

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ТКАНИ ПЕЧЕНИ НА МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ

Родионов В.Д.¹

¹*Российский университет дружбы народов, Москва, e-mail: vatnikov@yandex.ru*

Хроническое воспаление печени – одно из тяжелых состояний, сказывающихся на многих показателях крови. Цель – выяснить особенности структурных и функциональных свойств эритроцитов у млекопитающих в условиях хронического воспаления ткани печени. Работа выполнена на 19 собаках-метисах в возрасте 8-10 месяцев, имеющих массу тела $12,4 \pm 0,4$ кг, с хронически текущим идиопатическим гепатитом, возникшим более 2 месяцев назад. Контроль представлен 18 полностью здоровыми собаками-метисами 8-10 мес. с массой тела $12,2 \pm 0,3$ кг. Оценены морфофункциональные показатели эритроцитов в течение 15 суток наблюдения. В течение наблюдения количество эритроцитов у собак в крови несколько повышалось. Это сопровождалось у них ростом гематокрита при некотором снижении среднего объема эритроцитов и уменьшении скорости оседания эритроцитов. На протяжении наблюдения у собак с хроническим воспалением печени отмечено постепенное снижение количества измененных форм эритроцитов и рост количества дискоидных эритроцитов. Число эритроцитарных агрегатов в виде «монетных столбиков» в ходе наблюдения снижалось, указывая на положительную динамику состояния эритроцитарных рецепторов. Хроническое воспаление в печени идиопатической природы вызывает выраженные негативные сдвиги в реологических показателях эритроцитов. В случае положительной динамики хронического воспалительного процесса в печени разнородность эритроцитов крови снижается и улучшаются их реологические свойства, облегчая перфузию капилляров.

Ключевые слова: хроническое воспаление, печень, микрореологические свойства, эритроциты, патология.

INFLUENCE OF THE CHRONIC INFLAMMATORY PROCESS IN LIVER TISSUE ON MICROREOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES

Rodionov V.D.¹

¹*Peoples Friendship University of Russia, Moscow, e-mail: vatnikov@yandex.ru*

Chronic inflammation of the liver is one of the most severe conditions affecting many blood indicators. The goal is to clarify the structural and functional properties of erythrocytes in mammals in conditions of chronic inflammation of the liver tissue. The work was performed on 19 mestizo dogs, aged 8-10 months, having a body weight of 12.4 ± 0.4 kg, with a chronic current idiopathic hepatitis that occurred more than 2 months ago. The control is represented by 18 completely healthy dogs with mestizoes 8-10 months. with a body weight of 12.2 ± 0.3 kg. Morpho-functional indicators of erythrocytes were assessed during 15 days of observation. During the observation, the number of erythrocytes in dogs in the blood increased slightly. This was accompanied by an increase in hematocrit with a slight decrease in the mean volume of red blood cells and a decrease in the rate of erythrocyte sedimentation. Over the course of the observation, a gradual decrease in the number of altered forms of erythrocytes and an increase in the number of discoid red blood cells were noted in dogs with chronic inflammation of the liver. The number of erythrocyte aggregates in the form of "coin pillars" decreased during the course of the observation, indicating a positive dynamics of the state of the erythrocyte receptors. Chronic inflammation in the liver of an idiopathic nature causes marked negative changes in rheological parameters of red blood cells. In the case of a positive dynamics of the chronic inflammatory process in the liver, the heterogeneity of the blood erythrocytes is reduced and their rheological properties are improved, facilitating the perfusion of the capillaries.

Keywords: chronic inflammation, liver, microrheological properties, erythrocytes, pathology.

Развитие хронического воспалительного процесса в организме млекопитающих способно вызвать множество негативных изменений через ряд патофизиологических механизмов. Хроническое воспаление печени – одно из тяжелых состояний, которое способно привести организм к гибели [1]. Это обстоятельство выдвигает потребность в подробной оценке этого состояния и диктует необходимость детального раскрытия его

патогенетических механизмов, что весьма значимо для углубленного понимания данного состояния [2]. Несмотря на длительные патофизиологические исследования [3], многие механизмы хронического воспаления в печени еще не ясны [4]. Сведения, подчерпнутые из доступной научной литературы, показывают, что значительное ослабление организма на фоне любой патологии связано с ухудшением реологических свойств крови [5-7], которые при многих заболеваниях на сегодняшний день выяснены неокончательно. Есть основания считать, что большое значение в ухудшении состояния организма при хроническом воспалении печени имеют негативные изменения цитоархитектоники и агрегации эритроцитов, которые не обладают видовыми и возрастными особенностями [8]. Складывается мнение, что оценка этих изменений, базирующаяся на анализе эритроцитарных структурных и функциональных параметров, открывает большие перспективы для поиска патофизиологических механизмов, вызывающих прогрессирование воспалительного процесса в печени, его осложнений и гибели организма [9]. На сегодняшний день в патофизиологии недостаточно полно отработаны все элементы патогенеза хронического воспаления печени и не до конца учитываются при данном патологическом процессе микрореологические изменения эритроцитов [10; 11]. В этой связи наука нуждается в дополнительном изучении структурных и функциональных изменений этих форменных элементов крови, серьезно влияющих на многие показатели жизнедеятельности организма. Есть основания считать, что они способны стать маркерами прогноза исхода данного патологического состояния [12]. Это ускорит разработку новых вариантов воздействия на организм, минимизирующих ухудшение капиллярного кровотока на фоне хронического воспаления печени. В этой связи изучение выраженности нарушений микрореологических свойств эритроцитов при хроническом воспалении печени представляется на сегодняшний день весьма актуальным. Цель данного исследования – выяснить особенности структурных и функциональных свойств эритроцитов у млекопитающих в условиях хронического воспаления ткани печени.

Материалы и методы. Проведенная работа выполнена в строгом соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006), и одобрена локальным этическим комитетом Российского университета дружбы народов (протокол № 5 от 17.05.2016.) Работа выполнена на 19 собаках-метисах в возрасте 8-10 месяцев, имеющих массу тела $12,4 \pm 0,4$ кг, с хронически текущим идиопатическим гепатитом, возникшим более 2 месяцев назад. Это состояние рассматривалось как модель нарушения гомеостаза, с помощью которого планировалось оценить изменения микрореологических свойств

эритроцитов при хроническом восстановлении печени у млекопитающих. Коррекция состояния животных опытной группы проводилась с помощью общепринятых подходов [13]. Контроль представлен 18 здоровыми собаками-метисами 8-10 мес. с массой тела $12,2 \pm 0,3$ кг.

В пробах крови оценивали ряд эритроцитарных параметров [14]. Определяли число эритроцитов (RBC), концентрацию гемоглобина (HGB), уровень гематокрита (HCT), величину MCV (значение среднего объема эритроцита); показатель MCH (среднее количество гемоглобина в эритроците); величину MCHC (среднее количество гемоглобина в эритроците); уровень RDW (ширина распределения эритроцитов по объему).

Эритрограмму выполняли с помощью гематологического анализатора PCE-90 (ERMAINC). Величину MCV вычисляли как отношение значения гематокрита к числу эритроцитов, имеющих размерность в фемтолитрах (10^{-15} /л). Как известно, один фемтолитр соответствует одному кубическому микрометру (одна миллионная часть метра). С этой целью применялась формула: $MCV = HCT \times 10 / RBC$ (фл).

Величина среднего содержания гемоглобина в эритроците говорила о том, сколько гемоглобина содержится в среднем в одном эритроците. Она измерялась в пикограммах. Это одна триллионная составная часть грамма и высчитывается как отношение количества гемоглобина к числу эритроцитов, соответствует понятию цветного показателя, определяясь с помощью формулы: $MCH = HGB \times 10 / RBC$ (пг).

Среднее количество гемоглобина в эритроцитах – величина, характеризующая насыщение эритроцита гемоглобином, которая в отличие от MCH отражает не уровень гемоглобина в нем, а «плотность» его заполнения гемоглобином. Он высчитывался как отношение уровня общего гемоглобина к значению гематокрита – объему, который приходится на эритроциты в крови. Его измеряли в граммах на один литр. Он является весьма чувствительным параметром при ухудшении синтеза гемоглобина. Расчет его велся по формуле $MCHC = HGB \times 100 / HCT$ (г/дл). По объему распределение эритроцитов определяли в процентах. Указывали степень отклонения объёма эритроцитов от среднего его уровня, демонстрируя отличие между наиболее мелким эритроцитом и наиболее крупным.

Наблюдение вели в течение 15 суток. Ни одно животное в ходе исследования не погибло. Статистическую обработку данных провели при помощи программы MedCalc для Windows, применив t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Знакомство с научной литературой показало, что патофизиологическим особенностям развития хронического воспаления в печени в плане реологических свойств крови всегда уделялось недостаточно внимания. Это очень неоправданно, т.к. иммунные процессы неизбежно отражаются на мембранах наиболее многочисленной популяции клеток крови – эритроцитах. Было выявлено, что количество

эритроцитов на момент первого обследования составило $4,8 \pm 0,45 \times 10^{12}/л$, на 3-и сутки оказалось на уровне $4,8 \pm 0,18 \times 10^{12}/л$. На 7-е сутки после начала наблюдения показатель RBC продолжал повышаться, достигнув значения – $4,9 \pm 0,19 \times 10^{12}/л$. На 11-е сутки число эритроцитов дополнительно возросло, а к 15-м достигло уровня $5,3 \pm 0,38 \times 10^{12}/л$ (таблица). Найденное исходное снижение числа эритроцитов объяснялось не только торможением гемопоэза, но и усилением их потребления в результате гиперагрегации и разрушения. Изменения структуры и обмена веществ эритроцитов ведут к ухудшению их структуры и раннему разрушению. В исходном состоянии концентрация гемоглобина равнялась $10,8 \pm 0,54$ г/дл, к 7-м суткам было отмечено повышение его уровня до $11,7 \pm 0,36$ г/дл, а к 15-м суткам $13,6 \pm 0,26$ г/дл.

Динамика морфофункционального состояния эритроцитов собак на фоне хронического воспаления в печени

Показатели крови	Контроль, М±m, n=18	Опытная группа, М±m, n=19			
		исход	3-и сутки	7-е сутки	11-е сутки
Динамика функционального состояния эритроцитов					
RBC $\times 10^{12}/л$	7,2±0,22	4,8±0,45**	4,8±0,18**	4,9±0,19**	5,0±0,17**
HGB, г/дл	16,0±0,47	10,8±0,54**	10,9±0,38**	11,7±0,36**	12,3±0,41*
HCT, %	47,4±0,84	41,6±0,36*	41,8±0,50*	42,3±0,71*	43,0±0,42*
MCV, фл	65,8±0,77	79,3±0,41**	78,2±0,46**	76,8±0,37**	72,6±0,32**
MCH, пг	22,2±0,92	21,1±0,40	21,3±0,29	21,5±0,36	21,6±0,42
MCHC, г/дл	33,7±1,11	27,0±0,52**	27,2±0,36**	28,0±0,29**	28,6±0,33**
RDW, %	12,8±0,62	9,7±0,19*	9,9±0,12*	10,4±0,24*	10,9±0,30
СОЭ, мм/ч	3,2±0,19	15,6±0,27**	14,8±0,22**	13,2±0,28**	10,6±0,32**
Динамика структурных изменений эритроцитов					
Нормоциты	78,6±2,96	56,8±0,45**	57,3±0,33**	59,8±0,42**	63,6±0,39**
Микроциты	12,4±0,57	18,2±0,29**	18,0±0,27**	17,1±0,36**	16,0±0,29*
Макроциты	9,0±0,63	25,0±0,37**	24,7±0,44**	23,1±0,37**	20,4±0,46**
Дискоциты	88,7±3,09	72,1±0,45**	73,6±0,34**	74,8±0,37**	78,6±0,34**
Эхиноциты	7,5±0,42	14,7±0,22**	14,0±0,18**	11,8±0,20**	9,9±0,16*
Шизоциты	0	6,2±0,05**	6,0±0,08**	5,0±0,06**	3,4±0,04**
Монетные столбики	0	5,6±0,12**	5,4±0,10**	4,6±0,11**	4,0±0,11**
RBC с т Жолли	1,3±0,06	9,3±0,40**	9,0±0,43**	8,1±0,32**	7,0±0,29**

Примечание: отличие показателей опытной группы от контроля * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Оценка величины гематокрита показала ее динамику. В ходе первого осмотра он достиг $41,6 \pm 0,36$, на 3-и сутки – $41,8 \pm 0,50\%$, на 7-е сутки – $42,3 \pm 0,68\%$. С 11-х суток

($42,3 \pm 0,71\%$) наступало повышение этого показателя, который к 15-м суткам составлял $44,53 \pm 0,29\%$. Найденные изменения стоит связывать с усилением токсических влияний за счет развития воспаления в печени, накопления в крови протеолитических ферментов и эндотоксинов [8; 13]. Важным для состояния организма считается оценка его гематологических показателей. Наличие патологии сказывается на числе эритроцитов и уровне гемоглобина в крови, снижая гематокритную величину и удельный вес крови [14].

Проведенная оценка среднего объема эритроцита выявила, что на 3-и сутки наблюдения произошло уменьшение его объема до $78,2 \pm 0,46$ фл. К 7-м суткам объем его снизился до $76,8 \pm 0,37$ фл, после чего постепенно снижался, достигнув к концу наблюдения $70,8 \pm 0,39$ фл. Уровень среднего количества гемоглобина в эритроците на 3-и сутки наблюдения не отличался от контроля. В дальнейшем содержание гемоглобина колебалось незначительно (таблица). Концентрация гемоглобина возрастала в течение всего периода наблюдений, и максимум ее был отмечен к концу наблюдения $30,1 \pm 0,35$ г/дл. Оценка RDW выявила плавное повышение показателя на 3-и сутки наблюдения до $9,9 \pm 0,12\%$, к 7-м суткам данный показатель возрос до $10,4 \pm 0,24\%$, на 11-е - до $10,9 \pm 0,30\%$, а к 15-м суткам достиг $11,8 \pm 0,26\%$. Ясно, что гипоксия, сопровождающая тяжелое токсическое воздействие на ткани организма, приводит к повреждению эритроцитов, что создает условия для их гиперагрегации, ухудшения микроциркуляции, развития микротромбозов и углубления гипоксии [2; 9]. Установлено, что скорость оседания эритроцитов на 3-и сутки составила $14,8 \pm 0,22$ мм/ч, к 7-м СОЭ снизилась до $13,2 \pm 0,28$ мм/ч, на 11-е сутки оказалась на уровне $10,6 \pm 0,32$ мм/ч и к концу наблюдения достигла $8,3 \pm 0,27$ мм/ч.

Большой научный интерес представляет оценка динамических изменений поверхностных характеристик мембраны эритроцитов на фоне хронического воспаления в печени. Сейчас многие исследователи признают серьезную роль изменений цитоархитектоники эритроцитов в ходе межклеточных взаимодействий, считающихся основой агрегации [15]. При этом решение данного вопроса тормозилось методическими трудностями по изучению формы эритроцитов в ходе их агрегации [11].

Морфология эритроцитов на фоне хронического восстановления печени имела особенности. Количество нормоцитов при первом осмотре было $56,8 \pm 0,45\%$, к 3-м суткам наблюдения составило $57,3 \pm 0,33\%$, в дальнейшем данный показатель четко нарастал и к последнему осмотру составил $66,8 \pm 0,35\%$. Количество микроцитов в исходе составляло $18,2 \pm 0,29\%$. В процессе наблюдений этот показатель снизился и на 15-е сутки составил $14,7 \pm 0,42\%$ (таблица). Количество макроцитов в крови животных также снижалось, достигая к концу наблюдения $18,5 \pm 0,33\%$ при значении при первом осмотре $25,0 \pm 0,37\%$. Сходной была динамика количества эхиноцитов, которая проявилась понижением их уровня к 11-м

суткам до $9,9 \pm 0,16\%$, а к концу наблюдений до уровня $8,6 \pm 0,23\%$. Количество измененных форм эритроцитов, наличие которых можно объяснить агрегацией спектрина, вызванной избытком кальция и нарушением конфигурации и площади эритроцитарной мембраны [9; 11], также снижалось, достигая к концу наблюдения минимальных значений.

Развитие изменений морфологии эритроцитов имеет большое диагностическое значение и способно нести дополнительные сведения вместе с их числом, цветовым показателем и содержанием гемоглобина. В норме основное количество эритроцитов являются двояковогнутыми дисками, которые имеют большую пластичность и способны быстро деформироваться и восстанавливать свою обычную форму после продвижения через капилляры. Для реализации своих функций (в т.ч. дыхательной, пластической, транспортной, буферной) они должны четко обеспечивать свой собственный метаболизм, иметь сохранность функционального статуса и структур в условиях постоянного риска аутоиммунного или осмотического повреждения. Противостоять этому они могут благодаря состоянию их цитолеммы, обеспечивающей обмен кислорода и углекислого газа, уровень гидратации и электролитный статус, связывание на поверхности антител и антигенов. При этом эритроциты в своей массе достаточно дефектны по причине потери функций, принадлежащих ядру и обычным органеллам. Отсутствие ядер понижает уровень клеточной регенерации, степень их устойчивости к изменениям в показателях экстрацеллюлярной среды и к влиянию многих внешних факторов. Ухудшение энергетических, осмотических, иммунологических, онкотических и реологических параметров внутренней среды живого организма ведет к увеличению требований ко всем клеткам, которое для «функционально неполноценных» клеток оказывается чрезмерным, что ведет к нарушениям формы клеток.

Изменения микрореологических свойств эритроцитов часто возникают в ходе развития катаболических процессов в организме на фоне даже стихающего воспаления, когда характерна интенсификация процессов, направленных на катаболизм. Признано, что изменение морфологии эритроцитов наступает в условиях низкого рН, а также в присутствии белков острой фазы. Динамика показателей реологии крови углубляет дисфункцию микроциркуляции, усиливая риск ишемических поражений внутренних органов. При этом на поверхности эритроцитов могут адсорбироваться различные продукты метаболизма и ряд иммунных комплексов. Это позволяет считать эритроциты неспецифическими клетками, принимающими участие в иммунных процессах [14]. Большое количество «монетных столбиков», обнаруженное на момент первичного приема, в дальнейшем постепенно снижалось до минимального уровня. Данный процесс по сути является агрегацией эритроцитов, которая крайне негативно влияет на микроциркуляцию. Процесс истинной аутоагглютинации эквивалентен положительной реакции Кумбса и является сигналом

развития повреждения эритроцитов. И аутоагглютинация, и наличие «монетных столбиков» видимы в микроскоп. Формирование «монетных столбиков» – это соединение эритроцитов в цепочки, похожие по форме на монетные. В норме у собак в крови содержится ничтожное число «монетных столбиков» [9].

Проведенный анализ доступной литературы показал, что исходы многих патологических процессов во многом связаны с динамикой гематологических показателей, в т.ч. со степенью изменений микрореологических свойств эритроцитов [15], которые нуждаются во всесторонней оценке и в понимании их роли в патогенезе хронического воспаления печени. При этом в исследовании данного состояния неоправданно мало внимания уделяется эритробластическому росту костного мозга и его функциональному состоянию. Эта патология даже после курса лечения способна давать осложнения, способствуя развитию патологических процессов в последующем. Это доказывает потребность в скрупулезном изучении при хроническом воспалительном процессе в печени показателей крови. По их изменению можно вести контроль над процессом выздоровления и риском возникновения осложнений с оценкой общего прогноза.

Заключение. Хроническое воспаление печени сопровождается выраженными негативными сдвигами в состоянии эритроцитов. При этом состоянии эритроциты испытывают значительную деформацию, в крови понижается число дискоцитов, появляются эхиноциты и шизоциты, отмечается много монетных столбиков. Это говорит о наличии сложной реакции эритрона на наличие хронического воспаления в печеночной ткани в форме увеличения разнородности популяции эритроцитов. Повышается количество эритроцитов, имеющих тельца Жолли. Пойкилоцитоз сохраняется у этих животных длительно, что указывает на стойкое затруднение микроциркуляции в течение долгого времени.

Список литературы

1. Ушков А.А. Протекторное действие селенсодержащих фитокомпозиций на биохимические и иммуно-гематологические показатели лабораторных животных в экспериментальной модели гепатита / А.А. Ушков, В.В. Шевляков, Л.В. Половинкин // Здоровье и окружающая среда. – 2012. – № 21. – С. 458-463.
2. Глаголева Т.И. Ферроглюкин и гамавит в коррекции антиагрегационных свойств сосудов у новорожденных телят с дефицитом железа / Т.И. Глаголева, С.Ю. Завалишина, И.Н. Медведев // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 5. – С. 17.

3. Стаценко М.И. Эффективность действия стимулара при токсическом поражении печени / М.И. Стаценко, М.Н. Зеленина, Н.А. Денисова // Успехи современной науки. – 2016. – Т. 9, № 11. – С. 71-74.
4. Методы коррекции послеоперационного состояния собак при завороте желудка / Ю.А. Ватников, И.Н. Медведев, Е.Ю. Боженова и др. - Курск: Деловая полиграфия, 2017. – 163 с.
5. Завалишина С.Ю. Гемостатическая активность сосудистой стенки у новорожденных телят // Российская сельскохозяйственная наука. – 2012. – № 1. – С. 37-39.
6. Медведев И.Н. Агрегация форменных элементов крови и сосудистый контроль над нею у телят растительного питания / И.Н. Медведев, С.Ю. Завалишина, Т.И. Глаголева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1-1. – С. 1797.
7. Завалишина С.Ю. Контроль сосудистой стенки над индивидуальной агрегацией тромбоцитов у новорожденных телят в условиях дефицита железа / С.Ю. Завалишина, Т.И. Глаголева // Ветеринарная практика. – 2013. – № 2. – С. 40.
8. Физиология крови и кровообращения / С.Ю. Завалишина, Т.А. Белова, И.Н. Медведев, Н.В. Кутафина. - СПб., 2015. – 176 с.
9. Ватников Ю.А. Сравнительный анализ структурных изменений эритроцитов у лабораторных животных под действием травм // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2012. – № 3. – С. 20-22.
10. Физиологические характеристики реологических особенностей эритроцитов у поросят молочно-растительного питания, подвергшихся негативным влияниям внешней среды / И.Н. Медведев, А.В. Паракневич, С.Ю. Завалишина, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 8. – С. 74-81.
11. Завалишина С.Ю. Контроль сосудистой стенки над индуцированной агрегацией тромбоцитов у новорожденных телят в условиях дефицита железа / С.Ю. Завалишина, Т.И. Глаголева // Ветеринарная практика. – 2013. – № 2. – С. 40.
12. Завалишина С.Ю. Сосудистый гемостаз у телят в период молочно-растительного питания // Зоотехния. – 2012. – № 2. – С. 21.
13. Макинтайр Д.К. Скорая помощь и интенсивная терапия животных / Д.К. Макинтайр, К.Д. Дробац, С.С. Хаскингз. – М.: Аквариум-Принт, 2008. – 560 с.
14. Куликов Е.В. Патологоанатомическая практика и верификация патогистологического диагноза / Е.В. Куликов, В.И. Паршина, Ю.А. Ватников. - М.: РУДН, 2017. – 188 с.
15. Zavalishina S.Yu. Platelet-Activity Dependence on the Age of Rats with Experimental Dyslipidemia / S.Yu. Zavalishina, N.V. Kutafina, Yu.A. Vatnikov et al. // Biol Med (Aligarh). – 2016. – № 8 (6). - 326. doi: 10.4172/0974-8369.1000326.