

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРЫС В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ ТЕРМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Ажикова А. К.¹, Журавлева Г. Ф.²

¹ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет», Астрахань, e-mail: alfia-
imacheva@mail.ru;

²ФГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань

Впервые изучено влияние лекарственных форм различной консистенции на количественные изменения периферической крови крыс в условиях искусственной ожоговой травмы. Любой патологический процесс может отразиться на количественных и качественных особенностях состава циркулирующей крови. Этим и определяется огромное значение необходимости изучения крови в условиях гипертермии и выявления закономерностей изменений различных показателей. Термическая травма сопровождается развитием интоксикации. Кровь в первую очередь подвергается действию токсических веществ, возникших в очаге поражения. Исследование морфологических и биохимических показателей периферической крови заключалось в определении количества лейкоцитов, количества эритроцитов, лейкоцитарной формулы, уровня гемоглобина, перекисной резистентности эритроцитов. Полученные данные расширяют и углубляют представления о характере интоксикации организма в условиях стрессового воздействия различных факторов.

Ключевые слова: показатели периферической крови, кроветворные органы, ожоговые поражения кожи, термическое воздействие, гипертермия.

RESEARCH OF HEMATOLOGIC INDICATORS OF RATS IS NORMAL AND IN THE CONDITIONS OF THERMAL INFLUENCE

Azhikova A. K.¹, Zhuravleva G. F.²

¹Astrakhan state medical university, Astrakhan, e-mail: alfia-imacheva@mail.ru;

²Astrakhan state university, Astrakhan

Influence of dosage forms of various consistence on quantitative changes of peripheral blood of rats in the conditions of an artificial burn trauma is for the first time studied. Any pathological process can be reflected in quantitative and qualitative features of composition of the circulating blood. Huge value of need of studying of blood in the conditions of a hyperthermia and detection of regularities of changes of various indicators is also defined by it. The thermal trauma is followed by development of intoxication. Blood first of all is affected by the toxic substances which have arisen in the defeat center. Research of morphological and biochemical indicators of peripheral blood consisted in definition of quantity of leukocytes, quantities of erythrocytes, a formula of leukocytes, level of hemoglobin, resistance of erythrocytes. The obtained data expand and deepen ideas of character of intoxication of an organism in the conditions of stressful influence of various factors.

Keywords: indicators of peripheral blood, haematogenic bodies, burn damages of skin, thermal influence, hyperthermia.

В медицинской биотехнологии постановка экспериментов при помощи моделирования патологических состояний, например ожогового повреждения кожи, имеет огромное значение для глубокого исследования крови и кроветворных органов [3]. Исходя из этого, необходимо тщательное и всестороннее изучение всех изменений, которые происходят в организме при этих воздействиях. Главным образом это относится к системам поддержания гомеостаза [2].

Ожоговые поражения кожи стали в современном мире одним из наиболее социально значимых и распространенных типов травматических повреждений у человека. Изучению вопроса реакции клеток крови на ожоги посвящен ряд исследований [1, 8].

Любое заболевание, патологический процесс, а также ряд физиологических сдвигов

могут в той или иной степени отразиться на количественных и качественных особенностях состава циркулирующей крови [5]. Этим и определяется огромное значение необходимости изучения крови. Белые клетки крови, имея высокую реактивность, быстро включаются в адаптационные реакции. Они способны к неспецифическому реагированию в ответ на альтерирующие воздействия.

Термическая травма сопровождается развитием интоксикации. Кровь в первую очередь подвергается действию токсических веществ, возникших в очаге поражения [1].

Свой вклад в общее состояние системы организма вносят компоненты крови. Наиболее уязвимым объектом для действия продуктов свободнорадикального окисления липидов является стенка кровеносных сосудов, что обусловлено высоким уровнем кислорода в крови и низким уровнем его утилизации [9]. В условиях патологического процесса происходит поражение неклеточного компонента сосудистой стенки.

Цель исследования – изучение показателей периферической крови половозрелых крыс в норме и в условиях термического воздействия.

Материалы и методы. Объектом исследования явились 50 беспородных крыс-самцов 4-месячного возраста. Во время эксперимента регистрировали общее состояние и поведение животных. Самцы крыс были разделены на пять групп по типу воздействия:

I группа – животные, не подвергшиеся ожоговому воздействию (контрольная, 10 шт.);

II группа – животные, получившие ожоговое воздействие и не подвергшиеся терапии (10 шт.). Раны регенерировали естественным путем;

III группа – животные, получившие ожоговое воздействие и подвергшиеся терапии спреем «Д-Пантенол» (10 шт.);

IV группа – животные, получившие ожоговое воздействие и подвергшиеся терапии бальзамом мазевой формы «Спасатель» (10 шт.);

V группа – животные, получившие ожоговое воздействие и подвергшиеся терапии аппликациями настойки календулы (10 шт.).

Исследование морфологических и биохимических показателей периферической крови заключалось в определении количества лейкоцитов, количества эритроцитов, лейкоцитарной формулы, уровня гемоглобина, перекисной резистентности эритроцитов.

Уровень гемоглобина в образцах крови крыс определяли электрофотометрическим способом на гемоглобинометре APeL Hemoglobinmeter HG-202. Мазки фиксировали и окрашивали по Романовскому – Гимзе. Идентификация форменных элементов крови проводилась согласно методике Н. Т. Ивановой [4]. Количество эритроцитов крови подсчитывали по стандартной методике в камере Горяева. Количество лейкоцитов считали по мазкам крови крыс.

Для оценки уровня свободнорадикального окисления и выраженности в связи с этим липолитических процессов в крови проводили измерение перекисной резистентности эритроцитов. Перекисный гемолиз эритроцитов является чувствительным показателем, отражающим про- и антиоксидантный баланс организма [6].

Для определения перекисного гемолиза эритроцитов использовали модификацию методов определения степени перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ) А. А. Покровского и А. А. Абрамова [7], которую предложили А. Е. Лазыко, Р. И. Асфандияров и А. А. Резаев [4].

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ гематологических исследований экспериментальных животных показал, что наиболее высокий уровень гемоглобина периферической крови наблюдался у крыс, лечившихся бальзамом «Спасатель» и спреем «Д-пантенол», что наглядно отображено в таблице 1. В группе крыс, лечившихся настойкой календулы, данный показатель незначительно отличался от значений у обожженных животных, не получавших лечения.

Таблица 1

Гематологические показатели через 3 суток после ожоговой травмы

Тип воздействия	Эритроциты (шт./мкл.)	Гемоглобин (г/л)
1 -Контроль	7,8x10 ⁶	27,7
2-Ожог	6,5 x10 ⁶ *	25,6*
3-Ожог+аппликации мазью «Д-пантенол»	8,2x10 ⁶ *	29,2 *
4-Ожог+аппликации бальзамом «Спасатель»	8,3x10 ⁶ *	28,3*
5-Ожог+аппликации настойкой календулы	6,8x10 ⁶ *	25,7*

Примечание: * – P<0,05 по сравнению с контролем.

Изменение уровня гемоглобина в результате опыта отмечено в таблице 1. Высокий уровень гемоглобина наблюдался у крыс, лечившихся Д-пантенолом. Средний показатель уровня гемоглобина отмечен у крыс, леченных бальзамом «Спасатель». В экспериментальной группе с настойкой календулы он незначительно и статистически недостоверно отличался от значений у животных 3 группы.

Выявлено, что термический ожог кожи вызвал уменьшение количества эритроцитов периферической крови крыс. Установлено, что при лечении ожогов этот показатель несколько увеличивался, например, при терапии бальзамом «Спасатель» и спреем «Д-пантенол».

Перекисный гемолиз эритроцитов является чувствительным показателем, отражающим про- и антиоксидантный баланс организма [10].

По данным табл. 2 показано, что не леченный термический ожог межлопаточной области спины крыс способствует наиболее полному перекисному гемолизу эритроцитов крови крыс (степень гемолиза, в среднем, 7 %, $p < 0,001$). Лечение ожогов кожи бальзамом «Спасатель» вызывает средний гемолиз (степень гемолиза в среднем 3,94 %, $p < 0,05$), при терапии ожоговых травм межлопаточной области спины крыс спреем Д-пантенолом наблюдался частичный гемолиз (степень гемолиза в среднем и 3,62 %, $P < 0,05$).

Таблица 2

**Перекисная резистентность эритроцитов самцов крыс
(% гемолизированных эритроцитов)**

Группа	Количество животных	M+m
1 -Контроль	10	3,82±0,121*
2 -Ожог	10	6,83±0,469 *** ###
3 -Ожог+аппликации мазью «Д-пантенол»	10	3,62±0,174*** ###
4-Ожог+аппликации бальзамом «Спасатель»	10	3,94±0,081*
5-Ожог+аппликации настойкой календулы	10	4,94±0,081*

Примечание: в сравнении с контрольными животными: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; в сравнении с группой 2-Ожог: # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Анализ данных по определению перекисного гемолиза эритроцитов самцов белых крыс показал, что устойчивость эритроцитов к перекисной провокации значительно повышалась в условиях лечения ожогов кожи крыс аппликациями бальзамом «Спасатель». Воздействие аппликациями мазью «Д-пантенол» привели к повышению устойчивости эритроцитов к перекисной провокации и приблизили показатели перекисного гемолиза эритроцитов к контролю. Термический ожог без лечения резко снизил устойчивость эритроцитов к перекисной провокации. Аппликации настойкой календулы незначительно повысил устойчивость эритроцитов к гемолизу (см. табл. 2).

Установлено, что термические ожоги существенно влияют и на общее число лейкоцитов, что проявлялось выраженной лейкопенией во все сроки наблюдения. В табл. 3 представлена некоторая волнообразность лейкопении. Так, на 3-и сутки количество лейкоцитов составляло $1,8 \pm 1,4 \times 10^9$, на 7-е – $2,5 \pm 1,4 \times 10^9$, на 14-е – $0,85 \pm 1,4 \times 10^9$, на 30-е – $2,4 \pm 1,4 \times 10^9$. Учитывая, что в контрольной серии уровень лейкоцитов составлял $10,2 \pm 1,4 \times 10^9$, что соответствует и литературным данным [9], отмечено значительное снижение числа защитных клеток крови.

Таблица 3

Содержание лейкоцитов в периферической крови крыс

Экспериментальные группы	Количество животных, n	Количество лейкоцитов $\times 10^9$ на 3 сутки эксперимента	Количество лейкоцитов $\times 10^9$ на 7 сутки эксперимента	Количество лейкоцитов $\times 10^9$ на 10 сутки эксперимента
1-Контроль	10	3,4 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1
2-Ожог	10	3,8 \pm 0,2 *	3,3 \pm 0,3 *	2,9 \pm 0,2 *
3-Ожог+аппликации мазью «Д-пантенол»	10	3,2 \pm 0,3 *	3,1 \pm 0,3 *	2,9 \pm 0,3 *
4-Ожог+аппликации бальзамом «Спасатель»	10	3,1 \pm 0,3*	3,1 \pm 0,3*	3,2 \pm 0,4*
5-Ожог+аппликации настойкой календулы	10	2,8 \pm 0,2 *	3,1 \pm 0,3 *	2,9 \pm 0,2 *

Примечание: * – $p < 0,05$ – достоверность различий между группами животных по сравнению с контролем.

Наблюдалось изменение общего количества лейкоцитов после термического воздействия между экспериментальными группами и контролем (см. табл. 3). В ходе экспериментов было выявлено, что у животных, получавших терапию Д-пантенолом, происходило незначительное уменьшение общего количества лейкоцитов в сравнении с контролем. У животных, получавших лечение настойкой календулы, количество лейкоцитов достоверно уменьшилось в сравнении с контрольной группой на 22 % ($p < 0,05$).

Изучение лейкоцитарной формулы дало не менее интересные результаты. В табл. 4 отражены результаты исследования влияния ожоговой травмы на показатели лейкоцитарной формулы периферической крови подопытных крыс. В контрольной серии в формуле преобладали лимфоциты до 55–60 %, нейтрофилы составляли 40 %. При исследовании получено, что термический ожог приводил к достоверному и выраженному увеличению процентного числа лимфоцитов и нейтрофилов. Так, на 3-и сутки лимфоциты составляли 67,4 %.

Таблица 4

Изменение показателей лейкоцитарной формулы на 3-и сутки эксперимента

Экспериментальные группы	Нейтрофилы, $M \pm m$, %	Лимфоциты, $M \pm m$, %	Эозинофилы $M \pm m$, %	Моноциты $M \pm m$, %
1-Контроль	40,1 \pm 3,52	55,6 \pm 3,18	2,1 \pm 0,71	6,2 \pm 2,00
2-Ожог	27,1 \pm 2,97*	67,4 \pm 2,61*	3,1 \pm 0,80*	2,4 \pm 0,34*
3-Ожог+аппликации мазью «Д-пантенол»	37,2 \pm 2,91 [#]	60,2 \pm 2,94 [#]	2,7 \pm 0,49 [#]	5,9 \pm 0,61 [#]
4-Ожог+аппликации бальзамом «Спасатель»	41,0 \pm 2,99 [#]	58,6 \pm 5,22 [#]	2,9 \pm 0,31 [#]	6,4 \pm 2,32 [#]
5-Ожог+аппликации настойкой календулы	41,0 \pm 2,99 [#]	64,6 \pm 5,22 [#]	2,7 \pm 0,31 [#]	2,9 \pm 2,32 [#]

Примечание: $p < 0,05$, * – в сравнении с контролем,

– в сравнении с группой получивших ожог без лечения.

Данные эксперимента моделирования термического ожога межлопаточной области спины белых крыс свидетельствовали о достоверном колебании количества нейтрофилов у животных, получавших лечение аппликациями спрея, в сравнении с контрольной группой и группой, не получавших лечение (рис. 1).

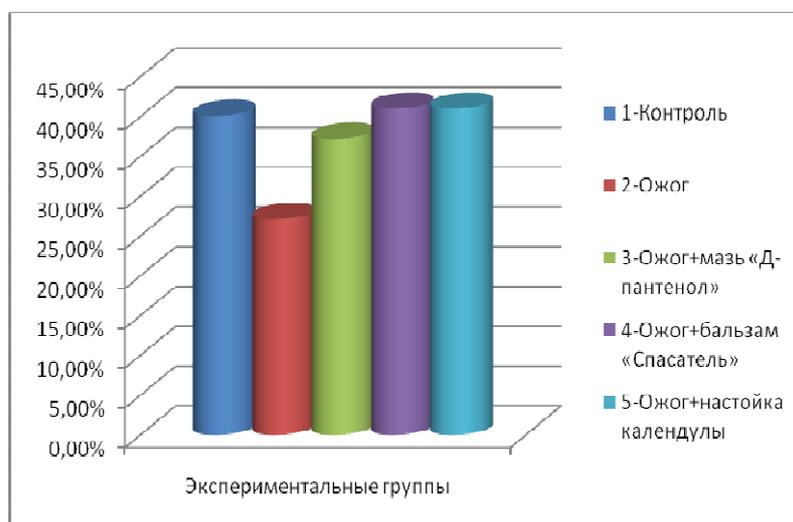


Рис. 1. Количество нейтрофилов ($M \pm m$, %) в разных опытных группах

Отмечено, что показатели количества нейтрофилов, по сравнению с контролем, чуть ниже в группе, лечившихся спреем «Д-пантенол», и незначительно выше в группе, лечившихся бальзамом «Спасатель». На рис. 2 видно, что отсутствие терапии ожога у 2 группы крыс отразилось на большем количественном содержании лимфоцитов крови.

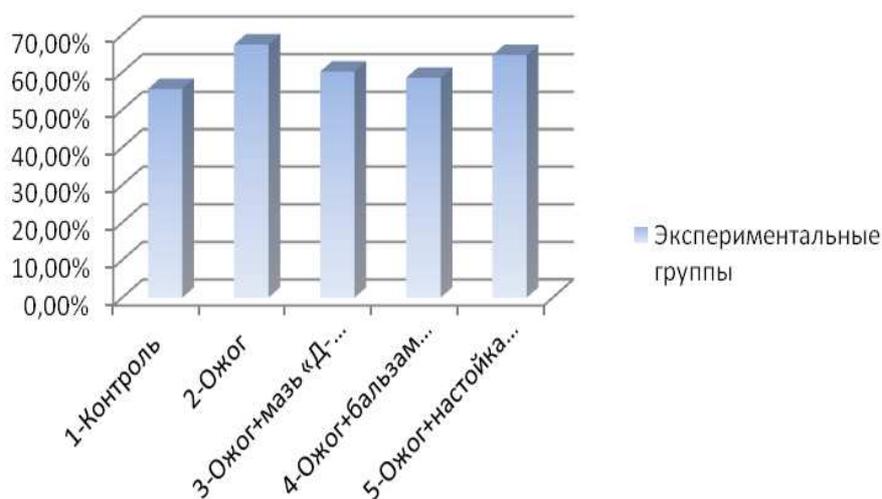


Рис. 2. Количество лимфоцитов ($M \pm m$, %) в разных опытных группах

У группы крыс, лечившихся бальзамом «Спасатель», количество лимфоцитов увеличилось. При сравнении крыс, лечившихся спреем «Д-пантенол», с контрольной группой наблюдалось снижение количества лимфоцитов, а у крыс, лечившихся настойкой календулы, количество лимфоцитов практически не отличалось от 2 группы.

При ожоге наблюдалось изменение показателей эозинофилов: увеличение этого показателя в группе 2 (ожог без терапии), в сравнении с группами крыс, получавших лечение ($p < 0,05$). У животных, лечившихся спреем, количество эозинофилов повысилось на 22 %, по сравнению с контролем, при терапии настойкой календулы оно понизилось, что не достоверно (рис. 3).

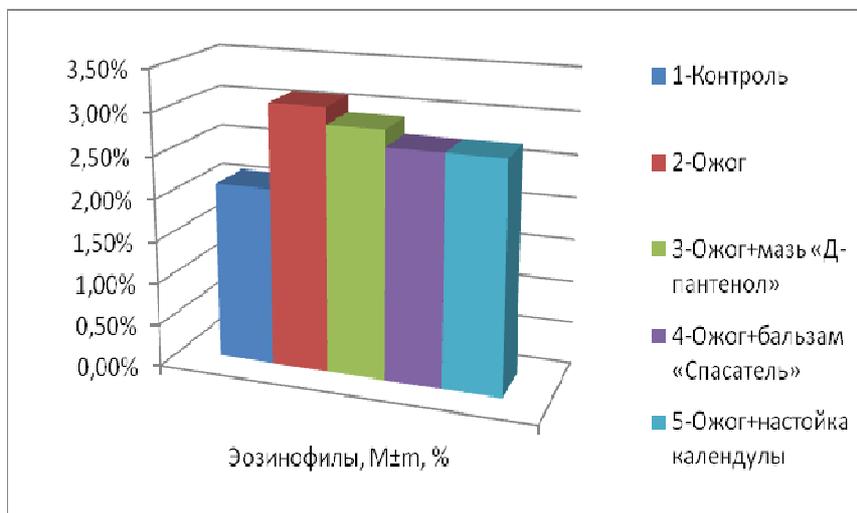


Рис. 3. Количество эозинофилов ($M \pm m$, %) в разных опытных группах

Как видно из круговой диаграммы на рис. 4, термическое воздействие без лечения приводило к снижению количества моноцитов, терапия аппликациями бальзамом «Спасатель» и спреем «Д-пантенол» стимулировало незначительное увеличение количества моноцитов в крови, по сравнению с контрольной группой подопытных животных (рис. 4).

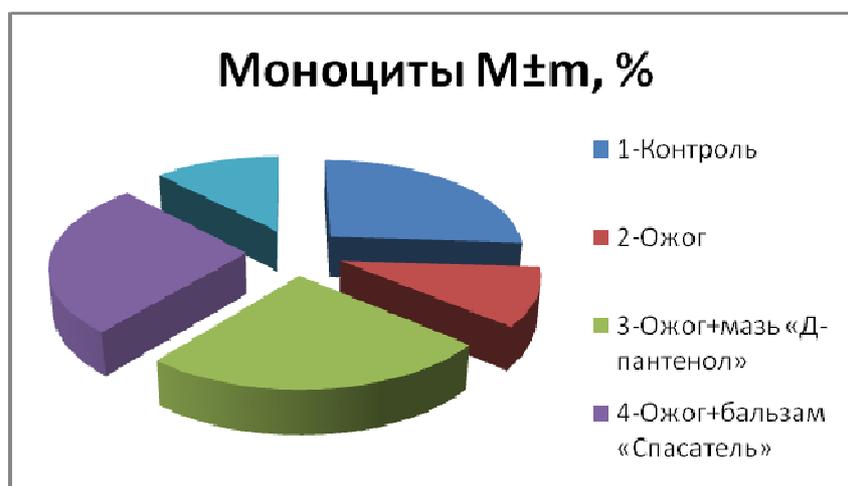


Рис. 4. Количество моноцитов ($M \pm m$, %) в разных опытных группах

Заключение

Исследование таких гематологических показателей, как количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина и состояние перекисной резистентности эритроцитов, свидетельствует о значительном поражении системы крови под воздействием местного воздействия термического фактора. Наиболее результативными оказались эксперименты

терапии ожогов крыс аппликациями спрея «Д-пантенол» и бальзама «Спасатель».

Таким образом, применение в эксперименте лекарственных средств для лечения ожогов (спрей Д-пантенол, бальзам «Спасатель») способствует существенному ингибированию свободнорадикального окисления, к повышению прочности клеточных мембран компонентов крови.

Список литературы

1. Ажикова А. К. Использование пуповинной крови для восстановления кожи после термической травмы / А. К. Ажикова, М. В. Лазько // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2008. – №.4. – С. 53-57.
2. Грушко М. П. Состояние периферической крови у карповых рыб в нерестовый период / М. П. Грушко, Н. Н. Федорова // Актуальные проблемы современной науки. – Технические науки: Труды 2-го Международного форума. – Самара, 2006. – С.23-25.
3. Земков Г. В. Характер и степень патологических изменений в крови и внутренних органах судака / Г. В. Земков, Г. Ф. Журавлева // Материалы VIII конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. – Петрозаводск, 1992. – С. 40.
4. Лазько А. Е. Состояние мембран эритроцитов при воздействии серосодержащего газа / А. Е. Лазько, Р. И. Асфандияров, А. А. Резаев // Актуальные вопросы медицинской фармакологии. – 1993. – С.41-47.
5. Мамонтова Е. В. Влияние ALPHA-токоферола на степень перекисного гемолиза белых мышей в норме и при иммобилизационном стрессе / Е. В. Мамонтова // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 3. – С. 27-28.
6. Островский В. К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях / В. К. Островский, А. В. Машенко, Д. В. Янголенко, С. В. Макаров // Клин. лаб. диагностика. – 2006. – № 6. – С. 50-53.
7. Покровский А. А. Методика определения перекисного гемолиза эритроцитов / А. А. Покровский, А. А. Абрацов // Вопросы питания. – М.: Наука, 1964. – № 6. – С.44.
8. Рожкова И. С. Влияние хронической интоксикации на свободнорадикальные процессы плазмы крови крыс / И. С. Рожкова, Д. Л. Теплый, Б. В. Фельдман // Научный руководитель. – 2015. – № 3(10). – С. 1-7.
9. Теплый Д. Л. Особенности морфологической картины сыворотки крови мышей разных возрастных групп при экспериментальном стрессе / Д. Л. Теплый, Н. А. Аюпова //

Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2005. – №.10.
– С. 47-50.

10. Ясенявская А. Л. Влияние антиоксидантов на уровень перекисного гемолиза эритроцитов старых крыс в норме и при иммобилизационном стрессе / А. Л. Ясенявская, Н. В. Кобзева // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 2. – С. 69-70.