

Е.К. Голубева, С.Б. Назаров

**ОСОБЕННОСТИ ПОСТНАТАЛЬНОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО СИСТЕМОГЕНЕЗА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ И ЛАКТАЦИИ**

*ГОУВПО "Ивановская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации", ФГУ "Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации"*

ОСОБЛИВОСТІ ПОСТНАТАЛЬНОГО ЕРИТРОЦИТАРНОГО СИСТЕМОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ В УМОВАХ НЕСПРИЯТЛИВИХ ФАКТОРІВ У ПЕРІОД ВАГІТНОСТІ І ЛАКТАЦІЇ. Досліджувалися особливості постнатального еритроцитарного системогенезу у щурів, які перенесли пренатальний іммобілізаційний стрес і хронічну пре- і постнатальну нітритну інтоксикацію. Показано, що обидва експериментальні впливи супроводжуються суттєвими відхиленнями розвитку еритрону в ранньому постнатальному онтогенезі. У результаті пренатального іммобілізаційного стресу відбувається гальмування розвитку еритрону. В 1-денному віці підвищені концентрація гемоглобіну і гематокрит, знижений вміст оксифільних нормоцитів, що свідчить про низьку інтенсивність еритропоезу. До 5-го дня життя концентрація гемоглобіну і вміст ретикулоцитів знижені, але відсоток оксифільних нормоцитів перевищує контрольний показник. Відзначається зниження інтенсивності клітинного гемолізу. До 10-го дня вміст ретикулоцитів перевищує контрольне значення, що призводить до збільшення концентрації еритроцитів. У 21-денних щуренят кількість ретикулоцитів підтримується на досить високому рівні, але концентрація еритроцитів набагато нижча за норму. Цей вік є одним із критичних періодів постнатального онтогенезу і найбільш уразливий для ушкоджувальної дії несприятливих чинників. У 28 днів знижена концентрація гемоглобіну. Хронічна пре- і постнатальна нітритна інтоксикація проявляється збільшенням інтенсивності еритропоезу й активацією клітинних механізмів гемолізу в 5-денному віці. До 14-го дня життя показник гематокриту перевищує контрольне значення. Цьому сприяє висока інтенсивність еритропоезу. Проте вже в 21-денному віці гематокрит достовірно знижений, що можна розглядати як ознаку декомпенсації адаптаційних процесів. Відмінності зникають до 28-го дня життя щуренят.

ОСОБЕННОСТИ ПОСТНАТАЛЬНОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО СИСТЕМОГЕНЕЗА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ И ЛАКТАЦИИ. Исследовались особенности постнатального эритроцитарного системогенеза у крыс, перенесших пренатальный иммобилизационный стресс и хроническую пре- и постнатальную нитритную интоксикацию. Показано, что оба экспериментальных влияния сопровождаются существенными отклонениями развития эритрона в раннем постнатальном онтогенезе. В результате пренатального иммобилизационного стресса происходит торможение развития эритрона. В 1-дневном возрасте повышены концентрация гемоглобина и гематокрит, понижено содержание оксифильных нормоцитов, что свидетельствует о низкой интенсивности эритропоеза. До 5-го дня жизни концентрация гемоглобина и содержание ретикулоцитов снижены, но процент оксифильных нормоцитов превышает контрольный показатель. Отмечается снижение интенсивности клеточного гемоллиза. К 10-му дню содержание ретикулоцитов превышает контрольное значение, что приводит к увеличению концентрации эритроцитов. У 21-дневных крысят количество ретикулоцитов поддерживается на достаточно высоком уровне, но концентрация эритроцитов намного ниже нормы. Этот возраст является одним из критических периодов постнатального онтогенеза и наиболее уязвим для повреждающего действия неблагоприятных факторов. В 28 дней снижена концентрация гемоглобина. Хроническая пре- и постнатальная нитритная интоксикация проявляется увеличением интенсивности эритропоеза и активацией клеточных механизмов гемоллиза в 5-дневном возрасте. До 14-го дня жизни показатель гематокрита превышает контрольное значение. Этому способствует высокая интенсивность эритропоеза. Однако уже в 21-дневном возрасте гематокрит достоверно снижен, что можно рассматривать как признак декомпенсации адаптационных процессов. Различия исчезают к 28-му дню жизни крысят.

PECULIARITIES OF POSTNATAL ERYTHROCYTE SISTEMOGENESIS IN RATS UNDER CONDITIONS OF UNFAVOURABLE FACTORS IN THE PERIOD OF PREGNANCY AND LACTATION. The both experimental effects are accompanied by significant deviations of erythron in early postnatal development. As a result of prenatal immobilization stress is inhibition of erythron development. Hemoglobin concentration and hematocrit are elevated in the age of 1 day, the oxyphilic normotsites maintenance is reduced as result of low erythropoiesis intensity. The hemoglobin concentration and content of reticulocytes are reduced on the 5 days, but the percentage of oxyphil normotsites exceeds benchmark. The intensity of cell hemolysis is reduced. The content of reticulocytes more than the reference value in 10-th day, which leads to an increase in the concentration of red blood cells. The number of reticulocytes is maintained at a fairly high level on the 21 day, but the concentration of red blood cells is much lower than normal. This age is one of the critical periods of postnatal ontogenesis and the most vulnerable to the damaging effect of adverse factors. The hemoglobin concentration is reduced on the 28 day. Chronic pre- and postnatal nitric intoxication manifested an increase in the intensity of erythropoiesis and the activation of cellular mechanisms of hemolysis in the age of 5 days. By the 14-th day of life hematocrit exceeds the reference value. This is facilitated by the high intensity of erythropoiesis. However, the hematocrit was significantly reduced in 21 days it can be regarded as a sign of adaptation processes decompensation. Differences disappear in 28 days.

**Ключові слова:** еритроцитарний системогенез, пренатальний стрес, хронічна нітритна інтоксикація.

**Ключевые слова:** эритроцитарный системогенез, пренатальный стресс, хроническая нитритная интоксикация.

**Key words:** erythrocyte sistemogenesis, prenatal stress, chronic nitric intoxication.

**ВВЕДЕНИЕ.** Ребенок и животные разных видов рождаются в условиях незавершенного эритроцитарного системогенеза. Четко скоординированные во взрослом организме процессы эритропоэза и эритродиереза демонстрируют существенные особенности в ранний постнатальный период. Доказано влияние на формирование эритрона потомства состояния организма матери во время беременности и лактации [1, 2, 3]. Во время беременности и лактации мать может подвергаться воздействию различных неблагоприятных факторов, что нередко профилатировать довольно сложно. Актуальной в этом отношении является проблема пренатального стресса, влияние которого на механизмы эритроцитарного равновесия потомства практически не исследовано. Физиологическая беременность сопровождается выраженными изменениями параметров регуляции функций, оказывая определенное стрессорное влияние, что может обусловить особенности реакции организма не только матери, но и плода на действие дополнительного адаптогенного фактора. Довольно широко в настоящее время распространены азотсодержащие соединения, которые используются в качестве пищевых добавок, содержатся в некоторых лекарственных препаратах. Оксид азота, образующийся в результате метаболизма этих веществ, является универсальным медиатором различных физиологических и патофизиологических процессов [4, 5, 6]. Тем не менее, вопрос о влиянии оксида азота на эритроны взрослого и растущего организма, участия в регуляции процессов продукции и деструкции эритроцитов практически не изучен.

Целью настоящего исследования стало выявление особенностей постнатального эритроцитарного системогенеза у крыс, перенесших пренатальный иммобилизационный стресс и хроническую пре- и постнатальную нитритную интоксикацию.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В первой серии экспериментов использовано 134 контрольных крысенка и 132 крысенка, матери которых во время беременности подвергались иммобилизационному стрессу. Стресс моделировался ежедневной 2,5-часовой иммобилизацией беременных крыс в индивидуальных пластиковых клетках-пеналах [7] в течение всей беременности. В экспериментах второй серии использовано 165 крысят (68 опытных и 97 контрольных). Матери крысят экспериментальной группы с первого дня беременности и в течение всего периода лактации получали 0,2 % раствор нитрита натрия вместо питьевой воды [8]. Для получения животных с датированной беременностью использовался метод вагинальных мазков [9]. Первым днем беременности считался день обнаружения в мазке сперматозоидов.

Динамику исследуемых показателей отслеживали в течение первого месяца жизни. Для характеристики состояния периферического звена эритрона и его эритропоэтической активности общепри-

нятыми методами исследовали концентрацию эритроцитов, гемоглобина, гематокрит, содержание ретикулоцитов и оксифильных нормоцитов. Оценка клеточных механизмов эритродиереза проводилась на основании определения фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов в реакции их взаимодействия с аутологичными эритроцитами *in vitro* в краткосрочных монослойных культурах клеток по методике Mantovani В. [10]. Интенсивность внутриклеточного гемолиза оценивалась по результатам дифференцированного подсчета макрофагов, не образующих розеток и образующих розетки с 1-2, 3-5, 6-8, 9 и более эритроцитами. Результат выражался в процентах. Параметры завершеного фагоцитоза: количество макрофагов с фагосомами (эритроциты и их фрагменты) и диффузными включениями гемоглобина – определялись благодаря цитохимической идентификации в бензидиновой реакции. Результат также выражался в процентах. Забор крови производился из общего кровотока после декапитации. Эвтаназия осуществлялась посредством дислокации шейных позвонков. Результаты обработаны методом вариационного анализа с использованием *t*-критерия Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** У потомства матерей, перенесших во время беременности иммобилизационный стресс, наблюдаются особенности периферической крови, свидетельствующие о торможении развития эритрона. В 1-дневном возрасте у животных повышены концентрация гемоглобина и гематокрит. Гемоглобин составляет (119,53±5,80) г/л при (89,80±5,52) г/л в контроле ( $p < 0,001$ ), показатель гематокрита – (33,75±1,21) % при (27,92±1,45) % у контрольных крысят ( $p < 0,01$ ). Однако содержание оксифильных нормоцитов составляет (60,27±4,10) %, что ниже среднеговостарного значения, соответствующего (75,93±3,82) % ( $p < 0,05$ ), и может свидетельствовать о снижении интенсивности эритропоэза. К 5-му дню жизни концентрация гемоглобина уменьшается до (91,86±4,74) г/л по сравнению с (105,03±4,10) г/л в контроле ( $p < 0,05$ ). Содержание ретикулоцитов значительно снижено и составляет (145,00±17,90) ‰ при (456,80±87,30) ‰ в контроле ( $p < 0,01$ ). В то же время, процент оксифильных нормоцитов в 2,5 раза превышает контрольный показатель, составляя (54,00±5,10) % при (22,04±2,72) % в контроле ( $p < 0,001$ ). Вероятно, это можно рассматривать как компенсаторную реакцию красного костного мозга на уменьшение кислородной емкости крови. Наряду с депрессией эритропоэза отмечается снижение интенсивности клеточного гемолиза. В первые 5 дней жизни значительно повышено количество макрофагов, не участвующих в образовании розеток с аутологичными эритроцитами. Так, у новорожденных крысят оно составляет (65,29±3,77) % при (51,80±2,76) % в контроле ( $p < 0,05$ ), а в 5-дневном возрасте – (68,40±3,68) % при (37,50±6,07) % в контроле ( $p < 0,001$ ). У новорожденных животных процент

макрофагов, образующих розетки с 3-5 эритроцитами, уменьшен до  $(8,71 \pm 2,27) \%$  по сравнению с контрольным значением –  $(18,80 \pm 2,37) \%$  ( $p < 0,05$ ). У 5-дневных крысят значительно меньшее количество макрофагов образует розетки с 3-5, 6-8, 9 и более эритроцитами. Лишь  $(7,90 \pm 1,07) \%$  розеток образованы с 3-5 эритроцитами при средневозрастной норме  $(27,00 \pm 2,92) \%$  ( $p < 0,01$ ). Розеткоподобные структуры с 6-8 эритроцитами составляют  $(0,70 \pm 0,47) \%$ , что примерно в 8 раз меньше контрольного значения, варьирующего в диапазоне  $(5,75 \pm 0,41) \%$  ( $p < 0,001$ ). С 9 и более эритроцитами взаимодействует только  $(0,20 \pm 0,13) \%$  макрофагов, тогда как контрольный показатель составляет  $(2,25 \pm 1,67) \%$  ( $p < 0,05$ ). В 10 дней жизни содержание ретикулоцитов уже превышает контрольное значение, составляя  $(278,20 \pm 33,30) \text{‰}$  при  $(169,08 \pm 31,50) \text{‰}$  в контроле ( $p < 0,05$ ), что приводит к увеличению концентрации эритроцитов. В этом возрасте у крысят экспериментальной группы она составляет  $(2,02 \pm 0,13) \text{ Т/л}$ , тогда как в контроле  $(1,70 \pm 0,07) \text{ Т/л}$  ( $p < 0,05$ ). Розетки, образованные с 9 и более эритроцитами, у экспериментальных животных этой возрастной группы отсутствуют при наличии их в контроле в количестве  $(2,10 \pm 0,64) \%$  ( $p < 0,01$ ). У 21-дневных крысят количество ретикулоцитов поддерживается на довольно высоком уровне:  $(245,30 \pm 33,20) \text{‰}$  при  $(121,93 \pm 9,60) \text{‰}$  у контрольных животных ( $p < 0,01$ ). Несмотря на это, концентрация эритроцитов составляет  $(2,61 \pm 0,18) \text{ Т/л}$ , что гораздо ниже нормы  $(3,74 \pm 0,23) \text{ Т/л}$  ( $p < 0,001$ ). Этот возраст является одним из критических периодов постнатального онтогенеза и наиболее уязвим для повреждающего действия различных неблагоприятных факторов. В 28 дней при отсутствии прочих различий у экспериментальных животных понижена концентрация гемоглобина и составляет  $(103,64 \pm 2,90) \text{ г/л}$ , тогда как контрольный показатель –  $(119,09 \pm 3,30) \text{ г/л}$  ( $p < 0,01$ ).

У потомства крыс, подвергаемых хронической нитритной интоксикации, в 5-дневном возрасте повышена по сравнению с контролем интенсивность эритропоэза, что проявляется более высоким содержанием в крови клеток-предшественников зрелых эритроцитов. Так, количество ретикулоцитов составляет  $(290,80 \pm 25,77) \text{‰}$ , тогда как у крысят контрольной группы –  $(186,90 \pm 21,36) \text{‰}$  ( $p < 0,01$ ). Процент оксифильных нормоцитов достигает  $(25,70 \pm 4,57) \%$  при  $(4,00 \pm 0,49) \%$  в контроле ( $p < 0,005$ ). Наряду с увеличением эритропоэтической активности красного костного мозга отмечается активация клеточных механизмов гемолиза, проявляющаяся повышением адгезионной способности перитонеальных мак-

рофагов: процент розеток, образованных с участием 9 и более эритроцитов, возрастает с  $(0,29 \pm 0,29) \%$  до  $(2,25 \pm 0,80) \%$  ( $p < 0,05$ ). Возможно, этот механизм способствует поддержанию возрастной численности эритроцитов или, напротив, потенцирует выраженность эритропоэза, оптимальную для адаптации эритрона к хронической нитритной интоксикации. К 14-му дню жизни у крысят опытной группы показатель гематокрита превышает контрольное значение и составляет  $(29,94 \pm 1,65) \%$  при  $(20,86 \pm 1,97) \%$  в контроле ( $p < 0,005$ ). Этому способствует по-прежнему высокая интенсивность эритропоэза. Так, содержание ретикулоцитов составляет  $(163,60 \pm 10,78) \text{‰}$  по сравнению с контрольным показателем, соответствующим  $(119,50 \pm 8,41) \text{‰}$  ( $p < 0,01$ ). Однако уже в 21-дневном возрасте гематокрит достоверно снижен:  $(25,14 \pm 2,10) \%$  при  $(31,80 \pm 2,34) \%$  ( $p < 0,05$ ). Наблюдаемые отклонения, вероятно, можно рассматривать как признаки декомпенсации адаптационных процессов. Тем не менее, у 28-дневных крысят уже не отмечается каких-либо из описанных изменений, что может быть обусловлено большей функциональной зрелостью физиологических систем.

**ВЫВОДЫ.** Как пренатальный иммобилизационный стресс, так и хроническая пре- и постнатальная нитритная интоксикация сопровождаются существенными отклонениями развития эритрона в раннем постнатальном онтогенезе. При наличии механизмов, направленных на поддержание оптимального состава циркулирующих эритроцитов, в 21-дневном возрасте наблюдается декомпенсация адаптационно-приспособительных реакций, связанная с прохождением эритрона через критический период развития.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.** Для более полной характеристики механизмов адаптации эритрона потомства к пренатальному иммобилизационному стрессу и хронической нитритной интоксикации матери необходимо исследование особенностей реагирования красной крови не только в постнатальный, но и в пренатальный период. Использование дополнительных методов оценки эритропоэтической активности красного костного мозга, селезенки, печени, а также фагоцитарной активности не только перитонеальных, но и макрофагов печени и селезенки, позволит точнее оценить процессы эритропоэза и эритродиереза и их роль в формировании эритрона потомства в условиях влияния неблагоприятных факторов. Исследование реакции системы крови матери на действие указанных факторов дополнит представления о механизмах адаптации и повреждения эритрона в функциональной системе “мать–плод”.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баженов Ю.И., Катаева Л.Н., Краснова Т.А. Влияние алкогольной интоксикации взрослых белых крыс на эритропоэз их потомства на ранних этапах постнатального онтогенеза // Эколого-физиологические проблемы адаптации. Материалы X международного симпозиума. – М., 2001. – С. 50.
2. Назаров С.Б., Горожанин Л.С., Пахрова О.А., Голубева Е.К. Эритроцитарный системогенез при различном двигательном режиме во время беременности // Успехи физиологических наук. – 1994. – Т. 25, № 3. – С. 119–120.
3. Шубина О.С., Киреева Ю.В. Влияние свинцовой интоксикации на организм белых крыс и их потомство // Морфологические ведомости. – 2007. – № 3–4. – С. 77–78.
4. Салова Л.М., Плеханова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 6. – С. 7–80.
5. Nakaki T. Physiological and clinical significance of NO (nitric oxide) – a review // Keio J. Med. – 1994. – Vol. 43. – P. 15–26.
6. Tomomi G., Masataka M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress atherosclerosis // Thrombosis and Vascular Biology. – 2006. – Vol. 26. – P. 1439.
7. Серова Л.В. Реакция на стресс-пробы на различных этапах постнатального онтогенеза // Онтогенез млекопитающих в невесомости. – М.: Наука, 1988. – С. 110–112.
8. Roth A.C., Herkert G.F., Bercz J.P., Smith M.K. Evaluation of the developmental toxicity of sodium nitrite in Long-Evans rats // Fundam. Appl. Toxicol. – 1987. – Vol. 9, № 4. – P. 668–677.
9. Дыбан А.П., Пучков В.Ф., Баранов В.С. и др. Лабораторные млекопитающие: мышь *Mus musculus*, крыса *Rattus norvegicus*, кролик *Oryctolagus cuniculus*, хомячок *Cricetus griseus* // Объекты биологии развития. – М.: Наука, 1975. – С. 505–566.
10. Mantovani B. Phagocytosis of in vitro-aged erythrocytes. A sharp distinction between activated and normal macrophages // Exp. Cell Res. – 1987. – Vol. 173. – P. 282–286.

УДК 618.31-089.8-072.1

М.М. Козуб, М.І. Козуб

## ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЛАПАРОСКОПІЧНИХ МЕТОДИК ЛІКУВАННЯ ПРОГРЕСУЮЧОЇ ТРУБНОЇ ВАГІТНОСТІ

*Харківська медична академія післядипломної освіти  
Харківський міський центр гінекологічної ендоскопії*

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЛАПАРОСКОПІЧНИХ МЕТОДИК ЛІКУВАННЯ ПРОГРЕСУЮЧОЇ ТРУБНОЇ ВАГІТНОСТІ. Мінімізація операційної травми, зниження виразності післяопераційного спайкового процесу, раннє відновлення після хірургічних втручань – актуальні питання практичної медицини. Для вирішення цих проблем використовують принципово нову медичну технологію – радіохвильова хірургія. Наведено власні дані про застосування радіохвильового методу в ендоскопічному лікуванні гінекологічних хворих із прогресуючою трубною вагітністю. Проведені експериментальні дослідження, які довели, що радіохвильова енергія, як сучасний метод фізичного впливу на тканини, що характеризується ранньою регенеративною репарацією та мінімальним коагуляційним некрозом, має великі перспективи в ендоскопічній реконструктивній гінекології. Вищевказані переваги радіохвильової енергії були використані нами для розробки нового способу лікування прогресуючої трубної вагітності. Нами встановлено настання вагітності після застосування методики “видавлювання” плідного яйця у 27,9 % пацієнток, а саме – у 40 % пацієнток з відсутністю супутнього спайкового процесу та у 16,1% пацієнток з наявністю спайкового процесу. У клінічній групі, де хворі одержували лікування за запатентованою нами методикою, вагітність через 1 рік настала у 50,8 % випадків. При цьому вагітність настала у 66,7 % пацієнток із відсутністю спайкового процесу та у 35,5 % зі спайковим процесом органів малого таза різного ступеня. Проводиться подальше вивчення ефективності органозберігаючого лікування трубної вагітності із застосуванням радіохвильової енергії.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДИК И ЛЕЧЕНИЯ ПРОГРЕСИРУЮЩИХ ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ. Сведение к минимуму операционной травмы, снижение выраженности послеоперационного спаечного процесса, раннее восстановление после хирургических вмешательств – актуальные вопросы практической медицины. Для решения этих проблем начинает использоваться принципиально новая медицинская технология – радиоволновая