

**ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОМЕТРИИ РЕТИКУЛОЦИТОВ КРОВИ
КРОЛИКОВ ПРИ БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОКСИИ**

Хисамова В.А., Ижбульдина К.Р., Габдрахманова И. Д., Кузнецов К.О.

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 в данной работе явились ретикулоциты периферической крови кроликов в условиях пребывания в барокамере при разряжении воздуха, соответствующем 5-7 км высоты. Экспозиция действия барокамерной гипоксии на организм составляла 24 час. Регистрация морфометрических параметров ретикулоцитов производилась в исходном состоянии, через 3,7,12,24 час. действия острой барометрической гипоксии, а также на 1,2,3,4,5 сутки после опыта. При этом было выявлено прогрессирующее увеличение диаметров ретикулоцитов как во время пребывания в барокамере, так и в течение 4 суток после опыта. Возвращение в близкое к исходному состоянию данного показателя наблюдалось лишь на 5 сутки. В процессе работы ретикулоциты условно были разбиты на три группы: "мелкие" - 5,4-6,3 мк., "средние" - 6,4-7,4 мк, и крупные - 7,5-8,8 мк. В условиях гипоксии было установлено достоверное увеличение количества в крови крупных ретикулоцитов за счет мелких и особенно - средних ретикулоцитов. Одновременно было отмечено значимое увеличение функционирующей площади ретикулоцитов в условиях действия острой гипоксии, а также в послеопытном периоде. Относительная функциональная эффективность ретикулоцитов, которая определялась отношением среднего диаметра к средней толщине, как в условиях пребывания животных в барокамере, так и после опыта, соответствовала оценке "планоцитоз", что отражает положительный адаптивный сдвиг в регенеративном процессе эритроцитопоэза. Усиление эритроцитопоэза подтверждалось также и повышением числового значения "ретикулоцитарного индекса".

Ключевые слова: размеры ретикулоцитов, барокамерная гипоксия, эксперимент.

INDICATORS MORPHOMETRY OF RETICULOCYTES BLOOD CRAWLEY-COV DURING ALTITUDE HYPOXIA

Khislamova V. A., Ishbuldina K. R. Gabdrakhmanova I. D., Kuznetsov K.O.

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 in this paper was the reticulocytes in peripheral blood of rabbits in conditions of stay in the chamber when the pressure of air corresponding to 5-7 km altitude. The exposition of the action of altitude hypoxia on the body was 24 hours. Registration of morphometric parameters of reticulocytes produced in the initial state, through 3,7,12,24 hour. action barometric acute hypoxia, as well as in 1,2,3,4,5 days after the experience. The project revealed a progressive increase in the diameters of reticulocytes during the stay in the chamber, and for 4 days after the experience. Return close to the original state of the indicator was observed only on day 5. In the process, the reticulocytes has conventionally been divided into three groups: "small" - 5,4-6,3 MK., "average" is 6.4-7.4 MC, and large - 7,5-8,8 MK. In hypoxia there was a significant increase in the number of blood reticulocytes large due to the small and especially the medium of reticulocytes. At the same time it was noted a significant increase in functioning area of reticulocytes in conditions of acute hypoxia, as well as in post-experiential period. The relative functional efficiency of re-ticulation, which was determined by the ratio of average diameter to average thickness as in the animals ' stay in the chamber, and after the experience, correspond to the "Planalto" that reflects a positive adaptive shift in the regenerative process of erythropoiesis. The increased erythropoiesis was also confirmed and increased the numeric value "reticulocyte index".

Key words: dimensions of reticulocytes, altitude hypoxia, the experiment

ВВЕДЕНИЕ

В условиях пребывания в барокамере прослеживается действие на организм ряда факторов - понижение парциального давления кислорода [1,2], барометрического давления, растворимости газов, в частности, азота. Также имеет значение адаптивное влияние на организм гипоксической гипоксии [3,4]. Показатели крови при пребывании организма в барокамере в разреженной атмосферной среде широко применяются на практике и с диагностической целью [5,6].

В данной работе целью ставилось определение морфометрических изменений в ретикулоцитах периферической крови кроликов в условиях острой барокамерной гипоксии для установления особенностей конечной стадии дифференциации эритроцитов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования в данной работе явились ретикулоциты периферической крови кроликов в условиях пребывания в барокамере при разряжении воздуха, соответствующей 5-7 км высоты. Экспозиция действия барокамерной гипоксии на организм составляла 24 час. Регистрация морфометрических параметров ретикулоцитов производилась в исходном состоянии, через 3,7,12,24 час. действия острой барометрической гипоксии, а также на 1,2,3,4,5 сутки после опыта.

Параллельно вычисляли «ретикулярный индекс» (IR), который равнялся:

$$\frac{\text{ретикулоциты (\%)} \times \text{гематокрит (ЕД)}}{45 \times 1,85}$$

где 45 - условно взятый за норму показатель гематокрита, 1,85- количество суток, необходимых для поступления новых ретикулоцитов в кровь. Индекс < 2 - отражает гипопролиферативный процесс, если индекс > 2 , то - гиперпролиферативный процесс эритроцитопоэза.

Средняя толщина ретикулоцитов определялась по формуле: $T = \frac{V}{\Pi r^2}$, где T - средняя толщина, V- средний объем, Πr^2 - средняя площадь, r - средний радиус ретикулоцитов.

Показатель планоцитоза определялся по формуле $\frac{CD\Delta}{T}$, где CDЭ - средний диаметр ретикулоцитов, T - средняя толщина ретикулоцитов [7].

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе работы изучались размеры ретикулоцитов. При этом определялся диаметр ретикулоцитов с последующим составлением сводной ретикулоцитограммы. Все ретикулоциты, по аналогии с эритроцитами, были разбиты в зависимости от размеров на три группы.

Первая группа объединяла ретикулоциты с диаметрами от 6,4 мк до 7,4 мк (средние).

Вторая группа включала ретикулоциты с диаметрами от 5,4 мк до 6,3 мк (мелкие).

Третью группу составляли ретикулоциты с диаметрами от 7,5 мк до 8,8 мк (крупные).

Сводная ретикулоцитограмма, выведенная из данных исследований контрольных животных перед экспериментом, характеризовалась наличием 91,8% «средних», 6,4% «мелких» и 1,8% «крупных» ретикулоцитов (табл. 1).

Таблица 1

Сводная ретикулоцитограмма (%; $M \pm m$; *- символ математической значимости:

$P < 0,05$; $n=10$). Сопоставление производилось с исходным уровнем

Сроки опытов	Ретикулоциты от 6,4 до 7,4 мк.	Ретикулоциты от 5,4 до 6,3 мк.	Ретикулоциты от 7,5 до 8,8 мк.	Анизоцитоз (в мк)	Средний диаметр (в мк)
Исходный уровень	91,8±0,7	6,4±0,35	1,8±0,1	3,1±0,16	6,8±0,4
Через 3 часа пребывания в барокамере	91,5±0,75	5,1±0,29*	3,4±0,08*	3,3±0,15*	6,9±0,38
Через 7 часов пребывания в барокамере	88,0±0,65*	4,9±0,24*	7,1±0,15*	3,5±0,17*	8,1±0,15*
Через 12 часов пребывания в барокамере	74,3±0,63*	3,8±0,26*	21,9±0,2*	3,6±0,15*	8,2±0,41*
Через 24 часа пребывания в камере	81,2±0,57*	3,7±0,27*	15,1±0,1*	3,7±0,18*	8,4±0,51*
На 1 сутки после опыта	82,8±0,57*	3,9±0,28*	13,3±0,16*	3,6±0,14*	7,9±0,39*
На 2 сутки после опыта	82,0±0,78*	6,3±0,35*	8,7±0,3*	3,4±0,16*	7,6±0,42*
На 3 сутки после опыта	86,8±0,69*	5,8±0,31*	7,4±0,3*	3,3±0,15	7,4±0,31
На 4 сутки после опыта	88,9±0,71*	7,3±0,33	3,8±0,25*	3,2±0,16	7,1±0,42
На 5 сутки после опыта	91,9±0,73	6,9±0,34	1,7±0,1	3,2±0,14	6,9±0,38

Сводный средний диаметр ретикулоцитов составлял 6,8 мк. Степень наблюдаемого при этом анизоцитоза соответствовала 3,1 мк.

В условиях эксперимента наблюдалось увеличение показателей размеров ретикулоцитов. Постепенно, по мере действия гипоксии, увеличивался средний диаметр, повышалось количество «крупных» и соответственно несколько понижилось число «мелких» и «средних» ретикулоцитов. Диапазон вариации диаметра ретикулоцитов в условиях опыта и в послеопытный период также статистически значимо повышался.

Сводная ретикулоцитограмма, выведенная после 3-часового пребывания животных в условиях кислородной недостаточности, показывала, что средний диаметр ретикулоцитов, незначительно повышаясь, по сравнению с нормой, достигал 6,9 мк. Процентное содержание «средних» ретикулоцитов почти не изменялось (91,5%). Относительное количество «мелких» несколько понижалось (5,1%), а «крупных», наоборот, повышалось (3,4%). Степень анизоцитоза в это время оказывалась несколько более выраженной (3,3 мк) (табл. 1).

Через 7 часов от начала воздействия гипоксии средний диаметр ретикулоцитов испытывал дальнейшее повышение (8,1 мк). Количество «средних» и «мелких» ретикулоцитов, продолжая уменьшаться, достигло соответственно 88,0% и 4,9%. Одновременно значительно повышалось относительное число «крупных» (7,1%). Диапазон вариации диаметров ретикулоцитов, незначительно повышаясь, по сравнению с предыдущим сроком, равнялся 3,5 мк. Наблюдаемые в этот срок изменения носили математически значимый характер.

После 12-часового пребывания животных в камере размеры ретикулоцитов еще более увеличивались. Средний диаметр составлял 8,2 мк. Процентное содержание «крупных» ретикулоцитов повышалось (21,9%), а «средних» и «мелких» понижалось (74,3% и 3,8%). Анизоцитоз был несколько более выраженный по сравнению с предыдущим сроком (3,6 мк).

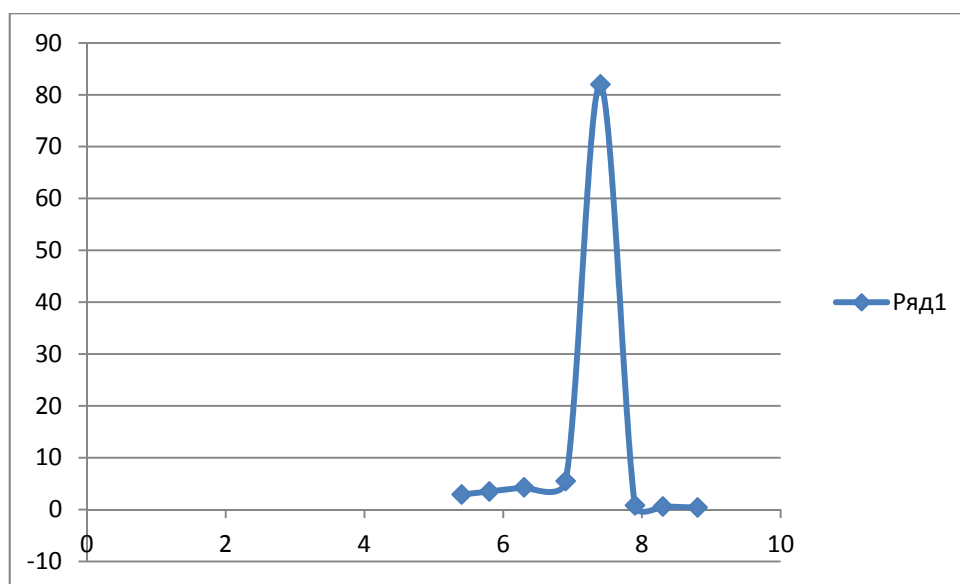
К концу пребывания животных в условиях кислородной недостаточности средний диаметр ретикулоцитов равнялся 8,4 мк. «Крупных» стало 15,1%, а «средние» и «мелкие» составляли соответственно – 81,29, 3,7%. Диапазон вариации диаметров ретикулоцитов равнялся 3,7 мк. Наблюдаемые в эти сроки изменения в условиях гипоксии носили математически значимый характер.

Постэкспериментальный период характеризовался постепенным, более или менее равномерным, возвращением описанных показателей ретикулоцитов в исходные величины. На пятые сутки послеопытного периода степень выраженности среднего диаметра, процентное содержание «средних», «крупных» и «мелких» ретикулоцитов, а также диапазон наблюдаемого анизоцитоза были близкими к исходным уровням.

Чтобы графически выразить изменения размеров ретикулоцитов в условиях гипоксии, были составлены ретикулоцитометрические кривые по аналогии эритроцитометрическим

кривым Прайс-Джонса в условиях нормы и эксперимента. Указанные кривые по характеру являются сводными и составлялись исходя из диаметров 2000 ретикулоцитов.

Ретикулоцитометрическая кривая в норме характеризовалась крутым подъемом «пика» и относительно более постепенным ее спадом. Склоны кривой в отличие от эритроцитометрической кривой Прайс-Джонса выделялись наличием многоступенчатости и множества «зубцов», которые образовывали небольшие дополнительные «пики». Вершина кривой соответствовала по вертикали 240, по горизонтали – 7 мк. Основание ретикулоцитометрической кривой занимало промежуток от 6,3 мк по 9,6 мк. Судя по этой кривой, можно было полагать, что приблизительно средний диаметр ретикулоцитов в норме равнялся 7 мк, так как вершина кривой соответствовала по горизонтали 7 мк, а степень анизоцитоза, учитывая ширину основания кривой, составляла примерно 3,25 мк. Наличие множества «зубцов» по склонам кривой, видимо, отражало разнообразие количества ретикулоцитов, составляющих отдельные по своим размерам группы (рис.1)



5,4	5,8	6,3	6,9	7,4	7,9	8,3	8,8
2,9	3,5	4,3	5,5	82	0,8	0,6	0,4

Рис.1.Ретикулоцитометрическая кривая Прайс-Джонса в исходном уровне.
По горизонтали (абсцисс) диаметры ретикулоцитов (микрон).
По вертикали(ординат) количество ретикулоцитов (%).

В отличие от кривой от исходного уровня ретикулоцитометрическая кривая в условиях гипоксии имела ряд отличий (рис.2).

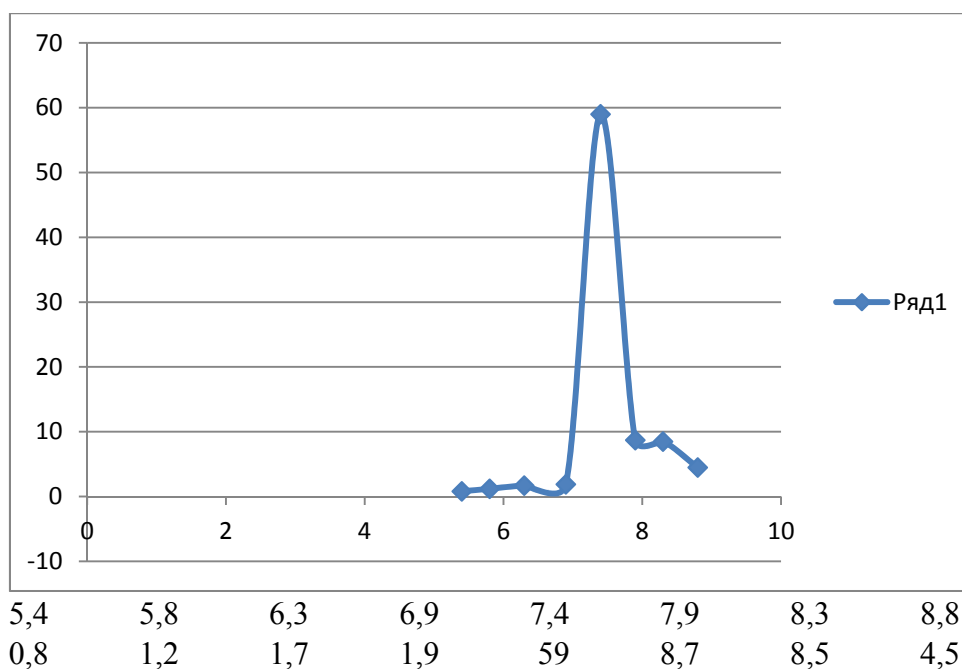


Рис.2.Ретикулоцитометрическая кривая Прайс-Джонса через 24 часа.

По горизонтали (абцисс) диаметры ретикулоцитов (микрон).
По вертикали (ординат) количество ретикулоцитов (%).

В частности, ретикулоцитометрическая кривая, составленная после 24-часового пребывания при гипоксии, имела ряд отличий от таковой в норме. В условиях эксперимента происходил «сдвиг» вершины кривой вправо, вследствие чего она соответствовала по горизонтали 9 мк. Одновременно отмечалось расширение основания кривой, и оно уже занимало промежуток от 6,3 мк по 11,0 мк. Склоны кривой были «многоступенчатыми», со множеством зубцов. Левое колено кривой по сравнению с нормой располагалось значительно выше. Эти изменения в ретикулоцитометрической кривой указывали на увеличение среднего диаметра ретикулоцитов и диапазона вариации их размеров в условиях гипоксии (рис.2).

Параллельно был вычислен ретикулоцитарный индекс. Так, в исходном состоянии данный показатель равнялся 1,066 ед., который указывал на гипорегенеративный процесс. Через 1 сутки после опыта ретикулоцитарный индекс соответствовал 2,3 ед, что отражало активизацию эритроцитопоэза.

Одновременно были изучены и другие ретикулоцитарные параметры (табл. 2).

Таблица 2

Сводные морфометрические данные ретикулоцитов периферической крови ($M \pm m$. * - символ значимости: $P < 0,05$. Индекс состояния планоцитоза $> 3,6$. $n=10$). Сопоставление с исходным уровнем.

Сроки опытов	Средний объем (в	Средний радиус	Средняя площадь	Средняя толщина	Отношение	Функц. эффект

	мк ³)	(мк)	(мк ²)	(мк)	диаметра к толщине	ТИВ НОСТЬ
Исходный уровень	62,9±1,1	3,4±0,2	36,3±0,8	1,73±0,05	3,9>3,6	планоцитоз
Через 3 часа пребывания в барокамере	60,13±1,2*	3,3±0,18	34,2±0,7	1,76±0,06	3,9>3,6	планоцитоз
После 7 часов пребывания в барокамере	62,8±2,3	4,05±0,08	51,5±1,2*	1,21±0,03*	6,4>3,6	планоцитоз
После 12 часов пребывания в барокамере	66,4±2,4*	4,1±0,21*	52,8±1,1*	1,26±0,04*	6,5>3,6	планоцитоз
Через 24 часа пребывания в барокамере	69,5±2,5*	4,2±0,25*	55,4±1,3*	1,25±0,03*	6,7>3,6	планоцитоз
На 1 сутки после опыта	70,6±2,4*	3,9±0,2*	47,8±1,1*	1,47±0,04*	5,3>3,6	планоцитоз
На 2 сутки после опыта	74,9±3,1*	3,8±0,21*	45,3±1,2*	1,65±0,06*	4,6>3,6	планоцитоз
На 3 сутки после опыта	73,5±2,9*	3,7±0,15*	42,9±0,9*	1,71±0,07	4,3>3,6	планоцитоз
На 4 сутки после опыта	69,9±2,2*	3,6±0,22*	40,7±0,9*	1,72±0,06	4,1>3,6	планоцитоз
На 5 сутки после опыта	68,4±2,3*	3,9±0,19*	47,7±1,3*	1,43±0,04*	4,8>3,6	планоцитоз

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение морфометрических показателей ретикулоцитов предпринималось для установления закономерностей процесса дифференциации в конечном этапе эритроцитопоза в сравнительном аспекте, то есть в интактном состоянии и в условиях острой гипоксической гипоксии. В исходном состоянии совокупность морфометрических показателей в целом отражала положительное функциональное состояние ретикулоцитов периферической крови, несмотря на гипорегенеративный уровень эритроцитопоза.

В условиях пребывания животных в барокамере наблюдалось статистически значимые сдвиги со стороны морфометрической характеристики ретикулоцитов крови, которые в целом указывали на гиперегенеративный характер эритроцитопоза.

Так, значимые сдвиги в числовых значениях объема ретикулоцитов в сторону повышения начались через 12 часов действия гипоксии и продолжались в течение всего наблюдаемого послеопытного периода. Аналогичная картина отмечалась и со стороны среднего радиуса ретикулоцитов. Математически значимое повышение средней площади функционирующей поверхности определялось уже через 7 часов гипоксии и сохранилось весь после-

опытный период. Достоверное снижение средней толщины ретикулоцитов наблюдалось уже через 7 часов пребывания животных в камере и продолжалось в течение 3 суток послеопытного периода.

В целом во всех сроках наблюдения во время пребывания животных в барокамере, а также и в послеопытный период морфометрические показатели ретикулоцитов отражали состояние планоцитоза.

Планоцитоз в системе красной крови 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 позитивным сдвигом в реологических свойствах циркулирующей крови

Литература

1. Яковлев Д.И., Прокофьев А.Б., Тиньков А.Н, Никоноров А.А/ Гиполипидемические эффекты курса барокамерной гипоксии у больных инфарктом миокарда/ Яковлев Д.И. [и др.]// Вестник ОГУ.- №12 (106).-2009. -С.139-142.
- 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.. - Севастополь: -2014. 27 с.
7. Большая медицинская энциклапедия. Эритроцитометрия.-2013.