

УДК 57.044:612.116.2

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФЕНИЛГИДРАЗИНОВОЙ АНЕМИИ

Пахрова О.А., Криштон В.В., Ленчер О.С.

ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново, e-mail: o.pahrova@mail.ru

Исследована резистентность эритроцитов в раннем постнатальном онтогенезе у крыс при острой гемолитической анемии. В младших возрастных группах повышение кислотной стойкости эритроцитов к соляной кислоте при острой гемолитической анемии, по сравнению с контрольными группами, происходит раньше, чем у взрослых животных. В старшем возрасте пик кислотного гемолиза приходится на более поздний срок - пятые сутки моделирования анемии. У большинства групп крысят происходит восстановление интактных значений к окончанию срока наблюдения, у взрослых животных даже к четырнадцатому дню эксперимента кислотная устойчивость эритроцитов остается повышенной.

Ключевые слова: гемолитическая анемия, эритроциты, постнатальный онтогенез

AGE FEATURES CHANGES RESISTANCE OF ERYTHROCYTES IN EXPERIMENTAL PHENYLHYDRAZINE ANEMIA

Pakhrova O.A., Chrishtop V.V., Lencher O.S.

FSBEI HE "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo, e-mail: o.pahrova@mail.ru

Carried out to resistance of red blood cells in early postnatal ontogenesis to rats with acute hemolytic anemia. In younger age groups the increase of the acid resistance of erythrocytes to hydrochloric acid in acute hemolytic anemia, compared with control groups, occurs earlier than in adult animals. At older ages, the peak of the acid hemolysis is necessary at a later date - the fifth day of anemia simulation. The majority of the group of rats is a restoration of an intact value to the end of the observation period, even in adult animals the fourteenth day of the experiment, the acid resistance of red blood cells is increased.

Keywords: hemolytic anemia, red blood cells, postnatal ontogenesis

На всех этапах развития онтогенез органов и систем организма, сопровождается существенными функциональными перестройками. В условиях качественно меняющихся факторов внешней среды на этапах эмбрионального, пренатального и постнатального развития, становление и развитие регуляторных механизмов становятся одним из основных компонентов перестройки адаптационных реакций организма. Такие динамично меняющиеся условия наиболее полно раскрывают механизмы и возрастные особенности функционирования эритрона как компонента системы крови [4]. Система крови развивающегося организма находится в неравновесном состоянии, запас ее мощности еще не вполне сформирован, а регулирование не установилось на стабильном уровне. Одной из ключевых характеристик эритроцита как универсального транспортера кислорода является резистентность к действию повреждающих факторов, множество из которых активируют механизмы перекисного окисления белков и липидов. Исследование кислотной резистентности эритроцитов позволяет оценить состояние мембран клеток. Высокая частота анемических состояний, разнообразие их форм и

тяжесть течения в раннем детском возрасте, делают необходимым изучение этих вопросов в эксперименте.

Целью исследования стало изучение особенностей резистентности эритроцитов к действию соляной кислоты в раннем постнатальном онтогенезе у крыс при острой гемолитической анемии.

Эксперимент выполнен на 60 половозрелых белых крысах-самках массой 220 грамм и 360 крысятах в возрасте от 1, 5, 15, 10, 21 и 30 суток, по 30 животных на каждую временную точку. Все действия проводились с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных. Животные были разделены на контрольную (30 половозрелых животных и 180 крысят в возрасте от 1 до 30 дней) и экспериментальную группы (30 половозрелых животных и 180 крысят в возрасте от 1 до 30 дней). В экспериментальной группе острая гемолитическая анемия моделировалась подкожным введением раствора фенилгидразина (ФГ) в дозе 30 мг/кг массы животного.

У животных контрольных и экспериментальных групп в динамике развития анемии определялась способность эритроцитов противостоять действию 0.004 Н раствора

соляной кислоты [1]. В основе кислотного гемолиза лежит агрегация денатурированных мембранных белков при снижении pH до 4.0 [2]. Гемолиз регистрировали при помощи устройства, состоящего из термостатированной кюветы (в ней поддерживалась температура 24оС), ультратермостата, фотоэлектроколориметра и регистрирующего потенциометра. Суспензию эритроцитов и гемолизирующий раствор помещали в кювету в соотношении 1:1 (2 мл суспензии + 2 мл раствора), гемолитик вносили полуавтоматическим шприцем-дозатором. Запись кривой кислотного гемолиза производилась при скорости движения диаграммной ленты 1 см/мин. При расшифровке полученных кривых кинетики разрушения эритроцитов определяли следующие показатели: время начала гемолиза (T0); время 50%-ного гемолиза (T50); время окончания гемолиза (T100); длительность гемолиза (Tг); интегральный показатель эритрограммы (ИП):[6].

$$ИП = S \sum t_i \times t_i,$$

где $\sum t_i$ - доля эритроцитов со стойкостью t_i ; t_i - стойкость (время разрушения) группы эритроцитов (мин).

Полученные первичные данные обрабатывались при помощи комплекса статистических методик [5], включающего в себя: определение среднего, его ошибку, дисперсию. Для определения достоверности различия средних применяли непараметрический критерий Манна – Уитни, за уровень статистической достоверности принимали $p < 0,05$.

В результате эксперимента у взрослых крыс наблюдалось повышение кислотной резистентности эритроцитов на третий день после введения ФГ: T50 увеличивалось с 5.82 ± 0.2 мин в контроле до 6.65 ± 0.2 мин ($p < 0.01$), ИП - с 6.00 ± 0.19 до 6.8 ± 0.2 ($p < 0.01$). Далее стойкость красных клеток к действию соляной кислоты уменьшалась, но и к окончанию исследования (14-е сутки) оставалась выше, чем у контрольных животных ($p < 0.05$).

В раннем постнатальном онтогенезе были выявлены следующие особенности кислотной резистентности эритроцитов при острой гемолитической анемии (табл. 1).

У 1-дневных крысят отмечалось повышение кислотной стойкости эритроцитов по сравнению со средневозрастными значениями уже на первые сутки после вве-

Таблица 1

Динамика интегрального показателя кислотной резистентности эритроцитов после введения фенилгидразина у крысят разного возраста

Показатели	Группа	Срок наблюдения (сутки)				
		1	2	3	5	7
1-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.62 ± 0.32	6.96 ± 0.39	7.91 ± 0.96	6.70 ± 0.48	5.13 ± 0.46
	Опыт р	7.57 ± 0.28 <0.001	7.42 ± 0.18 >0.2	7.88 ± 0.67 >0.8	6.77 ± 0.29 >0.8	6.19 ± 0.24 >0.05
5-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.92 ± 0.43	6.01 ± 0.45	5.70 ± 0.36	6.96 ± 0.46	6.16 ± 0.18
	Опыт р	8.31 ± 0.41 <0.05	7.57 ± 0.16 <0.005	7.59 ± 0.43 <0.005	7.46 ± 0.62 >0.5	6.81 ± 0.16 <0.02
10-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.46 ± 0.34	6.91 ± 0.52	5.21 ± 0.06	5.84 ± 0.33	5.77 ± 0.46
	Опыт р	6.86 ± 0.14 <0.005	7.50 ± 0.45 >0.2	5.99 ± 0.27 <0.02	6.81 ± 0.33 >0.05	7.67 ± 0.49 <0.02
15-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.89 ± 0.26	5.27 ± 0.36	5.32 ± 0.16	5.91 ± 0.28	5.70 ± 0.19
	Опыт р	7.20 ± 0.39 >0.5	6.32 ± 0.28 <0.05	6.04 ± 0.21 <0.02	6.62 ± 0.40 >0.1	5.72 ± 0.28 >0.8
21-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.05 ± 0.24	6.68 ± 0.31	5.97 ± 0.29	5.52 ± 0.16	6.78 ± 0.20
	Опыт р	6.34 ± 0.61 >0.5	5.36 ± 0.40 <0.05	6.78 ± 0.18 <0.05	7.07 ± 0.37 <0.005	6.08 ± 0.43 >0.1
30-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.98 ± 0.40	5.71 ± 0.38	6.30 ± 1.15	4.36 ± 0.94	5.55 ± 0.40
	Опыт р	7.16 ± 0.21 <0.02	6.86 ± 0.13 <0.02	7.70 ± 0.64 >0.2	7.50 ± 0.46 <0.02	6.18 ± 0.44 >0.2

дения ФГ: Т50 составляло 7.08 ± 0.24 мин при 5.47 ± 0.31 мин в контроле ($p < 0.001$), а ИП кислотной стойкости - 7.57 ± 0.28 при 5.62 ± 0.32 в контроле ($p < 0.001$). На вторые сутки все показатели приближаются к уровню контрольных животных, лишь Т50 осталось выше, чем в контроле ($p < 0.01$).

В 5-дневном возрасте кислотная резистентность эритроцитов также повышалась на первые сутки после воздействия: ИП был равен 8.31 ± 0.41 при 6.92 ± 0.43 ($p < 0.05$). Однако в отличие от предыдущей возрастной групп он оставался выше уровня контроля до третьего дня эксперимента ($p < 0.005$) и начинал снижаться только с пятых суток после введения препарата.

Изменение кислотной стойкости эритроцитов 10-дневных крысят при острой гемолитической анемии напоминает таковую у 1-дневных крысят.

Повышение устойчивости эритроцитов к гемолитическому действию кислоты у 15-дневных крысят характеризуется некоторой инертностью; так ИП достоверно повышался только на второй день эксперимента, оставаясь на этом уровне до третьих суток, а затем снижался.

Существенная особенность изменения кислотной стойкости эритроцитов после введения ФГ наблюдалась у 21-дневных крысят. В отличие от других возрастных групп в первые два дня показатели не только не повышались, а напротив снижались. На второй день Т50 укорачивалось до 5.11 ± 0.33 мин при 6.38 ± 0.37 мин в контроле ($p < 0.05$), а ИП был равен 5.36 ± 0.4 при 6.68 ± 0.31 в контроле ($p < 0.05$). Однако в дальнейшем кислотная стойкость повышалась, ИП к пятым суткам увеличивался до 7.07 ± 0.37 при 5.52 ± 0.16 в контроле ($p < 0.005$).

У 30-дневных крысят резистентность мембраны эритроцитов к действию соляной кислоты повышалась на первые сутки после воздействия ($p < 0.02$), при этом своих максимальных значений Т50 и ИП достигали к пятому дню: Т50 составляло 7.17 ± 0.39 мин при 4.15 ± 0.95 мин в контроле ($p < 0.02$), ИП - 7.50 ± 0.46 при 4.36 ± 0.94 в контроле ($p < 0.02$).

Как видно, в более младших возрастных группах (1-, 5-, 10- и 15-дневные крысята) повышение кислотной стойкости красных клеток крови при острой гемолитической анемии происходит раньше, чем у взрослых животных. В более старшем возрасте (21- и 30-дневные крысята) пик кислотного гемолиза приходится на более поздний срок - пятые сутки. В большинстве групп происходит восстановление нормальных значений к окончанию срока наблюдения (седьмой день), у взрослых животных даже

к четырнадцатому дню эксперимента кислотная устойчивость эритроцитов остается повышенной.

Вероятно, в результате напряженности эритропоэза в кроветворных органах крысят младших возрастных групп образуется резерв незрелых красных клеток, обладающих повышенной кислотной стойкостью, которые при дополнительном эритропоэз-стимулирующем воздействии быстро выходят в циркуляцию, обуславливая более раннюю реакцию со стороны эритрона [3, 8, 11].

Менее стойкое, нежели у взрослых крыс, повышение резистентности эритроцитов к действию соляной кислоты в условиях острой гемолитической анемии может быть следствием напряженного состояния эритропоэза и ограниченности его функциональных резервов в раннем возрасте.

При переходе 21-дневных крысят с молочного на дефинитивный тип питания наблюдается активация кроветворения при еще не сформированных механизмах его регуляции. Именно с этого возраста у данных животных преимущественный синтез эритропоэтина наблюдается в почке [9, 10]. При этом эритроциты, образующиеся в основном в красном костном мозге, по своим свойствам практически не отличаются от эритроцитов взрослых животных. Вероятно, данный эффект вызван интенсификацией эритродиереза, обусловленной необходимостью элиминации эритроцитов, образованных в предшествующие возрастные периоды и не способных адекватно обеспечивать кислородом растущий организм. Это позволяет предположить критическое значение этого возрастного периода в становлении функции эритрона [7]. Наблюдаемое снижение кислотной стойкости у крысят этого возраста подтверждает это предположение.

Список литературы

1. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. - Красноярск: Изд-во СО АН СССР, 1959. - 247 с.
2. Иванов И.Т., Беннов Л.Ц. Агрегация денатурированных мембранных белков - начальный этап кислотного гемолиза // Биофизика. - 1991. - Т.36, Вып.5. - С.839-843.
3. Калимуллина Л.Б., Ахмадеев А.В. Гематологические характеристики крыс линии WAG/RIJ в постнатальном онтогенезе // Успехи современного естествознания. - 2005. - № 10. С.58.
4. Криштоп В.В., Пахрова О.А. Варианты перестроек гемореологических показателей у больных ревматоидным артритом // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2014. - № 9. - С.63-69.
5. Криштоп В.В., Пахрова О.А. Применение кластерного и корреляционного анализа для оценки гемореологических показателей у больных эссенциальной артериальной гипертензией // Успехи современного естествознания. - 2014. № 9-2. - С.11-16.

-
6. Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. - Новосибирск, -1987.- 242с.
7. Новожилов А. В., Катюхин Л. Н. Динамика гематологических показателей крови белых крыс в постнатальном онтогенезе // Журнал эволюционной биохимии и физиологии.- 2008.-Т.44, №6.-С.613-621.
8. Пахрова О.А., Криштоп В.В., Курчанинова М.Г., Румянцева Т.А. Лейкоцитарные показатели крови при адаптации к острой экспериментальной гипоксии головного мозга в зависимости от уровня стрессоустойчивости. Журнал «Современные проблемы науки и образования». - 2016. - № 6.
9. Румянцева Т.А., Криштоп В.В., Ленчер О.С. Качественная морфофункциональная характеристика щитовидной железы крыс при острой гипоксии головного мозга в ранние сроки. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. -2016. – С. 102-106
10. Caro J., Erslev A.J., Silver R., Miller O., Birgegard G. Erythropoietin production in response to anemia or hypoxia in the newborn rat // Blood.- 1982.- Vol.60.- № 4.- P.984-988.
11. Sanengen T., Holter P.H., Haga A. et al. Perturbation of erythropoiesis during the period of early anemia. A model for studying the regulation of erythropoiesis in the neonatal mammals // Mol. And Cell. Aspects Erythropoietin and Erythropoiesis: Proc. NATO Adv. Res. Workshop.- Bad Windsheim,- 1987.- P.187-204.