

Аумолдаева З.М.

**ЖАС ЖАНУАРЛАРДЫ ГИПОКСИЯЛЫҚ ЖАТТЫҒУ
ЖАҒДАЙЫНДА ҚОРҒАСЫН АЦЕТАТЫ ЖӘНЕ КАЛИЙ БИХРОМАТЫМЕН
ЕГУ КЕЗІНДЕ СҮЙЕК МАЙЫНЫҢ КӨРСЕТКІШТЕРІ**

Аумолдаева З.М.

**ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОГО МОЗГА У МОЛОДЫХ ЖИВОТНЫХ
ПРИ ЗАТРАВКЕ ИХ АЦЕТАТОМ СВИНЦА И БИХРОМАТОМ КАЛИЯ
НА ФОНЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ**

Z.M. Aumoldaeva

**THE INDICATORS OF THE BONE MARROW AT THE
YOUNG ANIMALS DURING KINDLING THEM WITH THE LEAD ACETATE AND
BICHROMATE ON THE BACKGROUND OF HYPOXIC TRAINING**

УДК: 612.419-092.9: 615.636.612.82

Гипобариялық гипоксия жағдайында қорғасын ацетаты және калий бихроматымен егу кезінде жас жануарларды жаттықтыру жануарлардың қызыл және ақ сүйек майы ұрықтарының қалпына келуін жылдамдатады.

Түйінді сөздер: жас жануарлар (егеукүйрықтар), сүйек майы, қорғасын ацетаты, калий бихроматы, гипобариялық гипоксия.

В эксперименте установлено, что тренировка молодых животных с затравкой их ацетатом свинца и бихроматом калия в условиях гипобарической гипоксии ускоряет регенерацию и восстановление красного и белого ростка костного мозга животных.

Ключевые слова: молодые животные (крысы), костный мозг, ацетат свинца, бихромат калия, гипобарическая гипоксия.

The experiment showed that the training of the young animals by kindling them with the lead acetate and bichromate in the conditions of hypobaric hypoxia accelerates regeneration and recovering of the red and white lineage of the animals' bone marrow.

Key words: young animals (rats), bone marrow, lead acetate, bichromate, hypobaric hypoxia.

Загрязнение окружающей среды свинцом и его соединениями во всем мире признается одной из главных проблем экологии и охраны здоровья населения. В частности, выбросы свинца в атмосферу обуславливают его повышенную концентрацию в почве и растительности. Это оказывает негативное влияние на состояние здоровья населения и в первую очередь детей, которые наиболее восприимчивы к свинцовым отравлениям [1].

Экспериментально доказано, что всасывание свинца в ЖКТ у детей в 40-50 раз выше по сравнению со взрослыми, поэтому дети наиболее чувствительны к воздействию данного токсиканта. Величина порога хронического действия свинца, а нередко, попутно и хромом, как при ингаляционном, так и при пероральном поступлении свидетельствует о наивысшей потенциальной его опасности [2].

Учитывая все сложности исследования состояния костного мозга у детей при свинцовой интоксикации и разработки методов профилактики и лечения,

были проведены модельные эксперименты на животных. Зная, что гипоксия способствует выработке гормона эритропоэтина почками, который стимулирует костный мозг, в частности размножение клеток эритроидного ряда была предпринята попытка уменьшить токсический эффект свинца и хрома на систему кроветворения тренировкой животных в гипоксических условиях.

Целью данного исследования являлось изучение возможности восстановления костного мозга у молодых животных при барокамерной тренировке на фоне токсического действия ацетата свинца и бихромата калия.

Материал и методы исследования.

Опыты проведены на 68 самцах белых неинбредных крысах. Для опытов были взяты молодые крысы 2,5-6 мес. с массой тела 180 гр. ±10%.

Для изучения токсического влияния тяжелых металлов в течение 21 сут. рег.ос. с помощью металлического зонда проводилась комбинированная затравка крыс ацетатом свинца в дозе 15 мг на 1 кг м.т. и бихроматом калия 3 мг на 1 кг м.т., согласно методике, предложенной в работах Т.П. Ударцевой (2001) [3].

Две группы животных – контрольная и опытная – подвергались тренировке в климатической гипобарической камере в течение одного месяца с подъемом на высоту 6 тыс. метров над ур. моря по 6 часов в сутки.

У животных определяли показатели красного и белого ростка в мазках костного мозга [4].

Умерщвление животных проведено гуманным способом – эвтаназия хлороформом. Учитывались рекомендации, изложенные в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» / под ред. Р.У. Хабриева (Москва, 2005). При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, использованных в экспериментальных и научных целях», Страсбург, 18 марта 1986 г.

Полученный фактический материал подвергли компьютерной обработке с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel с расчетом критерия Стьюдента.

Собственные результаты и их обсуждение.

Исследование костного мозга у интактной груп-

пы молодых животных показало, что среднее содержание костномозговых клеток соответствует общепринятым нормам для данного вида животных. В то же время отмечаются более низкие показатели со стороны миелоцитов и метамиелоцитов - $2,1 \pm 0,3$; $2,7 \pm 0,2$ в сравнении с общепринятыми нормами (табл. 1).

Таблица 1 – Показатели костного мозга у молодых животных при затравке ацетатом свинца и бихроматом калия на фоне барокамерной тренировки

Показатели	Интактная группа, n=11	Контрольная группа (барокамерная тренировка, n = 20)	Ацетат свинца и бихромат калия, n=19	Опытная группа (барокамерная тренировка+ацетат свинца и бихромат калия) n=18
Вид клеток	%	%	%	%
Бласты	0	$0,7 \pm 0,4$	$0,2 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,2$
Промиелоциты	$0,4 \pm 0,07$	0	$0,3 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,5$
Миелоциты (нейтроф)	$1,1 \pm 0,1$	$7,7 \pm 1,4^*$	$7,2 \pm 2,1^*$	$9,2 \pm 1,7^*$
Юные (метамиелоциты)	$2,1 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,5^*$	$6,6 \pm 1,2^*$	$5,0 \pm 0,7^*$
Палочкоядерные	$2,7 \pm 0,2$	$15,5 \pm 1,5^*$	$12,4 \pm 2,0^*$	$12,7 \pm 1,4^*$
Сегментоядерные	$9,5 \pm 1,5$	$18,0 \pm 1,7^*$	$19,3 \pm 2,0^*$	$18,4 \pm 2,0^*$
Базофилы	$2,8 \pm 1,9$	$0,2 \pm 0,2$	$0,04 \pm 0,04$	$0,4 \pm 0,1$
Эозинофилы (всех генераций)	$5,8 \pm 0,3$	$2,3 \pm 1,2^*$	$3,9 \pm 1,4$	$3,6 \pm 1,0$
Гранулоцитарный росток	$24,3 \pm 0,8$	$49,1 \pm 3,8^*$	$50,0 \pm 3,3^*$	$50,4 \pm 2,9^*$
Лимфоциты	$18,7 \pm 0,9$	$23,9 \pm 2,3$	$13,0 \pm 3,5$	$20,9 \pm 2,9$
Моноциты	$0,6 \pm 0,04$	$0,7 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,08^*$
Эритробласты	$0,6 \pm 0,08$	$0,2 \pm 0,07^*$	0	$0,2 \pm 0,1^*$
Пронормобласты	$1,1 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,2^*$	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$
Нормоциты базоф.	$3,8 \pm 0,2$	$6,8 \pm 1,6$	$7,5 \pm 0,7^*$	$4,9 \pm 0,7$
Нормоциты полихромат.	$5,1 \pm 0,3$	$14,6 \pm 1,5^*$	$18,1 \pm 1,1^*$	$15,4 \pm 2,4^*$
Нормоциты оксифил.	$4,0 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,7$	$9,5 \pm 2,0^*$	$6,5 \pm 0,6^*$
Эритроидный росток	$9,3 \pm 3,9$	$25,7 \pm 3,0$	$35,6 \pm 2,4^*$	$27,6 \pm 3,3^*$
Миелокариоциты (тыс. в 1 мкл)	0		62,0	$248,5 \pm 24,2$
Мегакариоциты (кл. в 1 мл)	$49,7 \pm 2,0$	0	58,0	$214,0 \pm 32,8^*$
Плазматические клетки	$27,1 \pm 8,8$	0	$0,08 \pm 0,08^*$	$0,3 \pm 0,1$
Формы митоза	0	0	0	0
Сумма	100,0	100,0	158,0	$314,0 \pm 32,8$
Костномозговой индекс нейтрофилов	$0,4 \pm 0,07$	$0,4 \pm 0,04$	$0,5 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,08$
Лейкоэритробластическое отношение	$3,0 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,2^*$	$2,9 \pm 0,4$
Индекс созревания красной крови	$0,7 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,05$	$0,8 \pm 0,03$	$0,8 \pm 0,01$

Отмечалось превышение среднего количества эозинофилов (всех генераций), как и количества лимфоцитов и плазматических клеток (табл. 1). Однако в конечном итоге костномозговой индекс нейтрофилов, лейкоэритробластическое отношение и индекс созревания красной крови остались в рамках средних значений, характерных для данного вида животных (табл. 1) и в пределах нормального распределения показателей.

Тренировка животных в условиях барокамерной гипоксии отразилась на показателях костного мозга. В частности произошло увеличение количества бластных клеток – до $0,7 \pm 0,4$ что указывает на непарметри-

ческое распределение показателей, со сдвигом увеличения у части животных по группе. Увеличился гранулоцитарный росток с $24,3 \pm 0,8$ до $49,1 \pm 3,8$ ($P < 0,05$). Этот эффект реализовался за счет усиления репродукции таких промежуточных форм клеток, как миелоциты нейтрофильного ряда - с $1,1 \pm 0,1$ до $7,7 \pm 1,4$, метамиелоцитов – с $2,1 \pm 0,3$ до $5,2 \pm 0,5$. Значительно возростала генерация палочкоядерных и сегментоядерных клеток - с $2,7 \pm 0,2$ до $15,5 \pm 1,5$ и $9,5 \pm 1,5$ до $18,0 \pm 1,7$ соответственно. В то же время количество эозинофилов (всех генераций) достоверно уменьшалось (табл. 1).

Уровни лимфоцитов и моноцитов в костном

мозге у молодых животных имели небольшую тенденцию к росту.

Наблюдалась активация эритроидного роста, показатель которого возрос с $9,3 \pm 3,9$ до $25,7 \pm 3,0$ по отношению к контролю. Несмотря на заметный рост средних показателей они не являются достоверными, что указывает на значительный разброс в группе, связанный с индивидуальной реакцией животных на гипоксию. В частности клеточность эритроидного роста возрастала за счет нормоцитов базофильного ряда – с $3,8 \pm 0,2$ до $6,8 \pm 1,6$ ($P > 0,05$) и нормоцитов полихроматофильного ряда – с $5,1 \pm 0,3$ до $14,6 \pm 1,5$ ($P < 0,05$) по отношению к контрольной группе) (табл. 1).

Средние показатели индекса созревания нейтрофилов свидетельствуют о достаточной продукции молодых элементов зернистого ряда в сравнении с процентным содержанием зрелых гранулоцитов. В то же время у отдельных животных имела место задержка созревания клеток белой крови на стадии зрелых гранулоцитов или возможно задержка их вымывания в кровь, что приводит к большей клеточности картины костного мозга. Анализ не выявил изменений в индексе лейкоэритробластического соотношения. В то же время индекс созревания эритрокариоцитов, который определяет состояние эритроидного роста, т.е. процентное содержание полихроматативных и оксифильных клеток содержащих гемоглобин к общему проценту всех нормобластов, свидетельствует о росте гемоглобинизации, что является отражением стимуляции реакции костного мозга животных на барокамерную гипоксию (табл.1).

При затравке молодых животных токсикантами ацетатом свинца и бихроматом калия в костном мозге регистрируются бластные клетки ($0,2 \pm 0,2$). Известно, что миелобласты – это родоначальные клетки гранулоцитарного ряда, чаще круглой, реже полигональной формы, размером 15-16 мкм или 15-20 мкм. Независимо от своих размеров клетки отличаются нежной структурой ядер с равномерным распределением хроматиновых нитей, образующих тонкопетлистую сеть. Ядро содержит 2-5 ядрышек, окрашенных в синий или голубой цвет. Голубая цитоплазма окружает ядро небольшим пояском, содержит умеренное количество не всегда отчетливо видимой неспецифической азурофильной зернистости, имеющей переходные оттенки от красного до фиолетового цвета; встречаются палочки Ауэра, может присутствовать перинуклеарная зона просветления. У всех миелобластов соотношение ядра и цитоплазмы существенно сдвинуто в пользу ядра.

Фиксируется достоверное увеличение отдельных групп гранулоцитов, так, в частности возрастает уровень миелоцитов нейтрофильного ряда, метамиелоцитов до $6,6 \pm 1,2$, в сравнении с контрольной группой, палочкоядерных клеток с $2,7 \pm 0,2$ до $12,4 \pm 2,0$ ($P < 0,05$). Увеличивается количество сегментоядерных клеток с $2,7 \pm 0,2$ до $19,3 \pm 2,0$ ($P < 0,05$). В то же время происходит значительное снижение уровня базофилов, соответственно и эозинофилов всех генераций.

В нормальном костном мозге эозинофильные и

базофильные миелобласты, как правило, не встречаются. Показатель гранулоцитного роста возрастает почти в 2 раза.

Таким образом, при затравке молодых животных ацетатом свинца и бихроматом калия, наблюдается раздражение белого ростка костного мозга. Аналогично, возрастает и уровень моноцитов на фоне существенного снижения количества лимфоцитов ($18,7 \pm 0,9$ до $13,0 \pm 3,5$, $P < 0,05$) в сравнении с контрольной и гипоксической группами (табл.1).

Иная картина наблюдается со стороны красного ростка костного мозга. Так, в процессе исследования случайно выбранных зон костного мозга не определялись эритробласты. Уровень пронормобластов снизился в два раза.

Пронормоциты морфологически близки к эритробластам, но отличаются от них меньшей величиной, более грубой структурой ядра (видны большие участки оксихроматина) и отсутствием нуклеол. Форма клетки круглая или овальная. Цитоплазма значительной величины, базофильная, окрашивается в синий цвет.

В то же время количество нормоцитов с базофильной пунктацией увеличилось с $3,8 \pm 0,2$ до $7,5 \pm 0,7$. При анализе пунктата костного мозга выделяют нормоциты трех видов. Базофильные нормоциты обычно имеют размеры 10-18 мкм. Ядро круглое, плотное, не содержит нуклеол. Структура ядра более грубая, чем у пронормоцита, с четким разделением на базихроматин и оксихроматин, в результате чего ядро имеет колесовидную структуру. Цитоплазма базофильная, темно- или светло-синяя.

Уровень нормоцитов полихроматофильного и оксифильного ряда повысился с $5,1 \pm 0,3$ до $18,1 \pm 0,1$ ($P < 0,05$) и $4,0 \pm 0,2$ до $9,5 \pm 2,0$ ($P < 0,05$), (табл. 1). Полихроматофильные нормоциты по размеру меньше базофильных. Форма круглая или овальная. Ядро плотное. Сохраняется колесовидная структура ядра, но в нем уже отмечаются пикнотические изменения, выраженные в большей или меньшей степени. Цитоплазма клеток, накапливая гемоглобин, воспринимает кислые краски и в зависимости от степени насыщения гемоглобином при окрашивании приобретает цвет от серовато-синего до серовато-розового – полихроматофилия.

В то же время оксифильные нормоциты – самые маленькие из нормоцитов. В зависимости от степени созревания клетки ядерно-цитоплазматическое отношение различно. У более зрелой клетки ядро занимает меньшее пространство вследствие сморщивания или пикноза. Ядро плотное, компактное, грубопикнотическое, расположено эксцентрично. Цитоплазма ортохромная, розовая, хорошо насыщена гемоглобином, иногда содержит вблизи ядра оторвавшиеся частицы - тельца Жолли. На стадии оксифильного нормоцита происходит выталкивание ядра и превращение клетки в безъядерный эритроцит. Параллельно процессу превращения нормоцита в эритроцит идет накопление гемоглобина в цитоплазме.

Показатель эритроидного роста снизился почти

в 2 раза, но с большим разбросом среднего отклонения с $9,3 \pm 3,9$ до $5,6 \pm 2,4$ в сравнении с контрольной и барокамерной группами животных.

Суммируя эти данные в форме индексов, становится явным, что наблюдается тенденция к увеличению костномозгового индексов нейтрофилов и индекса созревания красной крови. Но одновременно достоверное снижение лейкоэритробластического отношения с $3,0 \pm 0,1$ до $1,9 \pm 0,2$ указывает на значительную редукцию костного мозга, в частности эритроидного ростка, тогда как при тренировке молодых животных в гипоксических барокамерных условиях этот индекс увеличивался (табл. 1).

Тренировка молодых животных, получавших ацетат свинца и бихромат калия, в гипоксической барокамере привела к активации гранулоцитарного ростка, в частности, к увеличению бластных клеток, а также промиелоцитов и миелоцитов нейтрофильного ряда с $7,2 \pm 2,1$ до $9,2 \pm 1,7$ соответственно. Количество палочкоядерных и сегментоядерных клеток по сравнению с предыдущими группами достоверно не изменилось, хотя и было выше, чем в интактной группе ($P > 0,05$). Снизился уровень эозинофилов (всех генераций).

Показатель гранулоцитарного ростка не отличался от двух предыдущих групп, но достоверность и разброс доверительного интервала были меньше, чем в других группах. В отличие от животных, получавших токсиканты, но без гипоксической тренировки уровень лимфоцитов приблизился к показателям интактной группы, также произошло снижение количества моноцитов в костном мозге (табл. 1).

Со стороны красного ростка костного мозга наблюдалось увеличение уровня эритробластов до величин характерных для группы животных тренированных в барокамере. Наблюдалась тенденция к сни-

жению уровня нормоцитов базофильного, полихроматофильного и оксифильного ряда до границ общепринятой нормы ($P > 0,05$) (табл. 1).

Раздражение красного ростка уменьшилось и, показатель эритроидного ростка был ниже, чем в группе животных, получавших токсиканты, но приблизился к показателю контрольной группы животных, подвергающихся барокамерной тренировке (табл. 1). Происходило увеличение уровня миелокариоцитов и мегакариоцитов.

Таким образом, можно отметить, что костномозговой индекс нейтрофилов практически не отличался от предыдущих групп, также как и индекс созревания красной крови, тогда как лейкоэритробластическое отношение по сравнению с животными с заправкой токсичными металлами увеличилось, что свидетельствует о регенераторных процессах, происходящих в красном ростке костного мозга у молодых животных под влиянием тренировки их в условиях гипобарической гипоксии.

Литература:

1. Кашкина В.С., Котляр Н.Н., Котельникова Л.В., Долгушина Н.А. Клинико-токсическая характеристика свинца и его соединений // Медицинские новости. - 2013. - №1. - С. 20-25.
2. Стародумов В.Л. Дефицит нутриентов как возможное условие развития интоксикации, вызванной воздействием малых доз свинца / В.Л. Стародумов // Гигиена и санитария, 2003. - т. №3. - С. 60-62
3. Ударцева Т.П. Механизм адаптации к совместному воздействию свинца и ограничения движения / Т.П. Ударцева. - Алматы, 2001. - С. 226.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. - М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 864-884.

Рецензент: к.м.н., доцент Раимов Б.Р.