5,6,7]. Количественные и качественные параметры со стороны ретикулоцитов крови в оценке состояния организма являются показателями взаимоотношения эритроцитопоза и эритролизиса в процессе регенерации красной крови. Исходя из этого в данном исследовании целью ставилось изучение состояния ретикулоцитов, как прекурсоров эритроцитов, а также и как показателя уровня эритроцитопоза в условиях острой барокамерной гипоксии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования явились ретикулоциты периферической крови кроликов. При этом изучалась ответная реакция эритроцитопоза на действие кратковременной барокамерной гипоксической гипоксии. Разрежение воздуха, соответствовало 5-7 тыс. м. высоты. Экспозиция составляла 24 часа. Изучение морфологических изменений ретикулоцитов проводилось в исходном состоянии перед опытом, через 3, 7, 12, 24 часа пребывания в барокамере, а также в после опытный период - на 1,2,3,4,5 сутки. Количество ретикулоцитов периферической крови определялось в мазках крови, окрашенных суправитально по методу Сейфарза относительно из расчета на 1000 эритроцитов в единицах промилли (‰) .

Определение математической значимости различий количественных показателей проводилось параметрически по t- критерию Стьюдента по программе М. Exell «Статистика».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение ретикулоцитарной реакции крови кроликов в условиях пребывания в барокамерной гипоксии было предпринято для установления возможных изменений эритропоэтического ростка в красном костном мозге. Ретикулоциты представляют собой прекурсоры зрелых эритроцитов. Согласно общепринятым положениям о гемопоэзе количественные и качественные сдвиги со стороны предшественников зрелых форменных элементов, циркулирующих в периферической крови, отражают характер регенеративного процесса, в частности, повышение содержания их указывает на "омоложение" популяций клеток, т.е. ускорение процесса обновления.

В процессе наших опытов были отмечены достоверные сдвиги в состоянии ретикулоцитов периферической крови. Эти изменения касались относительного количества их по отношению к содержанию эритроцитов крови, а также качественных, то есть, морфологических сдвигов в составе самих ретикулоцитов.

Наблюдаемые количественные изменения ретикулоцитов, а также распределение различных их форм в ретикулоцитарной формуле в динамике острой барокамерной гипоксии носили в целом фазовый характер (табл.1, рис.1).

Таблица 1

Количество ретикулоцитов в мазках крови ((в ‰, $M \pm m$, n - 10))

Сроки опытов	Относительное число
Исходный уровень (норма)	30,5±0,31
Через 3 часа пребывания в камере	29,4±0,25*
После 7 часов пребывания в камере	31,5±0,27
После 12 часов пребывания в камере	38,6±0,23*
Через 24 часа пребывания в камере	40,5±0,25*
На 1 сутки после опыта	50,5±0,25*
На 2 сутки после опыта	46,5±0,24*
На 3 сутки после опыта	41,1±0,22*
На 4 сутки после опыта	36,5±0,21*
На 5 сутки после опыта	30,1±0,9

При этом в первые часы пребывания кроликов в барокамере наблюдалось значимое снижение относительного числа ретикулоцитов, а в последующие сроки пребывания, наоборот, прогрессирующее повышение их количества.

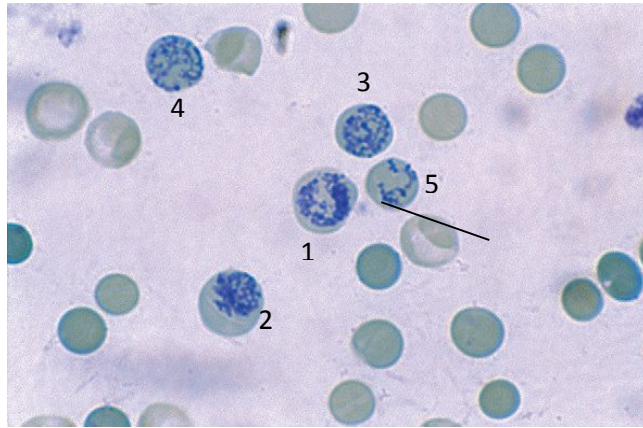


Рис.1. Различные формы ретикулоцитов по уровню дифференциации периферической крови кролика через 24 часа пребывания в барокамере.

1-Венчикообразный ретикулоцит. 2-глыбкообразный ретикулоцит. 3-полносетчатый ретикулоцит. 4-неполносетчатый ретикулоцит. 5-пылевидный ретикулоцит.

Суправитальная окраска мазка крови краской бриллиант крезил голубой по методу Сейфарза.

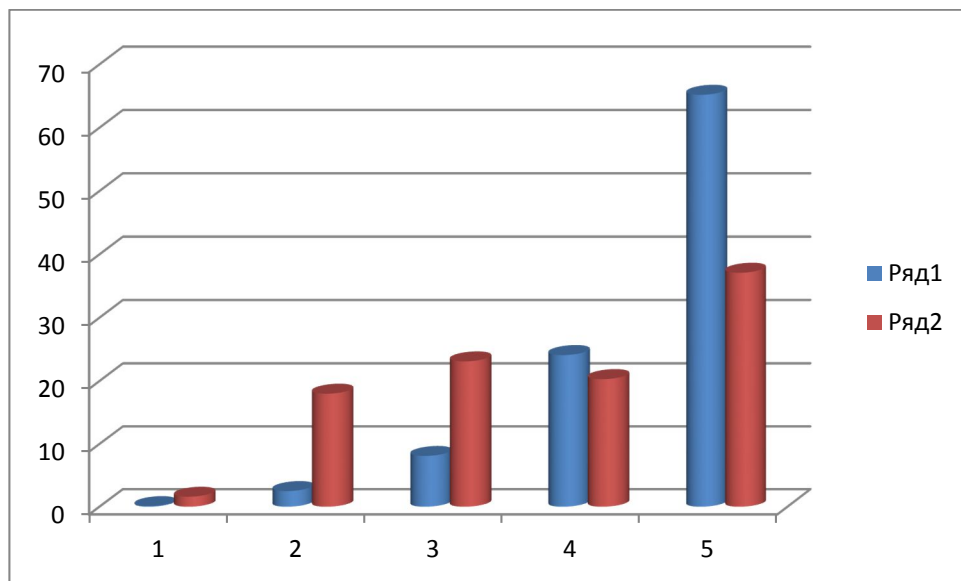


Рис.2. Сводная ретикулоцитарная формула (%).

Ряд 1-исходный уровень. Ряд 2-после 24 час. гипоксии.

1-венчикообразные ретикулоциты. 2-глыбкообразные ретикулоциты. 3-полносетчатые ретикулоциты. 4-неполносетчатые ретикулоциты. 5-пылевидные ретикулоциты.

Параллельно была изучена ретикулоцитарная формула у контрольных и гипоксических животных (рис. 1, 2).

При анализе ретикулоцитарной формулы (по Гейльмейеру) в зависимости от густоты и расположения базофильного сетчато-зернисто-нитчатого вещества ретикулоциты были подразделены на следующие 5 групп (рис.1).

В 1 группе базофильное вещество в цитоплазме располагалось в виде венчика. Это «венчикообразные» преимущественно ядросодержащие ретикулоциты, в основном, являлись нормобластами.

У 2 группы базофильное вещество цитоплазмы имело вид клубка. Клетки содержали густую, петлистей формы сетчатую субстанцию, лежащую обычно с включенными в нее глыбками. Такие ретикулоциты в литературе носят название «клубнообразных» или «глыбкообразных».

Клетки 3 группы характеризовались сетчатой формой прижизненно красящейся субстанции. Петли сеточки были широкими и занимали почти всю цитоплазму. Это «полносетчатые» ретикулоциты.

К 4 группе были отнесены ретикулоциты с нитчатой формой базофильного вещества, имеющего характер как бы разорванной сетки, лежащей обычно у периферии клетки. Подобные ретикулоциты были названы «неполносетчатыми».

5 группу составляли ретикулоциты с зернистой формой субстанций или с одиночными, очень нежными и тонкими ниточками. Такие элементы красной крови обычно носят название «пылевидных».

Ретикулоцитарная формула в норме характеризовалась, в основном, наличием 2, 3, 4 и 5 групп ретикулоцитов. Единичные ретикулоциты 1 группы встречались редко (0-1%). 2 группа составляла от 0 до 3%, в среднем 2,5%. 3 группа ретикулоцитов колебалась от 6 до 11%, в среднем равнялась 8,1%. 4 группа имела вариации от 21 до 26 %, а среднее арифметическое значение составляло 24,1%. Ретикулоциты 5 группы у разных кроликов находились в пределах от 63 до 67%; среднее значение соответствовало 65,3%. Коэффициент сдвига ретикулоцитарной формулы, определяемый отношением суммы числа 1, 2, 3, 4 групп ретикулоцитов к числу ретикулоцитов 5 группы, в среднем равнялся 0,53.

В условиях эксперимента отмечалась тенденция к сдвигу ретикулоцитарной формулы влево за счет повышения относительного содержания более молодых форм ретикулоцитов. Так, после 3-часового пребывания животных в барокамере наступали относительно небольшие изменения в составе ретикулоцитов различных групп. Так же как и в норме выявлялись 4 (2, 3, 4, 5) группы. Во второй группе отмечалось некоторое повышение содержания клеток. Последнее составляло 0-6%. Среднее арифметическое значение равнялось 4,1%. Число ретикулоцитов третьей группы также повысилось и соответствовало 10-15%, а в среднем - 12,9%. Четвертая группа ретикулоцитов, подвергаясь таким же

изменениям, находилась в пределах от 21% до 26%. Среднее значение соответствовало 24,9%. В пятой группе ретикулоцитов происходили изменения обратного характера; отмечалось уменьшение относительного содержания их; оно колебалось от 56% до 60%. Среднее арифметическое значение составляло до 58,1%. Коэффициент сдвига, выведенный в этот срок, показывал высокий сдвиг влево; он равнялся 0,72. Наблюдаемые сдвиги носили математически значимый характер.

Анализ ретикулоцитарной формулы через 7 часов пребывания в условиях гипоксии показывал дальнейший сдвиг ее в сторону молодых форм, т.е. «влево». Появлялась первая группа ретикулоцитов – «венчиковобразные» ядросодержащие эритроциты и они составляли 0-2%, а в среднем 0,2%. Количество второй группы ретикулоцитов достигло 1-5%, со средним значением 3,8%. Третья группа молодых зернистых эритроцитов также увеличивалась и в среднем равнялась 20,1%, а колебания находились в пределах 18-22%. Четвертая и пятая группы ретикулоцитов уменьшались в количестве и соответственно имели колебания 19%-23%, 53%-57%, а в среднем – 21,1% и 54,9%. Естественно, уменьшение содержания четвертой и пятой групп происходило за счет увеличения трех других групп ретикулоцитов. Это обстоятельство имело определенное отражение и в состоянии коэффициента сдвига, который в это время, показывая дальнейший сдвиг влево, равнялся 0,82. Эти отмеченные изменения со стороны ретикулоцитарной формулы в этот срок были достоверными.

Исследование ретикулоцитов крови кроликов после их 12-часового пребывания в барокамере показало аналогичные по характеру, но более выраженные по степени, значимые изменения по сравнению с предыдущим сроком. Повысилось содержание ретикулоцитов 1, 2, 3 групп, и соответственно уменьшилось количество элементов 4 и 5 групп. Среднее арифметическое значение ретикулоцитов первой группы достигло 1,4% с колебаниями от 0 до 2%. Средние значения ретикулоцитов второй и третьей групп равнялись 17,3% и 24,9%, а колебания соответственно составляли 12-19%, 22-27%. Относительное содержание четвертой и пятой групп ретикулоцитов постепенно понижалось и в среднем равнялось соответственно 19,8% и 36,6%. Колебания находились в пределах 18-21% и 36-40%. Коэффициент сдвига достигал 1,11, показывая сдвиг ретикулоцитарной формулы «влево».

К концу пребывания животных в условиях гипоксии, т.е. через 24 часа, в ретикулоцитарной формуле также отмечался математически значимый высоко выраженный сдвиг «влево». Ретикулоциты первой группы, продолжая численно увеличиваться, достигли в среднем 1,6%, а колебания их составляли 0-2%. Среднее арифметическое значение форменных элементов второй и третьей групп равнялось соответственно 17,9% и 23,1%. Диапазон вариации числа ретикулоцитов в этих группах находился в пределах 12-19% и 20-

26%. Со стороны числа ретикулоцитов четвертой и пятой групп отмечалась некоторая тенденция к изменению в сторону постепенного обратного увеличения, по сравнению с предыдущим сроком. Так, количества их в это время равнялись соответственно 18-21% и 36-40%, а в среднем 20,3% и 37,1%. Коэффициент сдвига равнялся 1,08, отражая определенный сдвиг «влево». Имеющиеся изменения средних числовых показателей носили статистический значимый характер.

Постэкспериментальный период характеризовался, в основном, постепенным возвращением показателей ретикулоцитарной формулы к норме. Продолжительность этого периода находилась в пределах от 3 до 5 суток. В первые сутки после опыта относительное содержание ретикулоцитов первой группы оставалось на уровне конца эксперимента, т.е. в среднем составляло 0,9%, а колебания соответствовали 0-1%. В этот же срок со стороны второй группы отмечалось незначительное снижение количества ретикулоцитов, оно равнялось 3-10%, а в среднем – 7,7%. Содержание ретикулоцитов третьей группы в это время, несколько снижаясь, достигало в среднем 21,1%; колебания составляли 19-23%. Четвертая и пятая группа характеризовались постепенным повышением числа ретикулоцитов и соответственно равнялись 17-21% и 48-51%. Среднее арифметическое значение их составляло 20,7%, 49,6%. Коэффициент сдвига ретикулоцитарной формулы испытывал некоторое снижение (1,00). Наблюдаемые сдвиги на этот срок были математически значимыми. На вторые сутки послеопытного периода продолжалось дальнейшее уменьшение числа ретикулоцитов первой, второй и третьей групп, и одновременно - повышение количества четвертой и пятой групп ретикулоцитов. Ретикулоциты первой группы колебались от 0 до 1%. Среднее арифметическое значение их составляло 0,3%. Диапазон колебаний во второй группе равнялся 2-9%, а в среднем – 6,3%. Третья группа содержала 12-20% ретикулоцитов со средним значением 16,9%. В четвертой и пятой группе показатели соответственно равнялись 20-24% и 53-57%; средние арифметические значения их составляли 24,4% и 55,1%. Коэффициент сдвига соответствовал 0,83, что указывало на сохранение в этот срок еще определенного сдвига ретикулоцитарной формулы «влево». Имеющиеся изменения в ретикулоцитарной формулы в это время были статистически достоверными.

На третьи сутки постэкспериментального периода ретикулоцитарная формула, продолжая нормализоваться, еще сохраняла небольшой сдвиг «влево». В это время ретикулоциты первой группы встречались реже (0-2%), количество таких клеток второй группы составляло 1-6%, в среднем – 4,1%. Третья группа ретикулоцитов постепенно начала снижаться и находилась в пределах 20-24%; среднее арифметическое значение равнялось 21,9%. Содержание ретикулоцитов пятой группы продолжало повышаться и в это время

составляло 55-59% со средним значением – 57,3%. Коэффициент сдвига ретикулоцитарной формулы указывал на снижение степени сдвига «влево» и соответствовал 0,74. Приведенные выше сдвиги средних числовых показателей носили еще статистический значимый характер.

Четвертые и пятые сутки послеопытного периода были характерны возвращением всех описываемых показателей ретикулоцитарной формулы в близкое к исходным уровням состояние. Относительное содержание разных групп ретикулоцитов, особенно среднее значение их, отличалось от нормы незначительно. Коэффициент сдвига на 4 и 5 день равнялся соответственно 0,66 и 0,49. Отмеченные сдвиги не имели статистический значимый характер.

Таким образом, было установлено, что в первые часы острой гипоксии количество ретикулоцитов снижалось, что указывало на угнетение эритроцитопоэза. В последующие сроки гипоксии наблюдалось повышение числа ретикулоцитов, обусловленное активацией дифференциации эритроцитов. Восстановление исходного уровня содержания ретикулоцитов происходило лишь на 4,5 сутки после опыта. Изменения в ретикулоцитарной формуле отражали процесс «омоложивания» данных прекурсоров эритроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова О.А., Локтионова С.А., Романов Ю.А. и др. Активация и повреждение эндотелиальных клеток при гипоксии/реоксигенации. Влияние внеклеточного РН // Биохимия.- 2009.-Т.74,вып.6.-С.744-752.
2. Жапаралиева Ч. О., Мухамедова И. П.Э, Вишневский А.А. Изменения мембран эритроцитов и некоторых морфофункциональных особенностей головного мозга в условиях гипоксической гипоксии в группах крыс с различной устойчивостью к гипоксии /Ульяновский медико-биологический журнал.-№ 1.- 2012. -С.59-64.
3. Муркамилов И.Т. Гипоксическая барокамерная тренировка в лечении анемии при хроническом гломерулонефрите /Известия ВУЗ ов Киргизстана.-Бишкек: 2014. изд. Наука и новые технологии (Бишкек). -№ 6.-С. 71-76.
4. Бизенкова М.Н. Общие закономерности метаболических расстройств при гипоксии различного генеза и патогенетическое обоснование принципов их медикаментозной коррекции//Автореф.дис....к.м.н.Саратов:-2008. 25с.
5. Хайбуллина З. Р., Вахидова Н. Т. Состояние периферической крови при острой гипоксии в эксперименте [Текст] // Медицина: вызовы сегодняшнего дня: материалы Междунар. науч. конф. (г. Челябинск, июнь 2012 г.). — Челябинск: Два комсомольца, 2012. — С. 24-29.

- 6.Потемина, Т.Е. К729 Гипоксия и гипероксия в вопросах и ответах: учебное пособие / Т.Е. Потемина, Е.А. Шевченко, В.А. Ляляев. – Н. Новгород: Издательство НижГМА, 2012. – 46 с.
- 7.Патофизиологи:учебник в2 т./под ред.В.В. Новицкого, Е.Д. Гольберга, О.И. Уразовой.-4-изд.-М:ГЭОТАР-Медиа, 2009.-т.1.-848с.