

На правах рукописи

Новожилов Артемий Викторович

**ДИНАМИКА РЕОЛОГИЧЕСКИХ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У НЕЗРЕЛО- И ЗРЕЛОРОЖДАЮЩИХСЯ
ЖИВОТНЫХ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

03.00.13 - физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2009

Работа выполнена в лаборатории сравнительной биохимии ферментов Учреждения Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук

Лев Николаевич Катюхин

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,

профессор Ирина Анатольевна Михайлова

доктор биологических наук

Юрий Федотович Пастухов

Ведущая организация: Санкт-Петербургский государственный

Университет

Защита состоится «9» июня 2009 года в 11 часов на заседании Диссертационного совета по присуждению ученой степени кандидата наук (Д 002.127.01) при Учреждении Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН по адресу: 194223, г. Санкт-Петербург, пр. М. Тореза, 44.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Автореферат разослан «7» мая 2009 года.

Ученый секретарь Диссертационного совета,

доктор биологических наук, профессор

Маслова М.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ. Биологической основой онтогенеза является переходный процесс в функциональных системах, характеризующийся определенными закономерностями, генетической основой которого является запрограммированная репрессия одних генов и депрессия других. Для развивающегося организма более приемлемо понятие динамической нормы, нежели статичной, как для взрослого организма. Эта норма зависит от возраста организма и темпов его развития [Леонова, 1987]. Знание возрастной нормы имеет большое значение, так как при анализе полученных экспериментальных данных необходима оценка возникающих сдвигов, их интерпретация и сопоставление с биологической нормой — соответствующими физиологическими, биохимическими, гематологическими, иммунологическими показателями. Именно такое сопоставление позволяет экспериментаторам аргументировать суждение о характере и степени развивающихся в организме изменений [Трахтенберг и соавт., 1978]. Изучение закономерностей этих непрерывных изменений, выявление их узловых этапов — одна из задач возрастной физиологии и педиатрии [Леонова, 1987].

Крысы представляют интересный объект для исследования в связи с тем, что они являются незрелорождающимися животными, и характер развития ряда показателей у них аналогичен изменениям у человека с момента рождения [Леонова, 1987; Назаров, Козинец, 1992]. Известно, что главным гематологическим процессом раннего постнатального онтогенеза является замена эритроцитарной популяции, сформировавшейся еще до рождения и содержащей в разных долях плодный гемоглобин (F), на клетки с гемоглобином взрослого (A), который обеспечивает диссоциацию оксигемоглобина при больших концентрациях растворенного кислорода. Это позволяет повысить концентрацию кислорода в тканях организма [Иржак, 1975; Леонова, 1987; Alter et al., 1986; Iwahara et al., 1996; Etoh et al., 2006; Oneal et al., 2006;].

У крыс выделяют два критических возраста: период новорожденности и период между 9-ми и 17-ми сутками развития, когда количество ретикулоцитов в крови резко падает и зрелые эритроциты начинают преобладать над последними, т.е. происходит переход красного костного мозга на новый уровень функционирования [Назаров, Козинец, 1992; Казеннов и соавт., 2001]. Вторым периодом знаменателен тем, что к концу 3-й недели постнатального онтогенеза крыс происходит переход на самостоятельное питание; организм в полной мере готов к иммунному ответу за счет формирования иммунных протеасом в

печени и четко выраженных муфт вокруг артериол в селезенке [Шарова и соавт., 2007; Мельникова и соавт., 2008].

Систематических данных в онтогенезе по реологии крови у выбранных видов животных, начиная с рождения, нами не обнаружено. Авторы, исследующие реологические параметры крови и связанную с ними вязкость крови, часто уделяют внимание сравнительному аспекту этих показателей у разных видов животных во взрослом состоянии [Казеннов и соавт., 1999; Kazennov et al., 1998; Katyukhin et al., 1998; Windberger et al., 2003]. Исследования гематологических показателей в онтогенезе морских свинок представлены немногочисленными работами [Constable, 1963; Lucarelli et al., 1968; Kitagaki et al., 2005].

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ. Целью работы явилось выяснение особенностей динамики гематологических и реологических показателей крови в постнатальном онтогенезе у незрелорождающихся животных (крысы линии Вистар) и зрелорождающихся животных (морские свинки) в норме.

Для решения этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Исследовать гематологические показатели выбранных видов животных в онтогенезе.
- 2) Исследовать реологические параметры эритроцитов животных в онтогенезе.
- 3) Проследить связь между гематологическими и реологическими показателями крови.
- 4) Сопоставить измеренные показатели у зрело- и незрелорождающихся животных.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Выявлены взаимосвязанные изменения гематологических и реологических показателей эритроцитов крыс, которые наиболее заметны в переходный период от двух до трех недель. Основной причиной этих изменений является выведение фетальных эритроцитов, содержащих плодный гемоглобин.
2. Обнаружены принципиально разные стратегии адаптации двух видов животных к окружающей среде: изменения в системе крови у крыс характеризуются поступательным характером в периоде онтогенеза от новорожденности до половой зрелости (с ускорением в промежутке с 1 по 3 неделю) и приведением их в соответствие с потребностями развивающегося организма. У морских свинок

аналогичных изменений в системе крови в данном возрастном промежутке не выявлено.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Проведено детальное исследование гематологических и реологических показателей крови у двух видов животных, характеризующихся разной степенью зрелости функциональных систем при рождении, в онтогенезе. Установлены основные закономерности функционирования и становления системы эритронов в онтогенезе, имеющие принципиальные отличия у изученных видов животных. Впервые методом градиентной эктацитометрии и пьезодинамической агрегометрии в микрообъеме цельной крови, в условиях, максимально приближенных к нативным, были определены реологические показатели эритроцитов крыс и морских свинок в постнатальном онтогенезе.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАБОТЫ. Полученные результаты могут быть использованы в качестве возрастной нормы крыс и морских свинок для сравнения с экспериментальными данными при различных воздействиях на организм.

Общая тенденция изменений гематологических показателей крыс от рождения до половой зрелости и далее в процессе старения соответствует закономерностям, выявляемым при исследовании возрастных преобразований эритронов человека, что является подтверждением адекватности эритронов крыс для изучения общих механизмов эритроцитарного системогенеза.

Подтверждено участие формы эритроцита в формировании деформационных и агрегационных свойств не в эксперименте, а в нормальных условиях созревания организма.

Знание динамики реологических показателей эритроцитов в процессе онтогенеза от рождения до сенильного возраста позволяет высказать предположение, что «ухудшение» этих показателей является одним из показателей старения животного.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные результаты работы были доложены на IX Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей "Человек и его здоровье" (Санкт-Петербург, 2006); Всероссийской конференции «Научное наследие академика Л.А. Орбели. Структурные и функциональные основы эволюции функций, физиология экстремальных состояний» (Санкт-Петербург, 2008).

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 3 научные работы: 1 статья и 2 тезисов.

СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, результатов и обсуждения собственных наблюдений, выводов и библиографии. Диссертация изложена на 154 страницах печатного текста, иллюстрирована 19 рисунками, 12 таблицами. Указатель литературы включает 106 отечественных и 144 иностранных источника.

МЕТОДИКА

Работа выполнена на самцах крыс линии Вистар и морских свинок разного возраста, начиная с периода новорожденности до сенильного периода у крыс и до зрелого возраста у морских свинок. Объектами исследования являлись: цельная кровь, эритроциты, лейкоциты самцов крыс линии Вистар и морских свинок разного возраста. В качестве группы сравнения для выявления изменений гематологических и реологических показателей использовали трех месячных половозрелых животных обоих видов.

В эксперимент были взяты животные новорожденные ($n_r=6$, $n_{gp}=7$), 1-дневные ($n_{gp}=6$), 3-хдневные ($n_r=6$, $n_{gp}=9$); 1- ($n_r=9$, $n_{gp}=7$), 2- ($n_r=14$, $n_{gp}=9$), 3- ($n_r=6$, $n_{gp}=6$), 4- ($n_r=9$, $n_{gp}=11$), 5- ($n_r=5$, $n_{gp}=6$), 6- ($n_r=9$, $n_{gp}=5$), 7-недельные ($n_r=7$); 2- ($n_r=7$, $n_{gp}=5$), 3- ($n_r=10$, $n_{gp}=6$), 4- ($n_r=8$), 5- ($n_r=5$, $n_{gp}=3$), 9-месячные ($n_r=3$); а также в возрасте 1,5- ($n_r=2$, $n_{gp}=3$) и 2,1 года ($n_r=2$), где n_r – число проб крови крыс, n_{gp} – число морских свинок. Для исследования брали смешанную артериовенозную кровь. Животных умерщвляли с помощью гильотины. У маленьких крысят объединяли кровь, взятую одновременно от 2-6 особей. Число проб крови у крыс составило 108. У морских свинок число экспериментальных животных составило 83.

Мы постарались по возможности исключить влияние процесса подготовки к эксперименту животного на его функциональное состояние. Для этого принесенные из вивария взрослые животные находились в течение двух часов в отдельных клетках, а животные, не достигшие половой зрелости, и, в связи с этим, содержащиеся в виварии в одной клетке, помещались на аналогичное время в одну клетку. Кровь собирали в пробирки с гепарином в концентрации 150 ЕД/мл крови. Анализы проводили в день забора крови. Животные, характеризовавшиеся резкой функциональной неравнозначностью эритроцитов, выбраковывались.

Для определения деформационных свойств эритроцитов был использован метод осмотической градиентной эктацитометрии. Метод позволяет выявить средноклеточное удлинение эритроцитов (индекс деформируемости эритроцитов (Iэ)) при фиксированном

напряжении сдвига 523 н/м^2 в широком диапазоне осмоляльности суспензионной среды [Johnson, 1989; Белкин, Сторожок, Катюхин, 1991]. Агрегационные свойства эритроцитов определяли с помощью пьезодинамического метода измерения обратимой агрегации в микрообъеме [Тухватулин и др., 1986]. Производили расчет индекса агрегации I_a , величина которого прямо пропорциональна максимальной прочности агрегатов и скорости агрегации эритроцитов. Для определения морфологических закономерностей развития системы эритрона и клеток белого ростка крови были рассчитаны стандартные гематологические показатели периферической крови (гематокрит, число эритроцитов и лейкоцитов в единице объема, концентрация гемоглобина). Произведен подсчет лейкоцитарной формулы, общего числа ретикулоцитов в процентах от клеток эритроидного ряда, а также соотношение ретикулоцитов разной степени зрелости. На основании стандартных гематологических параметров рассчитаны: средний объем эритроцитов (СЭО), среднее содержание гемоглобина в 1 клетке (СЭГ) и средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (СЭКГ). Для оценки состояния мембран эритроцитов (соотношения возрастных популяций эритроцитов) проводили определение кислотной стойкости эритроцитов [Гительзон, Терсков, 1959]. Дифференцирование кривых кислотного гемолиза проводилось на приборе SPECORD UV VIS методом, разработанным в лаборатории.

Результаты обработаны с помощью пакета программ Statistica 6.0 по критерию Манна-Уитни для двух независимых выборок. Цифровые данные представлены в результатах средними арифметическими значениями с их среднеквадратическими ошибками.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Реологические и гематологические показатели крови крыс в ювенальный период

Индекс деформируемости эритроцитов в течение первых трех недель возрастал с $0,738 \pm 0,052$ до $0,867 \pm 0,033$ отн. ед., что свидетельствовало об увеличении торроидальности эритроцитов. Далее происходило снижение показателя до $0,708 \pm 0,034$ отн. ед. у трехмесячных крыс (рис. 1). Обрато пропорционально I_a изменялся параметр O_{min} ($r = -0,51$), свидетельствующий о величине удельной поверхности эритроцитов (S/V). То есть деформируемость эритроцитов увеличивалась с возрастанием торроидальности клеток.

Индекс агрегации эритроцитов был минимальным у новорожденных крысят ($0,90 \pm 0,09$ отн. ед.), возрастал к четвертой неделе жизни ($7,38 \pm 0,55$) и вновь снижался к периоду полового созревания ($1,85 \pm 0,21$ отн. ед.). При этом обнаружена сильная прямая положительная связь между

Иэ и Ia ($r = 0,51$).

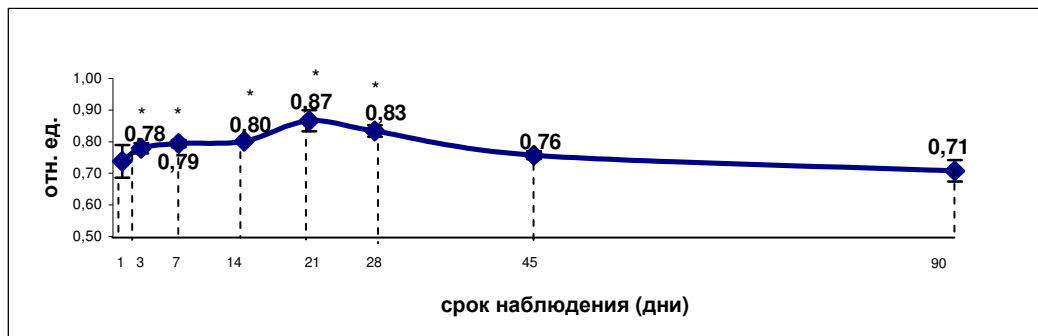


Рис. 1. Изменение индекса деформируемости (Иэ) в ювенальном периоде крыс. * - $p < 0,05$, где p – уровень значимости отличий при сравнении с значениями группы половозрелых животных.

Число эритроцитов имело тенденцию к росту в течение всего времени наблюдения, на 1-ой неделе этот показатель был ниже, чем в контроле, в 2,6 раза $((2,93 \pm 0,09) \cdot 10^{12}$ 1/л, $(7,76 \pm 0,15) \cdot 10^{12}$ 1/л, соответственно). Начиная со 2-й недели постнатального онтогенеза, происходил резкий прирост этого показателя. К концу второго месяца число эритроцитов выходило на плато (рис. 2).

Была выявлена тенденция роста числа белых клеток крови. У новорожденных крысят число лейкоцитов было в шесть раз меньше, чем в контроле $((0,69 \pm 0,07) \cdot 10^6$ 1/л, $(4,37 \pm 0,45) \cdot 10^6$ 1/л, соответственно). В течение всего периода наблюдения происходил постоянный рост этого показателя, и к концу 2-ого месяца достоверных отличий с контролем не отмечалось (рис. 2).

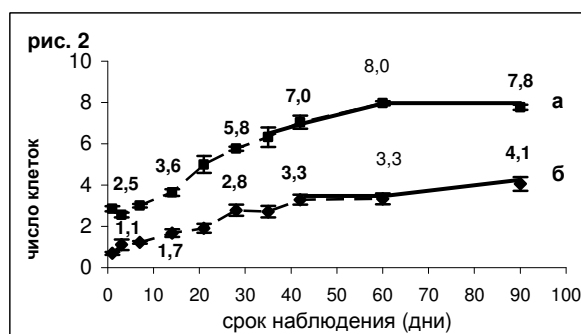


Рис. 2. Динамика числа эритроцитов ($\cdot 10^{12}$ 1/л) (кривая а) и лейкоцитов ($\cdot 10^9$ 1/л) (кривая б) в ювенальном периоде крыс.

----- - штриховой линией указан период, когда уровень значимости отличий составил $p < 0,01$.

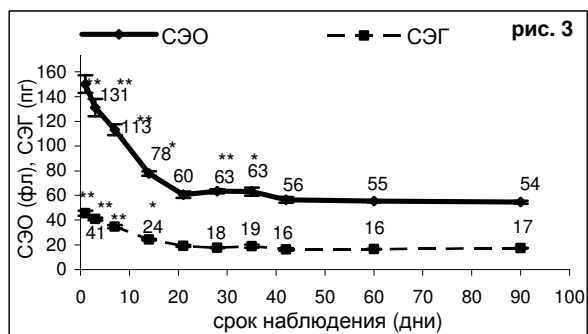


Рис. 3. Динамика среднеклеточного объема (СЭО) и среднего содержания гемоглобина в эритроците (СЭГ) в ювенальном периоде крыс. Здесь и далее: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, где p – уровень значимости отличий при сравнении с значениями группы половозрелых животных.

К третьей неделе постнатального онтогенеза резко уменьшался среднечелочный объем эритроцитов. У новорожденных объем эритроцита превосходил таковой у 3-месячных животных в 2,7 раза ($150,1 \pm 7,1$ и $55,0 \pm 1,1$ фл, соответственно), что связано с интенсивным выведением из русла крупных эритроцитов и увеличением доли эритроцитов, характерных для взрослых животных (рис. 3).

В соответствии со средним корпускулярным объемом снижалось среднечелочное содержание гемоглобина. У новорожденных значение этого показателя составляло $45,5 \pm 2,0$ пг, у трехмесячных крыс – $17,6 \pm 0,4$ пг. На третьей неделе постнатального онтогенеза достоверных отличий уже не выявлено (рис. 3).

Данные подсчета лейкоцитарной формулы показали, что до двухнедельного возраста увеличивалось относительное содержание лимфоцитов в периферической крови. У новорожденных крысят в мазках периферической крови было обнаружено большое содержание ядер, выброшенных из нормобластов, и дегенеративных нормобластов, относительное содержание которых в лейкоцитарной формуле составило 92 % от всех посчитанных клеток, за исключением эритроцитов. Ко второй неделе этот показатель уже составил 4,5 % (рис. 4). Число лимфоцитов возрастало в течение первых двух недель онтогенеза (с 17 до 90%, от общего числа лейкоцитов) и становилось статистически неотличимым от значения 3-месячных животных.

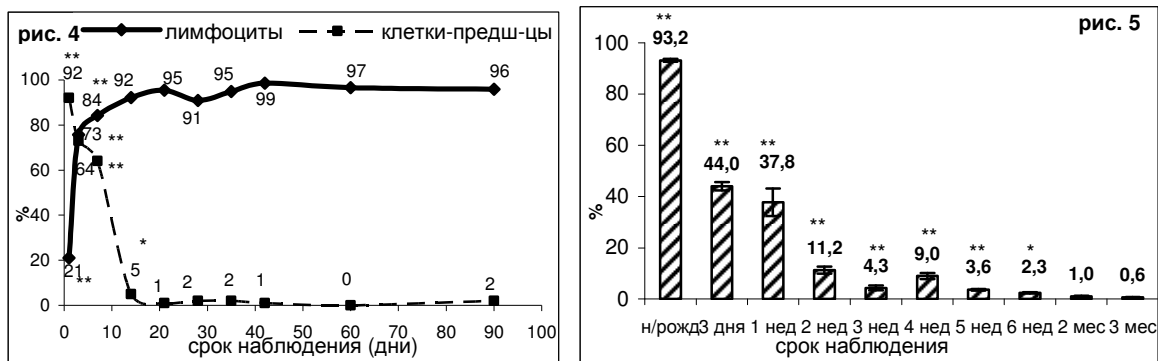


Рис. 4. Изменение относительного содержания лимфоцитов (в % от клеток лейкоцитарной формулы) и клеток-предшественниц эритроцитов и дегенеративных клеток (в % от всех посчитанных клеток, за исключением эритроцитов) в ювенальном периоде крыс.

Рис. 5. Изменение числа ретикулоцитов (в % от числа эритроцитов) в ювенальном периоде крыс.

Число ретикулоцитов снижалось особенно резко в первые две недели жизни. У новорожденных этот показатель превышал контрольное значение почти в 150 раз ($93,2 \pm 0,6\%$ - новорожденные, $0,6 \pm 0,2\%$ - трехмесячные). Наиболее резкое снижение числа

ретикулоцитов происходило на рубеже второй и третьей недель с $37,8 \pm 5,4\%$ до $11,2 \pm 0,8\%$ (рис. 5).

Анализ кислотной эритрограммы показал, что популяционный состав эритроцитов у крыс в первый месяц жизни изменен. Резкий сдвиг кривой вправо указывал на высокое содержание «молодых» эритроцитов, что коррелировало с повышенным содержанием ретикулоцитов в крови, мембраны которых устойчивы к действию повреждающих факторов. Так, у новорожденных пик распада эритроцитов сдвинут вправо относительно 3-хмесячных животных, кроме того, кривая распада эритроцитов у новорожденных более растянута во времени, что указывало на значительную неоднородность популяции красных клеток крови новорожденных крысят.

Далее происходило постепенное сближение кривых кислотной резистентности, а также повышение до контрольного значения величины пика распада. В этом отношении интересным явился период трех недель. В этот период кривая кислотной резистентности эритроцитов имела сходные черты с гемограммой как новорожденных, так и взрослых крыс.

Со временем происходило снижение скорости эритропоза и, как следствие, увеличение доли зрелых эритроцитов (рис. 6).

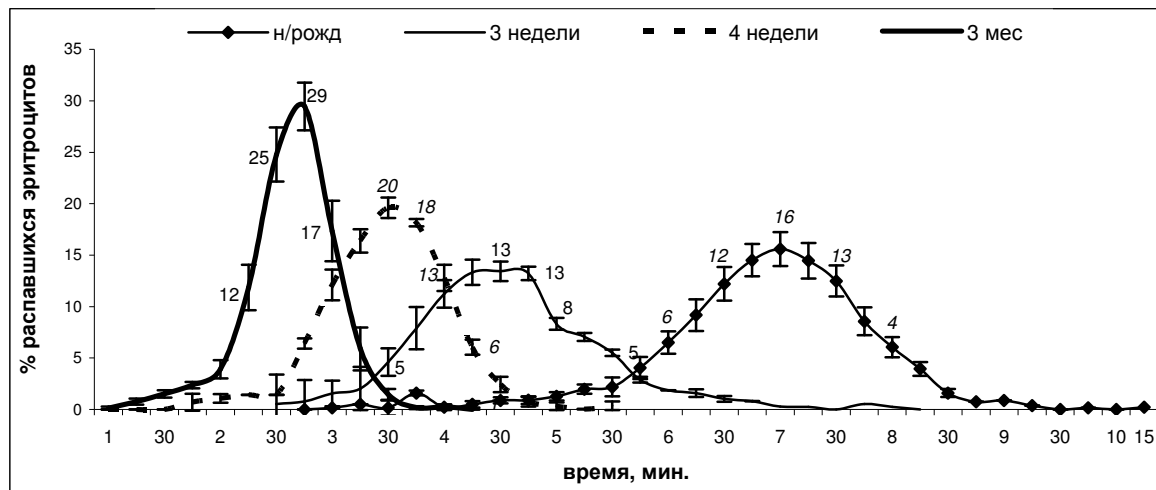


Рис. 6. Гемограммы крыс разного возраста. По оси ординат - % распавшихся эритроцитов на данный момент времени от общего содержания эритроцитов в пробе; по оси абсцисс – время распада эритроцитов в минутах с интервалом в 30 секунд.

Реологические и гематологические показатели крови крыс в постпубертатном периоде

На данном промежутке онтогенеза индекс деформируемости (рис. 7) и индекс агрегации (рис. 8) эритроцитов имели достаточно постоянные значения, сопоставимые со значениями новорожденных (у которых I_d составил $0,738 \pm 0,052$ отн. ед., а $I_a - 0,90 \pm 0,09$ отн. ед.).

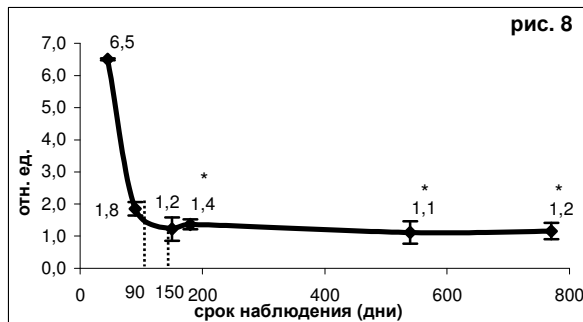
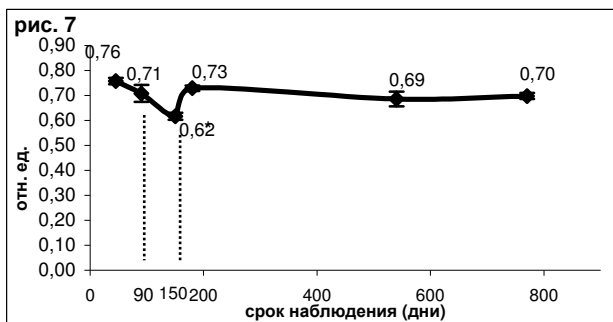


Рис. 7. Изменение индекса деформируемости в постпубертатном периоде крыс.

Рис. 8. Изменение индекса агрегации эритроцитов в постпубертатном периоде крыс.

Эритроциты самых старых крыс обладали повышенной осмотической и кислотной стойкостью. Показателем осмотической стойкости является разность O' -Омин, которая у крыс в возрасте 2,1 года составила $291,5 \pm 1,5$ мОсм, у половозрелых этот показатель равен $259,3 \pm 8,3$ мОсм. Этот факт согласуется с гематологическими показателями: крысы возраста 2,1 года имели повышенное количество ретикулоцитов. В соответствии с этим кривая кислотного гемолиза у них оказалась сдвинута вправо (рис. 9).

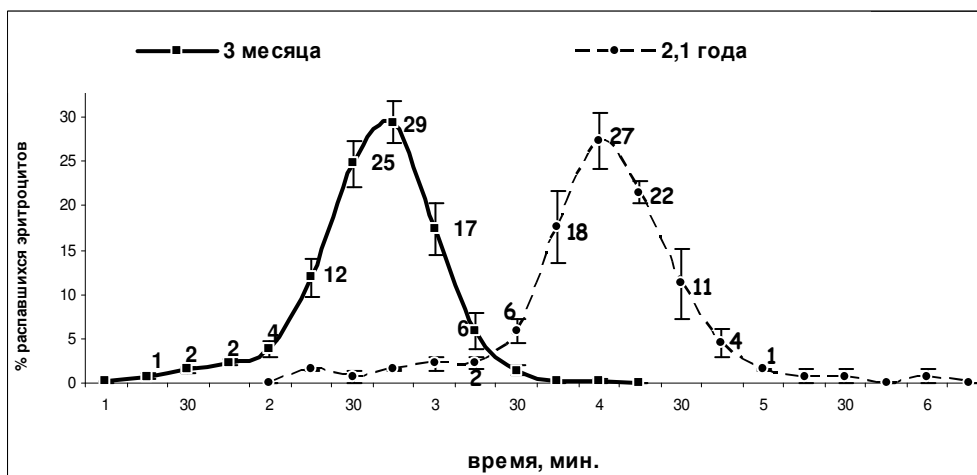


Рис. 9. Гемограммы половозрелых и старых крыс. По оси ординат — % распавшихся эритроцитов на данный момент времени от общего содержания эритроцитов в пробе.

Исследование остальных гематологических показателей не выявило какой-либо тенденции и взаимосвязи их изменений.

Реологические и гематологические показатели крови морских свинок в постнатальном онтогенезе

Аппроксимирующая полиномиальная кривая показывает явную тенденцию снижения индекса деформируемости эритроцитов с возрастом. Максимальное значение этот параметр принимал у новорожденных свинок - $0,77 \pm 0,001$ отн. ед. С трех дней до трех недель данный показатель был стабильным, затем постепенно снижался (рис. 10). Обратно пропорционально ему изменялся параметр Омин ($r = -0,83$), возрастание которого свидетельствовало об увеличении сферичности эритроцитов.

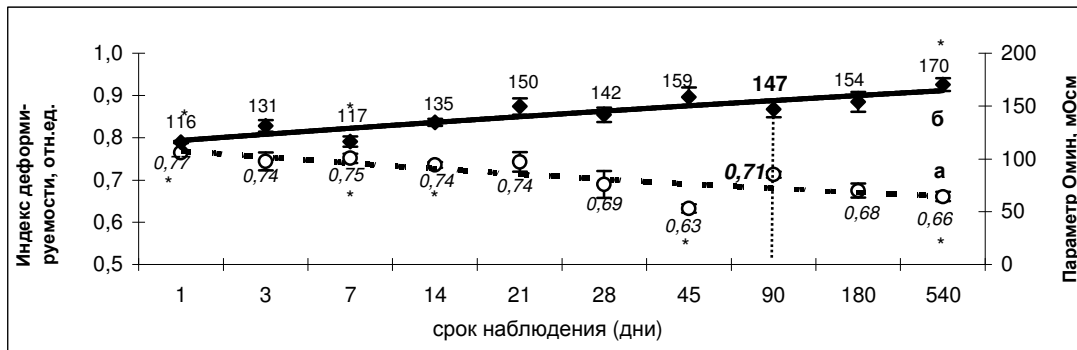


Рис. 10. Изменение индекса деформируемости (а) и параметра Омин (б) в постнатальном онтогенезе морских свинок.

Гематологические показатели морских свинок во время постнатального онтогенеза были достаточно постоянными. Об этом можно судить по числу эритроцитов (рис. 11), показателю гематокрита и концентрации гемоглобина в крови. Исключение составляло лишь число лейкоцитов, которое росло до возраста половой зрелости животных, в дальнейшем изменений этого показателя не происходило (рис. 12).

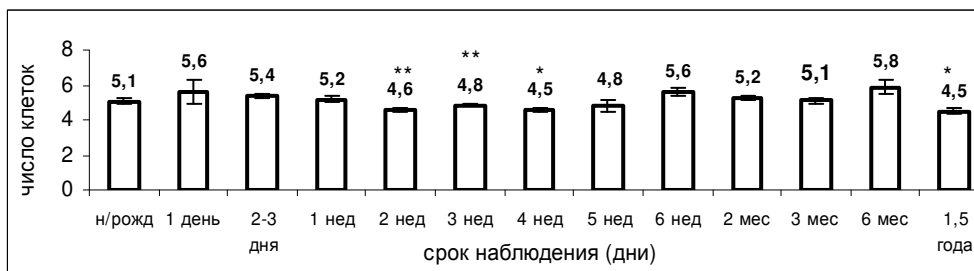


Рис. 11. Изменение числа эритроцитов ($\cdot 10^{12}$ /л) в постнатальном онтогенезе морских свинок.

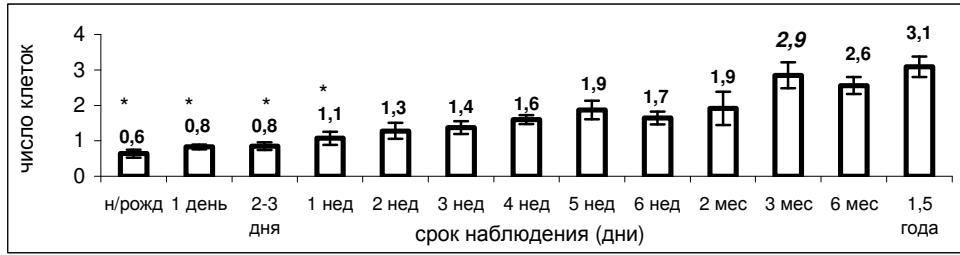


Рис. 12. Изменение числа лейкоцитов ($\cdot 10^9$ 1/л) в постнатальном онтогенезе морских свинок.

Наблюдалась тенденция роста среднего содержания гемоглобина и средней концентрации гемоглобина в эритроците.

Незначительным колебаниям были подвержены как величина, так и время пика распада и протяженность кривой кислотного гемолиза на всем исследованном промежутке онтогенеза. Это указывало на постоянство популяционно-возрастного состава эритроцитов (рис. 13 а,б).

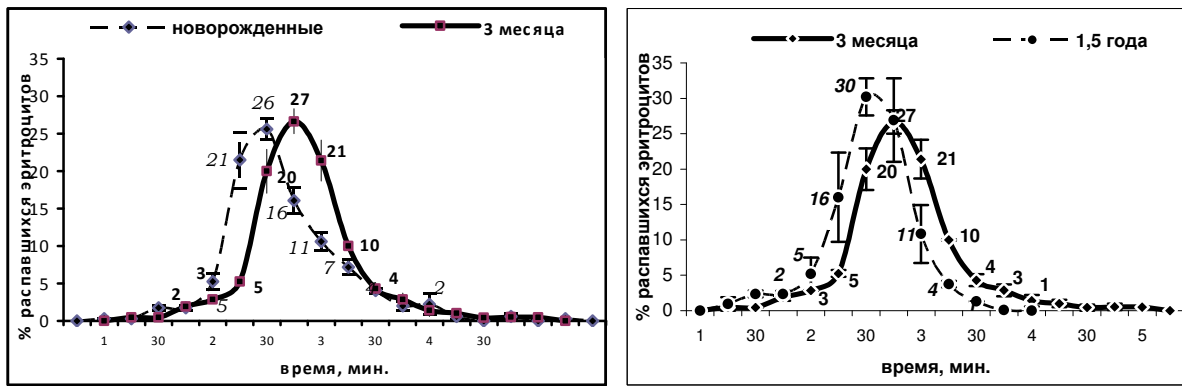


Рис. 13 а,

б.

Гемограммы морских свинок разного возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В 1-е сутки жизни количество эритроцитов в единице объема крови, уровень гемоглобина и показатель гематокрита повышались у обоих видов исследованных животных. Это явление объясняется потерей части сосудистого русла с плацентой. Вторая причина – это потеря жидкости через легкие и адаптационная перестройка водно-электролитного обмена, что приводит не только к изменению концентрации эритроцитов в русле крови, но и к снижению массы тела новорожденного [Севостьянова, Виноградова, 2006].

Организм, находясь во внутриутробных условиях до рождения, испытывает постоянное воздействие гипоксии. Этот факт, а также активный рост массы тела приводят к активации

эритропоэза. При напряженном эритропоэзе происходит сдвиг в сторону омоложения клеток крови, выход в русло менее зрелых, более крупных форм. В связи с этим эритроциты новорожденных характеризуются заметным анизоцитозом и содержат больше гемоглобина [Севостьянова, Виноградова, 2006; Леонова, 1987].

После рождения особенно радикально меняются условия функционирования кислородтранспортной системы и в соответствии с этим концентрация кислорода в тканях, условия дезоксигенации гемоглобина [Леонова, 1987]. Это вызывает снижение эритропоэза и падение количества ретикулоцитов. Вместе с тем переход на самостоятельное дыхание атмосферным воздухом является мощным стимулом для переключения синтеза гемоглобина с фетального на взрослый у незрелорождающихся животных, в том числе и у человека. Наши данные подтвердили мнение, что общая тенденция изменений в эритроэне крыс в онтогенезе соответствует закономерностям, выявляемым при исследовании возрастных преобразований эритроэна человека [Назаров, Козинец, 1992]. Эритроциты, сформировавшиеся внутриутробно и содержащие фетальный гемоглобин, обладают низкой продолжительностью жизни и быстро выводятся из русла. Снижение количества плодного гемоглобина происходит как за счет смены клонов эритроидных клеток, различающихся по способности накапливать фракции плодного и взрослого гемоглобинов, так и за счет депрессии генов, экспрессирующих фетальный гемоглобин. В этом отношении период постнатального онтогенеза крыс до одного месяца является знаменательным, характеризующимся значительными перестройками морфофункциональных и биохимических свойств эритроцитов. Таких заметных изменений не наблюдалось у зрелорождающихся животных (морских свинок). Вероятно, смены синтеза гемоглобиновых цепей у них не происходит, изменяется лишь структура гемоглобина, что позволяет быстро и эффективно адаптировать функциональные возможности крови к потребностям организма в новых условиях [Иржак, 1975].

Динамика числа лейкоцитов в онтогенезе сходна у исследованных видов, тогда как концентрация эритроцитов в единице объема крови является отличительной особенностью этих двух видов животных. У крыс она неуклонно возрастала до наступления половой зрелости, у морских свинок число эритроцитов оставалось более постоянным на всем исследованном промежутке, за исключением периода 1-3 недель. У морских свинок среднечеточный объем, так же как и число эритроцитов, оставался постоянным. При несоответствии скоростей процессов роста массы тела и длины сосудов может наблюдаться некоторый «провал» по числу эритроцитов и связанным с ним показателям гематокрита и гемоглобина (что наблюдалось у морских свинок в возрасте 1-3 недель).

Измерение реологических детерминант показало, что эритроциты новорожденных крысят характеризовались более низкой деформируемостью, что могло быть обусловлено отчасти большим содержанием в их мембранах насыщенных жирных кислот, понижающих текучесть последних [Colin et al., 1992], а также большей сферичностью клеток. Далее происходило постепенное повышение деформируемости эритроцитов, что получило наибольшее выражение у крысят в возрасте от двух до четырех недель жизни. Индекс деформируемости эритроцитов у них (в возрасте трех недель) оказался самым высоким на всем исследованном промежутке онтогенеза, тогда как показатель Омин (характеризующий отношение S/V) принимал наименьшие значения в возрасте двух-трех недель. Происходили также заметные изменения показателей агрегации эритроцитов: в четыре недели наблюдались заметно повышенная прочность агрегатов и скорость агрегатообразования. Эритроцитам крысят данного возраста свойственна самая высокая деформируемость, как было указано выше. Это обусловлено накоплением в кровеносном русле новых эритроцитов, сформировавшихся после рождения [Леонова, 1987; Alter et al., 1986], обладающих большей удельной поверхностью по сравнению с фетальными эритроцитами и большей эластичностью мембраны [Colin et al., 1992].

После периода выраженного подъема деформационных и агрегационных свойств эритроцитов у крыс происходило снижение величин реологических детерминант к моменту полового созревания и выход их на плато без существенных изменений в течение остального исследованного периода онтогенеза. Аналогичная тенденция касается и гематологических показателей. Это свидетельствует о том, что установилось равновесие процессов эритропоэза и эритролизиса.

Система эритрона становится способной адекватно и эффективно снабжать клетки организма в условиях дыхания атмосферным воздухом. Этому способствует «стандартизация» красных клеток крови по размеру, популяционно-возрастному составу и свойствам, что обуславливает большую равномерность микроциркуляции и формирует более упорядоченную геометрию потока в крупных сосудах. Возрастает кислородная емкость крови за счет увеличения концентрации гемоглобина в эритроците, что способствует большей эффективности клетки как переносчика кислорода.

Расчетные показатели эритроцитов морских свинок, а также профиль и положение кривой кислотного гемолиза эритроцитов в координатах на всем исследованном промежутке постнатального онтогенеза оказались достаточно постоянными. Это говорит о постоянстве

популяции эритроцитов, уже начиная с рождения, как по морфологическим, так и по биохимическим свойствам. Скорость эритропоэза также имела постоянное значение в этот период онтогенеза, о чем говорит неизменное количество ретикулоцитов в периферической крови.

В отличие от крыс, у морских свинок наибольшим индексом деформируемости обладали эритроциты новорожденных животных. В дальнейшем он линейно снижался до конца периода наблюдения. Обратное пропорционально индексу деформируемости изменялся параметр O_{min} , свидетельствующий о снижении удельной поверхности эритроцитов ($r = -0,83$). Это отчасти объясняет снижение деформируемости эритроцитов с возрастом.

Из вышесказанного можно заключить, что для развивающегося организма, в отличие от взрослого, у которого в норме система крови находится в состоянии динамического равновесия, гибель клеток компенсируется равной по числу продукцией клеток в костном мозге. Для растущего организма характерно неравновесное состояние – продукция эритроцитов превалирует над деструкцией. Это положение можно выразить простой формулой $N = P - Q = 0$ для взрослого организма, где N – общее число эритроцитов в организме; P – число эритроцитов, вышедших в сосудистое русло за единицу времени; Q – число эритроцитов, покинувших сосудистое русло за то же время.

Для плода и новорожденного это уравнение не выполняется, и статус его системы крови описывается соотношением $N = P - Q > 0$, причем $P - Q \neq const$, т.е. разность между продукцией и распадом эритроцитов меняется с возрастом, пока не станет нулевой, как у взрослого организма. Аналогичной точки зрения придерживается В.Г. Леонова, чьи работы выполнены на человеке в онтогенезе [Леонова, 1987].

Причина неравновесия в системе красной крови – постоянно положительный, но идущий с разной скоростью в различные фазы развития, рост массы тела, требующий соответствующего прироста количества клеток крови. При увеличивающейся емкости сосудистого русла в норме поддерживается относительно постоянная концентрация клеток в крови. Величина превышения непостоянна и закономерно меняется с возрастом. Еще более осложняет ситуацию то, что в онтогенезе (в частности, человека) несколько раз сменяются популяции эритроцитов, происходящие из разных клонов клеток-предшественниц. Эти клоны существенно различаются по составу полипептидных цепей глобина, по составу липидов мембраны, антигенной структуре и по ряду других компонентов [Леонова, 1987].

ВЫВОДЫ

Проведено сравнительно-физиологическое исследование незрело- и зрелорождающихся животных.

1) Существенные изменения реологических и гематологических показателей у крыс соответствуют потребностям организма в период созревания основных систем и смены фетальных эритроцитов на эритроциты, содержащие гемоглобин взрослых (в первый месяц постнатального онтогенеза). Значения индексов деформируемости и агрегации в возрасте от 3 дней до 3 месяцев были самыми высокими. После полового созревания реологические показатели крови находились в стабильном, сниженном состоянии, близком к значениям у 3-х месячных животных.

2) У крыс выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между индексом деформируемости и параметром Омин, являющимся мерой удельной поверхности эритроцита. То же характерно и для индекса агрегации. Это указывает на зависимость деформируемости и агрегации эритроцитов от формы клеток. Между индексами деформируемости и агрегации на протяжении постнатального развития обнаружена сильная прямая положительная корреляционная связь ($r = 0,72$).

3) У морских свинок с момента рождения и до окончания исследования происходило снижение индекса деформируемости и повышение индекса агрегации эритроцитов. Закономерность смены неравновесного состояния системы эритронов в период до половой зрелости у крыс на равновесное состояние у взрослых животных не характерна для морских свинок.

4) У морских свинок выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между индексом деформируемости и параметром Омин, как и у крыс. Однако, характер связи индекса агрегации и параметра Омин, а также индексов деформируемости и агрегации был обратным. Физиологический механизм регуляции вязкостных свойств крови за счет реципрокных последствий прямой положительной связи реологических детерминант у морских свинок не обнаружен.

5) Изменения реологических детерминант в критический период смены популяций эритроцитов четко отражаются в закономерностях изменений гематологических показателей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1) Новожилов А.В. Влияние острого иммобилизационного стресса на некоторые гематологические показатели // Тезисы докладов Девятой Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей "Человек и его здоровье".-СПб, 2006, С.239-240.
- 2) Новожилов А.В. Динамика гематологических показателей крыс линии Вистар и морских свинок в постнатальном онтогенезе // Сборник материалов Всероссийской конференции «Научное наследие академика Л.А. Орбели. Структурные и функциональные основы эволюции функций, физиология экстремальных состояний».-СПб, 2008, С.115-116.
- 3) 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.