

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ ДЕФОРМАБІЛЬНОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ В СИСТЕМІ «МАТИ – ПЛІД» ПРИ ГРАВІТАЦІЙНОМУ НАВАНТАЖЕННІ

Національний технічний університет України «КПІ» (м. Київ)

Дане дослідження виконано на базі НМУ імені О. О. Богомольця «Дослідити особливості функції репродукції та пренатального розвитку білих щурів при впливі різноспрямованої гіпергравітації», № держ. реєстрації 0198U001308.

**Вступ.** Спеціальні дослідження показали, що у новонароджених, у зв'язку з більш високим вмістом гемоглобіну, відзначається знижена здатність еритроцитів до деформування у порівнянні з дорослими особинами [3]. Поряд з цим наводяться дані про порушення деформабільності еритроцитів (ДЕ) у новонароджених, які проявляються у збільшенні в периферійній крові субпопуляції стоматоцитів і сфероцитів [1]. Зокрема, вказується на те, що у п'ятиденних доношених новонароджених модуль еластичного стиснення еритроцитів знижений на 25% у порівнянні із значенням даного показника у дорослих [8]. Однак, особливостям вікових характеристик ДЕ присвячені лише окремі повідомлення.

В раніше проведених нами дослідженнях було встановлено, що у плодів основним проявом адаптивних властивостей організму є помірно підвищена кількість ехіноцитів першого і другого типів, тоді як у дорослих особин адаптація організму проявляється збільшенням в периферійній крові, в основному, субпопуляції стоматоцитів [6].

Таке різне співвідношення в системі ехіноцити / стоматоцити вказує на те, що плоди мають потенційно великий резерв адаптивних властивостей у порівнянні з дорослими особинами.

На користь такого висновку свідчать і результати аналізу інформаційних показників. Зокрема, за даними еритрометрії, саме у плодів значення інформаційної та відносної ентропії перевищують аналогічні показники дорослих тварин.

Якщо врахувати, що в обох групах спостережень зберігався високий рівень коефіцієнта надмірності (відповідно 83.98% і 84.51% для плодів і дорослих тварин), то можна прийти до висновку, що склад червоної крові у плодів і дорослих особин стійко (на рівні детермінованого стану системи [2]), характеризує властиву цим віковим періодам особливість.

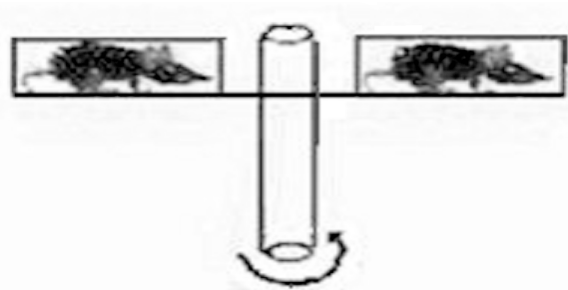
На користь такого висновку вказує також та обставина, що для обох вікових груп показник мінливості еритроцитів знаходився в межах 0,33 і 0,23 відповідно.

Поряд з цим, отримані результати дають підставу вважати, що саме ці особливості рівня адаптивних властивостей організму плодів і дорослих особин можуть пояснювати меншу в варіабельності і велику по стійкості реакцію на зовнішні фактори (наприклад, на холододвій), яку виявляють плоди, ніж дорослі особини.

Таким чином, отримані нами дані свідчать про більшу стійкість еритроцитів крові плодів до деформування. З урахуванням інформаційних показників, ці дані можуть бути використані для оцінки особливостей і ступеня відповідної реакції організму різних вікових груп на вплив зовнішніх факторів і також можуть знайти застосування в різних областях експериментальної і клінічної медицини.

**Мета дослідження** – проведення порівняльного аналізу особливостей деформабільності еритроцитів в системі «мати – плід» при гравітаційному навантаженні.

**Об'єкт і методи дослідження.** Модель гіпергравітації відтворювали шляхом центрифугування тварин на центрифугі К26Д з радіусом ротора 23 см. Щурів розміщували в пластмасових камерах таким чином, щоб голова була орієнтована на відцентрове прискорення, тобто тварин розміщували головою до центру (голова – хвіст) – краніо-каудальний напрямок, і від центру (хвіст – голова) – каудо-краніальний напрямок (**рис. 1**).



**Рис. 1.** Схема розташування клітин з експериментальними тваринами щодо ротора центрифуги відповідно спрямованості гравітаційного навантаження «голова – хвіст» (ліворуч) і «хвіст – голова» (праворуч).

Досліди проведені на 4-х групах тварин:

I група – контрольні вагітні самиці, які знаходилися у тих же умовах утримання, що і піддослідні, тільки не піддавалися гравітаційному навантаженню (n=9);

II група – піддослідні вагітні самиці, які піддавалися гравітаційному навантаженню (по 3 години щодня) силою в 2 г в каудо-краніальному напрямку (n=9);

III група – піддослідні вагітні самиці, які піддавалися гравітаційному навантаженню (по 3 години щодня) силою в 2 г в краніо-каудальному напрямку (n=3);

IV група – піддослідні вагітні самиці, які піддавалися гравітаційному навантаженню (по 3 години щодня) силою в 4 г в краніо-каудальному напрямку (n=9).

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Взяття кордової крові проводилося під внутрішньоочеревинним гексеналовим наркозом. Стандартизація експерименту досягалася шляхом відбору третього зародка по розташуванню в правому розі матки. Шляхом поздовжнього розрізу матки зародок звільнявся від амніотичної оболонки. Забір кордової крові робили за допомогою пункції пупкової вени. Забір крові у самок здійснювали пункцією правої яремної вени.

Об'єктом дослідження були непофарбовані мазки крові, в котрих за розробленою нами методикою розраховувався показник мінливості еритроцитів (ПМЕ). Метод передбачає підрахунок для кожного пацієнта не менш ніж 400 еритроцитів з подальшою бальною оцінкою їх 15 різновидів, котрі поділялись на 5 груп в залежності від форми та змін поверхневої архітекtonіки: 1 група – незмінні еритроцити (нормоцити), 2 група – помірно змінні (ехіноцити<sub>1</sub>, ехіноцити<sub>2</sub>, стоматоцити<sub>1</sub>, стоматоцити<sub>2</sub>, стоматоцити<sub>3</sub>, мішенеподібні<sub>1</sub>, овалоцити); 3 група – виражено змінні (ехіноцити<sub>3</sub>, ехіноцити<sub>4</sub>, стоматоцити<sub>4</sub>, овалоцити); 4 група – сильно змінні (мішенеподібні<sub>2</sub>, дрепаноцити, акантоцити). На основі таких розрахунків був обґрунтований кінцевий рівень змін ПМЕ: при 0 < ПМЕ < 0,5 – норма, при 0,5 < ПМЕ < 1,5 – незначні зміни; при 1,5 < ПМЕ < 2,5 – помірні зміни; при 2,5 < ПМЕ < 5,0 – виражені зміни; при ПМЕ > 5,0 – важкі зміни). Імовірність різниці між порівнюваними групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при P<0,05. Крім цього, з метою оцінки системних ознак отримуваних даних, використовували алгоритми теорії інформації для підрахування в кожній групі дослідження значення відносної ентропії, що дозволяло використовувати відповідні методи подальшого поглибленого статистичного аналізу отриманих результатів в залежності від системного

Таблиця 1

Дані еритрометрії та ймовірності зустрічі різних типів еритроцитів у плодів і у дорослих особин

Групові ознаки еритроцитів	плоди		дорослі особини	
	%	P <sub>i</sub>	%	P <sub>i</sub>
нормоцити (a)	94,73	0,9473	95,84	0,9584
b <sub>1</sub> *	3,22	0,0322	1,33	0,0133
b <sub>2-3</sub>	1,41	0,0141	2,14	0,0214
c	0,49	0,0049	0,69	0,0069
інші	0,15	0,0015	0,00	0,0000

Примітка: \* - до групи b<sub>1</sub> відносили ехіноцити 1 та 2 типів; до групи b<sub>2-3</sub> – стоматоцити 1-3 типів та овалоцити; до групи c – ехіноцити 3 та 4 типів, стоматоцити 4 типу та сфероцити. P<sub>i</sub> – вірогідність значень.

Таблиця 2

Субпопуляції еритроцитів у кордовій крові 20 добових плодів і вагітних самок білих щурів

Тип еритроцита	Досліджувані групи			
	Плоди		Дорослі особини	
	кількість клітин	ПМЕ X± m	кількість клітин	ПМЕ X± m
група b <sub>1</sub> (ex. 1, ex. 2)*	105	0,33+0,05	33	0,23+0,02
група b <sub>2</sub> (ст. 1-3, овал., міш. 1)	46		53	

Примітка: \* ex. 1 – ехіноцити першого типу; ex. 2 – ехіноцити другого типу; ст. 1, ст. 2, ст. 3 – відповідно стоматоцити першого типу, другого і третього типу; овал. – овалоцити; міш. 1 – мішенеподібні клітини першого типу. \* ex. 1 – ехіноцити першого типу; ex. 2 – ехіноцити другого типу; ст. 1, ст. 2, ст. 3 – відповідно стоматоцити першого типу, другого і третього типу; овал. – овалоцити; міш. 1 – мішенеподібні клітини першого типу.

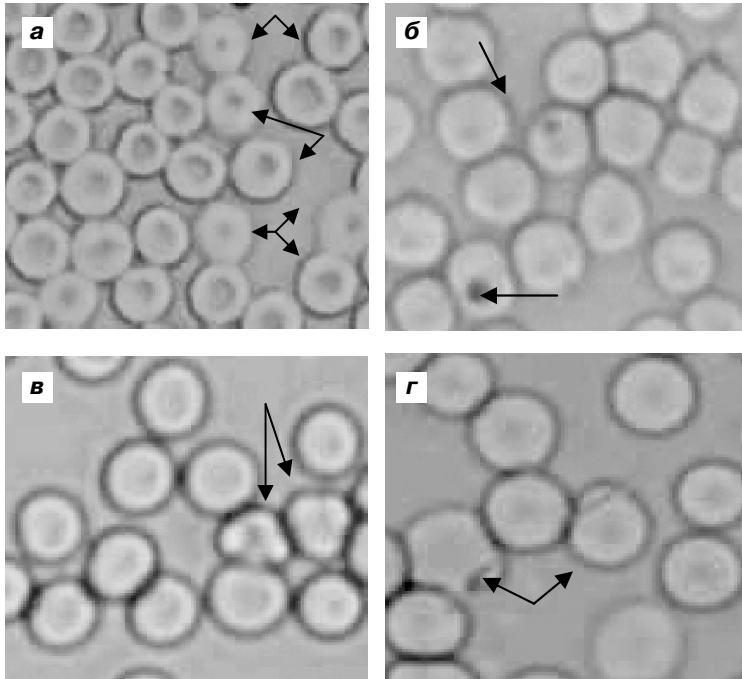
стану вивчаємої ознаки: детермінована, квазідетермінована або імовірнісна [ 6 ].

Контролем була кордова кров плодів та дорослих тварин за вагітності, яка нормально протікала.

Усього досліджено 120 мазків від 30 експериментальних тварин різного віку, включаючи 14, 18 і 20-денних зародків.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Як показали проведені дослідження, в кордовій крові 20-добових зародків білих щурів субпопуляція нормоцитів становила 94,73%, еритроцитів групи b<sub>1</sub> – 3,22% і еритроцитів групи b<sub>2-3</sub> – 1,41%. При цьому в групі еритроцитів b<sub>2-3</sub> переважали стоматоцити 1 – 2 типів (табл. 1).

При обстеженні периферійної крові дорослих особин (самок) було встановлено, що відсоток субпопуляції нормоцитів достовірно не відрізняється від такого у плодів і становить 95,84%. У той же час у цих тварин, порівняно з плодами, істотно і достовірно був знижений відсоток субпопуляції еритроцитів групи b<sub>1</sub> (1,33%) і зросло число клітин групи b<sub>2-3</sub> до 2,14% (табл. 2).



**Рис. 2. Фрагменти мазків крові дорослих особин (самок) (а, б) і кордової крові 20 добових плодів білого щура (в, г). Незабарвлені препарати (об. 40, ок. 20х): а, б – помірно виражений стоматоцитоз; в – помірно виражений ехіноцитоз; г – стоматоцити (Ст<sub>1</sub>) глечикоподібної форми. Зазначені типи клітин помічені стрілкою.**

При цьому у дорослих особин у складі групи еритроцитів  $b_{2-3}$  переважали стоматоцити (рис. 2, а, б), тоді як в кордовій крові, в цілому, серед деформованих дискоцитів переважали ехіноцити першого типу (рис. 2, в). Крім того, особливістю крові плодів була більш часта наявність серед стоматоцитів клітин глечикоподібної форми (рис. 2, г).

При проведенні статистичного аналізу (критерій  $\chi^2$ ) достовірності частоти зустрічі різних субпопуляцій еритроцитів у групах  $b_1$  і  $b_{2-3}$  у плодів і дорослих тварин було встановлено (табл. 2), що у плодів, у порівнянні з дорослими тваринами, спостерігається

**Таблиця 3**

**Значення інформаційних показників для кордової крові 20 добових плодів і периферійної крові дорослих самок білих щурів**

Інформаційні показники	плоди	Дорослі особини
максимальна ентропія (H max)	2,3219	2,0000
інформаційна ентропія (H)	0,3719	0,3099
відносна ентропія (h)	0,1602	0,1549
організація системи (O)	1,9500	1,6901
коефіцієнт надмірності (R)	83,98 %	84,51 %

збільшення субпопуляції ехіноцитів 1-2 типів і більш низькі показники вмісту еритроцитів групи  $b_{2-3}$  ( $p < 0,001$ ).

З метою системної оцінки стану червоної крові плодів і дорослих особин, нами були розраховані інформаційні показники [2], на підставі яких можна було б судити про стійкість системної організації крові у вивчені періоди онтогенезу. Проведені розрахунки показали, що у дорослих особин в порівнянні з відповідними показниками плодів, помітно знижуються показники інформаційної ентропії (H), відносної організації системи (O) й відносної ентропії (h). Поряд з цим, у дорослих особин зростає коефіцієнт надмірності системи (табл. 3).

Наведені дані свідчать про те, що у плодів основним проявом адаптивних властивостей організму є помірно підвищена кількість ехіноцитів першого і другого типів, тоді як у дорослих особин адаптація організму проявляється збільшенням в периферійній крові, в основному, субпопуляції стоматоцитів.

**Висновки.**

1. У плодів основним проявом адаптивних властивостей організму є помірно підвищена кількість ехіноцитів першого і другого типів, тоді як у дорослих особин адаптація організму проявляється збільшенням в периферійній крові, в основному, субпопуляції стоматоцитів. Таке різне співвідношення в системі ехіноцити / стоматоцити вказує на те, що плоди мають потенційно більший резерв адаптивних властивостей у порівнянні з дорослими особинами. На користь такого висновку вказує також та обставина, що для обох вікових груп показник мінливості еритроцитів знаходився в межах 0, 33 і 0,23 відповідно.

2. Саме ці особливості рівня адаптивних властивостей організму плодів і дорослих особин можуть пояснювати меншу в варіабельності і велику по стійкості реакцію на зовнішні фактори (наприклад, на холододовий), яку виявляють плоди, ніж дорослі особини.

3. З урахуванням інформаційних показників, отримані дані можуть бути використані для оцінки особливостей і ступеня відповідної реакції організму різних вікових груп експериментальних тварин на вплив факторів зовнішнього середовища при вирішенні різних проблем екологічної біобезпеки.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується дослідити напрямок можливих порушень розвитку плоду в пренатальному періоді та постнатальному розвитку новонароджених при різних захворюваннях материнського організму в різних областях експериментальної космічної медицини при плануванні довгострокових космічних польотів, а також в клінічній медицині [5].

### Література

1. Березовский В. А. Профиль концентрации кислорода в клетке и некоторые спорные вопросы перемещения свободного кислорода в биологических объектах / В. А. Березовский, Б. С. Сушко // Физиологический журнал. – 1984. – Т. 30, №3. – С. 345-353.
2. Кадыров Х. К. Синтез математических моделей биологических и медицинских систем / Х. К. Кадыров, Ю. Г. Антономов. – К.: Наукова думка, 1974. – 222 с.
3. Новодержкина Ю. К. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии / Ю. К. Новодержкина, З. Г. Шишканова, Г. И. Козинец. – М.: «Триада-фарм», 2004. – 151 с.
4. Серебрякова Е. Н. Морфология эритроцитов и показатели перекисного окисления липидов в плазме у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности / Е. Н. Серебрякова, Д. К. Волосников, Н. В. Симакова // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 1. – С. 27-31.
5. Флоренсов В. В. Патогенетические механизмы задержки внутриутробного развития плода (профилактика, диагностика и акушерская тактика): дисс. ... доктора медицинских наук: 14. 00. 01 / В. В. Флоренсов. – Иркутск, 2004. – 224 с.
6. Яценко В. П. Морфометричний метод оцінки стану червоної крові на основі програмно-апаратних засобів обробки відеозображень незабарвлених еритроцитів / В. П. Яценко, О. В. Яценко // Міжнародна наук.-техн. конф. "ABIA-2001". – 2001. – С. 36-39.
7. Яценко О. В. Дослідження деформування еритроцитів у різні періоди онтогенезу щурів / О. В. Яценко // Biomedical and Biosocial Anthropology. Official journal of the International Academy of Integrative Anthropology. – 2008. – № 10. – Р. 89-91.
8. Meyburg J. Decreased mechanical stability of neonatal red cell membrane quantified by measurement of the elastic area compressibility modulus / J. Meyburg, T. Bohler, O. Linderkamp // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2000. – Vol. 22, № 1. – P. 67-73.

УДК -611. 51. 629. 7(092)

#### **ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ ДЕФОРМАБІЛЬНОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ В СИСТЕМІ «МАТИ – ПЛІД» ПРИ ГРАВІТАЦІЙНОМУ НАВАНТАЖЕННІ**

**Яценко О. В., Яценко В. П.**

**Резюме.** Представлені результати порівняльного аналізу особливостей деформабільності еритроцитів плодів щурів та вагітних самиць (всього 30 експериментальних тварин різного віку, включаючи 14, 18 і 20-денних зародків), які перенесли відцентрове гравітаційне навантаження у краніо-каудальному та каудо-краніальному напрямках. Встановлено, що у плодів основним проявом адаптивних властивостей організму є помірно підвищена кількість ехіноцитів першого і другого типів, тоді як у дорослих особин адаптація організму проявляється збільшенням в периферійній крові, в основному, субпопуляції стоматоцитів.

**Ключові слова:** зародки щурів, вагітні самиці, гравітаційне навантаження, ехіноцити, стоматоцити.

УДК -611. 51. 629. 7(092)

#### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ДЕФОРМАБИЛЬНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ В СИСТЕМЕ «МАТЬ – ПЛОД» ПРИ ГРАВИТАЦИОННОЙ НАГРУЗКЕ**

**Яценко Е. В., Яценко В. П.**

**Резюме.** Представлены результаты сравнительного анализа особенностей деформабильности эритроцитов зародышей крыс и беременных самок (всего 30 экспериментальных животных разного возраста, включая 14, 18 и 20 дневных зародышей), которые перенесли центробежную гравитационную нагрузку в кранио – каудальном и каудо – краниальном направлениях. Установлено, что у плодов основным проявлением адаптивных свойств организма является умеренное повышение количества эхиноцитов первого и второго типов, тогда как у взрослых особей адаптация организма проявляется увеличением в периферической крови, в основном, субпопуляции стоматоцитов.

**Ключевые слова:** зародыши крыс, беременные самки, гравитационная нагрузка, эхиноциты, стоматоциты.

UDC -611. 51. 629. 7(092)

#### **Comparative Analysis of Characteristics of Erythrocytes Deformability in the «Mother – Fetus» System under Gravity Loading**

**Yatsenko O. V., Yatsenko V. P.**

**Abstract.** The results of comparative analysis of characteristics of erythrocytes deformability in rats' fetuses and pregnant females (30 experimental animals altogether of different age, including 14, 18 and 20-day fetuses), who underwent centrifugal gravity loading in craniocaudal and caudocranial directions, have been presented.

The model of hyper gravity was reproduced by animals' centrifugation in K26D centrifuge with rotor radius of 23 cm. Rats were placed into plastic compartments in such a way that their heads were oriented to centrifugal acceleration, i. e., rodents' heads were directed to the center (head-tail position), i. e., craniocaudal direction, and out of the center (tail-head position), i. e., caudocranial direction.

The experiments have been carried out on IV groups of animals: Group I involved control pregnant females, who were kept in the same housing conditions as experimental ones, but did not undergo gravity loading (n=9); group II

involved experimental pregnant females, who underwent gravity loading 2 g force (during 3 hours every day) in caudocranial direction (n=9); group III involved experimental pregnant females, who underwent gravity loading 2 g force (during 3 hours every day) in craniocaudal direction (n=3); the IV group involved experimental pregnant females, who underwent gravity loading 4 g force (during 3 hours every day) in craniocaudal direction (n=9).

The studies showed that in cord blood of 20-day old fetuses of white rats, subpopulation of normocytes constituted 94,73%, erythrocytes of **b<sub>1</sub>** group – 3,22% and erythrocytes of **b<sub>2-3</sub>** group – 1,41%. At the same time, stomatocytes of Type I and II prevailed in erythrocytes of **b<sub>2-3</sub>** group.

The analysis of peripheral blood of adult females showed that the rate of subpopulation of normocytes' did not significantly differ from the similar one in fetuses and constituted 95,84%. At the same time the rate of subpopulation of erythrocytes of **b<sub>1</sub>** group in animals was significantly and reliably lower (1,33%) than in fetuses and number of **b<sub>2-3</sub>** group cells was growing up to 2,14%.

Thus, it has been established that in fetuses the main manifestation of adaptive properties of organism is the moderately elevated number of echinocytes of Type I and II, whereas in adults, adaptation of organism manifests mainly in growth of subpopulation of stomatocytes in peripheral blood.

Such different ratio in the system of echinocytes/ stomatocytes indicates that fetuses possess potentially more reserve of adaptive properties in comparison with adults.

Taking into consideration the informational indices, this data may be used to evaluate peculiarities and degree of adequate reaction of organism of experimental animals of different age groups to the influence of the environment while solving multiple problems of ecological biosafety.

The findings can also be used in different fields of experimental space medicine in planning of long-term space flights as well as in clinical medicine in evaluation and prediction of direction of possible disturbances of fetation during the prenatal period and postnatal development of newborns in various diseases of maternal organism.

**Key words:** fetuses of rats, pregnant females, gravity loading, echinocytes, stomatocytes.

*Рецензент – проф. Міщенко І. В.*

*Стаття надійшла 3. 04. 2014 р.*