

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 619:616.419:616.441.64

Д.В. Гармаева, Л.С. Васильева, О.А. Макарова, Н.Г. Макарова

### СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОИДНОГО ЗВЕНА СИСТЕМЫ КРОВИ У СТРЕССИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ С ГИПОТИРЕОЗОМ

ФГБОУ ВПО Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (Иркутск)  
ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ (Иркутск)

*Гипотиреоз, вызванный введением мерказолила, приводит к уменьшению продукции тиреоидных гормонов, дестабилизации мембран и ускорению гибели эритроцитов, активации эритропоэза, развитию макроэритроцитоза в крови. Через 28 суток после отмены мерказолила резервы костного мозга истощаются, в крови нарастает микроэритроцитоз. Стресс у животных с гипотиреозом не изменяет состав эритроцитов крови и активность эритропоэза, но способствует сохранению костномозгового резерва эритроцитов и увеличивает уровень тиреоидных гормонов.*

**Ключевые слова:** гипотиреоз, стресс, эритроциты, эритропоэз

### CONDITION OF THE ERYTHROID PART OF BLOOD SYSTEM AT STRESSED ANIMALS WITH HYPOTHYREOSIS

D.V. Garmayeva, L.S. Vasilyeva, O.A. Makarova, N.G. Makarova

Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk  
Irkutsk State Medical University, Irkutsk

*Hypothyreosis, caused by introduction of mercazolil, leads to reduction of production of thyroid hormones, destabilization of membranes and acceleration of erythrocytes destruction, activation of erythropoiesis, development of macroerythrocytosis in blood. In 28 days after cancelling of mercazolil reserves of red bone marrow are exhausted, in blood microerythrocytosis accrues. The stress in animals with hypothyreosis does not change the composition of blood erythrocytes and activity of erythrocytopoiesis, but promotes preservation of a marrow reserve of erythrocytes and increases a level of thyroid hormones.*

**Key words:** hypothyreosis, stress, erythrocytes, erythropoiesis

Эритроидное звено системы крови, обеспечивая кислородом энергетический обмен, является обязательным участником формирования метаболического статуса организма. С этих позиций нарушения в эритроидном звене системы крови могут усугублять клинические проявления гипотиреоза, снижающего основной обмен [2], а также могут оказывать влияние на реализацию стресс-реакции, требующей активации и перестройки метаболизма [4]. Вместе с тем на сегодняшний день сведений о состоянии эритроидного звена при гипотиреозе и стрессе в литературе крайне мало. Становится очевидной необходимость исследования этого аспекта гипотиреоидного состояния, что даст возможность расширить базу знаний об адаптивных возможностях организма при гипотиреозе и совершенствовать способы лечения этой патологии.

**Цель** исследования заключалась в выявлении нарушений в эритроидном звене системы крови в условиях экспериментального гипотиреоза у стрессированных и не стрессированных животных.

### МЕТОДИКА

Исследования выполнялись с учётом этических требований к биомедицинским работам и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 года. Исследования проводили в стандартных условиях вивария Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Иркутского государственного медицинского университета на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в осенне-зимний период. Животные были доставлены из вивария Института биофизики г. Ангарска. Экспериментальный гипотиреоз моделировали введением перорально (с кормом) мерказолила в дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 8 недель. Имобилизационный стресс моделировали однократной 6-часовой иммобилизацией на спине. В эксперименте использовано 42 крысы. Шесть из них оставались интактными. Остальные животные были разделены на 2 группы по 18 животных в каждой. Первая группа включала животных, которым моделировали гипотиреоз. Второй группе животных моделировали гипоти-

реоз, а затем (сразу после отмены мерказолила) – иммобилизационный стресс. Животных выводили из эксперимента методом декапитации. Материал для исследования брали на 2-е, 7-е и 28-е сутки после отмены мерказолила.

В периферической крови с помощью камеры Горяева подсчитывали число эритроцитов и определяли их осмотическую резистентность (ОРЭ) по методу А.А. Яновского [3]. Мазки крови и красного костного мозга (ККМ) окрашивали по Паппенгейму [3]. В мазках крови дифференцировали и подсчитывали % количество микроцитов (размер < 7 мкм), нормоцитов (7–8 мкм) и макроцитов (> 8 мкм) с последующим пересчетом на абсолютное количество в литре крови. В мазках костного мозга подсчитывали миелограмму (на 1000 клеток). Вычисляли индекс пролиферации (ИП) и созревания (ИС) клеток эритропоэза по формулам [1]:

$$\text{ИП} = \frac{[(\text{ПроЭр} \times 0 + \text{БН} \times 1 + \text{ПН} \times 2) / (\text{ПроЭр} + \text{БН} + \text{ПН})] \times \Sigma,}{\text{ИС} = \frac{[(\text{ПН} \times 0 + \text{ОН} \times 1 + \text{Эр} \times 2) / (\text{ПН} + \text{ОН} + \text{Эр})] \times \Sigma,$$

где: ПроЭр – количество проэритробластов; БН – количество базофильных нормобластов; ПН – количество полихроматофильных нормобластов; ОН – количество оксифильных нормобластов; Эр – количество зрелых эритроцитов в костном мозге;  $\Sigma$  – сумма всех клеток эритроидного ряда.

Полученные данные обрабатывали статистически с определением типа распределения вариационных рядов, среднего арифметического, ошибки среднего, среднего квадратичного отклонения (Statistica v. 6.0). Достоверность различий средних величин определяли по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Гипотиреоз приводил к дестабилизации и потере пластичности мембран эритроцитов, снижая ОРЭ более чем в 2 раза во все сроки наблюдения. При этом возрастала масса красной пульпы селезенки (в 1,3 раза) и разрушение эритроцитов в ней (масса гемосидерина возросла в 2–3,9 раза). Несмотря на это, количество эритроцитов в периферической крови проявляло тенденцию к увеличению (табл. 1), что сопровождалось тенденцией к макроанизоцитозу на 2-е сутки после отмены мерказолила и развитием микроанизоцитоза к 28-м суткам. Эти данные косвенно указывают на стимуляцию эритропоэза, вероятно, продуктами распада эритроцитов.

При исследовании мазков красного костного мозга (ККМ) оказалось, что на 2-е сутки после отмены мерказолила в нем было увеличено в 1,4 раза депо зрелых эритроцитов за счет стимуляции их созревания (индекс созревания увеличен в 1,3 раза). При этом существенно уменьшилось количество проэритробластов (в 1,4 раза), полихроматофильных

**Таблица 1**

**Показатели эритроидного звена и количества эритроцитов в периферической крови у стрессированных и не стрессированных животных с гипотиреозом.**

Группа животных / Показатели	Интакные	Гипотиреоз			Гипотиреоз + стресс		
<i>Периферическая кровь, *10<sup>12</sup>/л</i>							
ОРЭ	5,08 ± 0,41	2,4 ± 0,7 <sup>1</sup>	2,4 ± 0,35 <sup>1</sup>	2,5 ± 0,5 <sup>1</sup>	2,3 ± 0,2 <sup>1</sup>	4,2 ± 0,6 <sup>2</sup>	3,03 ± 0,6 <sup>1</sup>
Эритроциты	5,33 ± 0,17	5,83 ± 0,37	6,47 ± 0,22	6,26 ± 0,13	6 ± 0,2	5,36 ± 0,34	6,3 ± 0,61
Нормоэритроциты	3,87 ± 0,05	4,06 ± 0,9	6,02 ± 0,3 <sup>1</sup>	4,46 ± 0,3	4,1 ± 0,01	4,07 ± 0,06	4,85 ± 0,009
Микроэритроциты	0,49 ± 0,006	0,62 ± 0,1 <sup>1</sup>	0,09 ± 0,05 <sup>1</sup>	1,04 ± 0,1 <sup>1</sup>	0,6 ± 0,006	0,4 ± 0,03	0,59 ± 0,007 <sup>2</sup>
Макроэритроциты	0,93 ± 0,08	1,2 ± 0,3	0,27 ± 0,04 <sup>1</sup>	0,69 ± 0,2 <sup>1</sup>	1,36 ± 0,01 <sup>1</sup>	0,81 ± 0,07	0,9 ± 0,01 <sup>2</sup>
<i>Красная пульпа селезенки, граммы</i>							
Масса селезенки	0,97 ± 0,11	0,94 ± 0,06	1,11 ± 0,007	1,22 ± 0,1 <sup>1</sup>	0,7 ± 0,08 <sup>2</sup>	1,1 ± 0,1	0,98 ± 0,2 <sup>2</sup>
Красная пульпа	0,74 ± 0,02	0,74 ± 0,02	0,92 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,97 ± 0,03 <sup>1</sup>	0,5 ± 0,01 <sup>1,2</sup>	0,9 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,8 ± 0,02
Гемосидерин	0,08 ± 0,01	0,28 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,31 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,1 ± 0,01 <sup>2</sup>	0,2 ± 0,01 <sup>1,2</sup>	0,2 ± 0,02 <sup>1,2</sup>
<i>Красный костный мозг, из 1000 всех клеток</i>							
Проэритробласты	24,67 ± 4,61	17,3 ± 2,56 <sup>1</sup>	20,2 ± 4,32	21,4 ± 2,89	8,6 ± 0,8 <sup>1</sup>	14,7 ± 2,4 <sup>1,2</sup>	29,8 ± 5,8 <sup>2</sup>
Базоф. нормобласты	58,33 ± 8,66	62 ± 6,37	68,8 ± 3,22	65,4 ± 6,62	29,7 ± 4,5 <sup>1,2</sup>	83 ± 7,2 <sup>1,2</sup>	50,8 ± 4,5 <sup>2</sup>
Полихром. нормобл	86,0 ± 11,91	46,3 ± 4,99 <sup>1</sup>	84,6 ± 7,19	150 ± 8,0 <sup>1</sup>	43,7 ± 5,6 <sup>1</sup>	128,5 ± 8,3 <sup>1,2</sup>	78,4 ± 5,7 <sup>2</sup>
Оксиф. нормобласты	10,5 ± 2,31	3,5 ± 0,67 <sup>1</sup>	5,6 ± 2,54 <sup>1</sup>	7,2 ± 0,86 <sup>1</sup>	2 ± 1,1 <sup>1</sup>	11,5 ± 1,8 <sup>2</sup>	10 ± 4,7 <sup>2</sup>
Зрелые эритроциты	419,66 ± 41,80	582,5 ± 21,44 <sup>1</sup>	346 ± 21,92	182,2 ± 9,41 <sup>1</sup>	572,7 ± 16,9 <sup>1</sup>	402 ± 20,9	361,2 ± 51,2 <sup>2</sup>
Индекс. пролиферации	83,6 ± 8,20	87,03 ± 2,52	72,3 ± 5,13	65,9 ± 1,7	93,5 ± 1,2	96,3 ± 3,4 <sup>2</sup>	68,6 ± 5,4
Индекс. созревания	98,56 ± 7,57	131,5 ± 4,47 <sup>1</sup>	84,01 ± 4,16	46,5 ± 1,8 <sup>1,2</sup>	121,8 ± 3,1 <sup>1</sup>	96,09 ± 3,7	86,2 ± 0,9 <sup>2</sup>

**Примечания:** <sup>1</sup> – отличие от интактных животных при  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup> – отличие от не стрессированных животных с гипотиреозом при  $p < 0,05$ .

(в 1,8 раз) и оксифильных эритробластов (в 3 раза). Эти данные свидетельствуют о подключении гетеробластического пути эритропоэза, что отразилось в тенденции к макроэритроцитозу в периферической крови. На 7-е сутки наблюдения индекс созревания снизился до его значения у интактных животных, нормализовалось количество проэритробластов и базофильных эритробластов, но осталось сниженным (в 1,9 раза) количество оксифильных эритробластов, а депо зрелых эритроцитов уменьшилось на 16 % по сравнению с интактными животными (табл. 1). К 28-м суткам депо зрелых эритроцитов уменьшилось еще больше — в 2,3 раза (по отношению к интактным животным) в связи со значительным снижением и пролиферации (в 1,3 раза), и созревания (в 2 раза) клеток эритрона, что сопровождалось накоплением полихроматофильных нормобластов, которых оказалось в 1,7 раза больше нормы.

Представленные данные свидетельствуют о существенном нарушении состояния эритроидного звена под влиянием гипотиреоза, вызванного мерказолилом, которые выражаются в резком снижении ОРЭ, дестабилизации мембран эритроцитов и ускорении их гибели, что вызывает компенсаторную активацию эритропоэза с подключением гетеробластического пути. Эта реакция проявляется тенденцией к макроэритроцитозу в периферической крови и способна обеспечить восполнение числа эритроцитов, но вскоре (через 7 суток после отмены мерказолила) компенсаторные резервы костного мозга снижаются, а затем (к 28-м суткам) истощаются, что отражается в нарастании микроэритроцитоза в периферической крови.

У стрессированных животных с гипотиреозом через 2 суток после отмены мерказолила и 6-часовой иммобилизации количество эритроцитов и ОРЭ остались на том же уровне, как у нестрессированных животных с гипотиреозом, но через 7 суток ОРЭ увеличилась до нормы. Вероятно, этому способствовало повышение продукции тиреоидных гормонов, индуцированное стрессом. При этом разрушение эритроцитов в селезенке (которое отражает масса гемосидерина) уменьшилось лишь кратковременно, а с 7-х суток до конца наблюдения вновь увеличилось. Состав эритроцитов крови у стрессированных животных с гипотиреозом отличался от такового у нестрессированных по 2 позициям: 1) развитие достаточно выраженного макроэритроцитоза через 2 суток после отмены мерказолила; 2) отсутствие микроэритроцитоза через 28 суток.

Предупреждение развития анемии у стрессированных животных достигалось стимуляцией эритропоэза (в том числе и гетеробластического)

в начальные сроки наблюдения, а в поздние сроки — сохранением высоких темпов созревания эритроцитов и более высокой ОРЭ. Об этом свидетельствуют следующие данные. Во-первых, через 2 суток после отмены мерказолила и 6-часовой иммобилизации в ККМ снижалось количество всех эритробластов (табл. 1), но ускорились дифференцировка эритроцитов. Во-вторых, через 7 суток численность эритробластов полностью восстанавливалась и увеличивался индекс их пролиферации. В совокупности это давало возможность в начальные сроки наблюдения восстанавливать численность эритроцитов в периферической крови без ущерба для костномозгового депо зрелых эритроцитов. И, наконец, через 28 суток у стрессированных животных индекс созревания эритроцитов в ККМ был в 1,8 раза выше, чем у нестрессированных животных с гипотиреозом.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленных данных следует, что у животных с гипотиреозом стресс не усугублял изменения в составе эритроцитов крови, способствовал меньшему снижению ОРЭ и стимулировал эритропоэз, но в отделенные сроки (через 28 суток) позитивные эффекты стресса уменьшались, тем не менее, костномозговой резерв эритроцитов не истощался и оставался вдвое больше, чем у нестрессированных животных с гипотиреозом.

Учитывая, что дефицит тиреоидных гормонов при гипотиреозе приводит, прежде всего, к нарушению энергетического обмена, а стресс-реакция стимулирует выброс гормонов надпочечников, мобилирующих углеводный обмен, есть основание полагать, что позитивное действие стресса на состояние эритроидного звена системы крови связано с частичной компенсацией недостаточности гормональных влияний на энергетический обмен при гипотиреозе.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Л.С., Макарова О.А. Предупреждение глицином стресс-индуцированных нарушений эритропоэза и развития анемии // Сиб. мед. журн. — 2001. — № 5. — С. 20 — 23.
2. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови // АМН СССР. — М.: Медицина, 1983. — 240 с.
3. Кост Е.А. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования. — М.: Медицина, 1975. — 382 с.
4. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: Наука, 1981. — 278 с.

### Сведения об авторах

**Гармаева Дэнсэма Владимировна** — кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии, физиологии и патологической физиологии животных Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (664038, г. Иркутск, п. Молодежный; тел.: 8 (924) 706-42-87)

**Васильева Людмила Сергеевна** — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1)

**Макарова Ольга Александровна** — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры гистологии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1)

**Макарова Надежда Георгиевна** — научный сотрудник Центра лабораторной диагностики Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1)