

## Морфо- и гистохимические аспекты адаптации эритроцитов в крови свиней в ранние фазы постнатального периода онтогенеза

*В.К. Стрижиков, д.в.н., профессор,  
В.В. Сытько, ассистент, Уральская ГАВМ*

Система красной крови, как и любая другая функциональная система, в процессе постнатального онтогенеза претерпевает сложные возрастные изменения не только функциональных, но и морфологических и гистохимических показателей. Её изменения обусловлены особенностями среды обитания, величиной метаболических запросов в кислороде, сменой локализации эритропоэза, появлением новых генераций клеток красной крови и т.д.

Наши предварительные исследования показали, что у свиней в ранние фазы постнатального онтогенеза возможности адаптации системы красной крови сильно ограничены. Единственно эффективным путём адаптации является изменение внутриэритроцитарных ферментных систем и коррекция родства гемоглобина к кислороду,

которые могут осуществляться только в процессе созревания клеток красной крови [1]. После выхода клеток в кровяное русло возможности коррекции оказываются сильно ограничены или невозможны [2]. Стратегия адаптации эритрона у свиней должна предусматривать полную замену эритроцитов одного типа на клетки другого, более приспособленного к функционированию в новых условиях. Такая смена клеток должна происходить в относительно короткие сроки (до 10–15 сут.) и затрагивать значительную часть циркулирующих эритроцитов [1].

Основная **цель** данной работы – исследование морфометрических и гистохимических проявлений смены эритроцитов у свиней в ранние фазы постнатального онтогенеза.

**Материал и методы исследований.** Эксперименты проводили в 7 серий в частных ИП, в хозяйствах «Банниковское» Курганской области, «Подовинное» и «Карсы» Челябинской области на поросятах

крупной белой породы у новорождённых, на 4-, 8-, 15-, 30-, 45-, 60-, 90-, 120-, 150-, 180-, 210- и 240-е сут. жизни свиней. Исследовали как цельную кровь, так и фракции эритроцитов, полученные в тепловом градиенте по Н.А. Сизовой и др. [3].

На нефиксированных и неокрашенных мазках крови и фракций эритроцитов измеряли диаметр (окуляр-микрометром) и сухую массу эритроцитов (интерферометрически в однородном поле с большим раздвоением изображения при  $\lambda=546$  нм) [4]. Исследовали содержание полисахаридов по Mac-Manus, железосодержащих гранул – по Perls, липидов – по Sheehan и Storey, пероксидазы – по Graham-Knoll [5],  $\alpha$ -нафтилбутиратэстеразы по Higgy и  $\alpha$ -нафтил-AS-ацетат эстераз по Wachstein [5], содержание ретикулоцитов – по Гельмееру [6]. Анализ кинетики эритроцитов проводили по Е.Н. Мосягиной и др. [7].

Полученный цифровой материал обрабатывали в программе Statistica 8. Анализировали форму эмпирического распределения, проводили регрессионный анализ.

**Результаты исследований.** Для новорождённых поросят характерна наиболее низкая концентрация эритроцитов, содержание в них гемоглобина (табл. 1, 2). Мы отмечаем три волны подъёма суточного эритропоэза. Первая волна наблюдалась с 4 до 8, вторая – с 15 до 30, а третья – с 90 до 120 сут. жизни поросят (табл. 1). Эти подъёмы обусловлены периодической активацией эритропоэза и сменой генераций клеток красной крови.

Рассмотрим более подробно, как изменяются морфологические и гистохимические характеристики эритроцитов в эти возрастные периоды.

У новорождённых поросят в крови циркулируют клетки с относительно большим диаметром –  $6,75 \pm 1,24$  мкм. Эти клетки имеют высокое содержание сухого вещества –  $43,40 \pm 2,61$  пг. Более 80% сухого вещества приходится на гемоглобин – его

содержание в эритроците составляет  $35,03 \pm 2,90$  пг (табл. 2).

Эритропоэз у новорождённых поросят практически полностью остановлен. В крови отсутствуют ретикулоциты (рис.). Отмечается очень низкое содержание клеток с гранулами железа в цитоплазме –  $0,12 \pm 0,04\%$  сидероцитов (табл. 2).

В этот же период у поросят в крови циркулирует много клеток с нарушениями нормальной двояковогнутой формы – до  $18,31 \pm 0,57\%$ . Наблюдаются клетки с изменёнными контурами, различной степенью вогнутости, наличием в центре эритроцита, в самой тонкой его части, дополнительных 1–2 утолщений.

Анализ генераций по Е.Н. Мосягиной показывает, что для поросят в первые сутки жизни характерно резкое увеличение неэффективного поэза. Уровень внутрисосудистого гемолиза достигает 20% циркулирующих в кровяном русле эритроцитов, или в абсолютных величинах  $(0,09 \pm 0,01) \times 10^{15}$  эритроцитов в сутки (табл. 1). На низкую способность поддерживать энергетический гомеостаз указывает скопление в эритроците PAS-положительных веществ и более низкий уровень пероксидазной активности, наблюдаемый в этот возрастной период.

Наблюдаемая картина хорошо укладывается в понятие физиологической анемии [2]. Известно, что в фетальный период плод развивается в условиях низкого парциального давления (напряжения) кислорода. Транспорт кислорода в ткани плода проходит через множество барьеров. Сюда можно отнести барьеры, обусловленные лёгочной вентиляцией организма матери, системой гемодинамики у матери, плацентарным и прочими препятствиями.

После рождения большинство барьеров на пути транспорта кислорода в ткани и органы поросёнка исчезают. Начинается лёгочная вентиляция, и закрываются шунты, через которые происходило

#### 1. Суммарная суточная продукция и разрушение эритроцитов у поросят в ранние фазы постнатального периода онтогенеза (n = 32; $\bar{X} \pm Sx$ )

Возраст, сут.	Концентрация эритроцитов, $10^{15}/л$	Суточная продукция эритроцитов, $10^{15}/сут.$	Суточная деструкция эритроцитов, $10^{15}/сут.$	Эритроцитарный баланс, $10^{15}/сут.$
1 <sup>▲</sup>	$2,68 \pm 0,18$	$0,02 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,01$	$-0,06 \pm 0,01$
4	$3,37 \pm 0,05^{**}$	$0,12 \pm 0,01^{***}$	$0,06 \pm 0,01^{***}$	$+0,05 \pm 0,01^{***}$
8	$4,02 \pm 0,12$	$0,16 \pm 0,03^{**}$	$0,04 \pm 0,03^{***}$	$+0,11 \pm 0,01^{***}$
15	$4,38 \pm 0,11$	$0,13 \pm 0,05^*$	$0,02 \pm 0,01^*$	$+0,10 \pm 0,01$
30	$5,76 \pm 1,26$	$0,13 \pm 0,04$	$0,01 \pm 0,01$	$+0,12 \pm 0,03$
45	$4,58 \pm 2,66$	$0,05 \pm 0,02^{***}$	$0,0 \pm 0,01$	$+0,04 \pm 0,01^{***}$
60	$6,10 \pm 2,66$	$0,15 \pm 0,07^{***}$	$0,02 \pm 0,01$	$+0,03 \pm 0,13$
90	$5,52 \pm 0,57$	$0,10 \pm 0,04^*$	$0,02 \pm 0,01$	$+0,08 \pm 0,12$
120	$6,63 \pm 8,36$	$0,31 \pm 0,22$	$0,08 \pm 0,02^*$	$+0,22 \pm 0,04$
150	$6,42 \pm 1,11$	$0,03 \pm 0,01^{***}$	$0,03 \pm 0,01^{**}$	$+0,01 \pm 0,01^{***}$
180	$7,02 \pm 5,81^*$	$0,15 \pm 0,08$	$0,03 \pm 0,03$	$+0,11 \pm 0,03^*$
210	$6,81 \pm 4,82$	$0,27 \pm 0,11^*$	$0,04 \pm 0,02$	$+0,25 \pm 0,15^{**}$
240	$6,11 \pm 4,00$	$0,33 \pm 0,17$	$0,08 \pm 0,06^{**}$	$+0,21 \pm 0,07$

Примечания: \* –  $P < 0,1$ ; \*\* –  $P < 0,05$ ; \*\*\* –  $P < 0,01$

<sup>▲</sup> в этой строке представлены данные, полученные при сравнении показателей у новорождённых и суточных поросят

2. Морфо- и гистометрические показатели эритроцитов у поросят в ранние фазы постнатального периода онтогенеза (n = 32; X ± Sx)

Возраст, сут.	Диаметр эритроцита, мкм	Содержание сухого вещества в эритроците, пг	Содержание гемоглобина в эритроците, пг	Количество сидероцитов, %
Нов.	6,75±1,24	43,40±2,61	35,03±2,90	0,01±0,01
4	5,35±0,40*	37,12±0,45***	27,11±1,22***	3,24±0,37***
8	4,37±0,81*	36,18±0,73**	24,68±0,86*	3,70±0,84
15	5,17±0,91*	34,84±1,28	25,84±1,61	4,68±1,22*
30	4,92±1,14	36,57±1,19	25,11±1,09	4,81±1,30
45	3,83±1,07**	34,25±0,93	23,47±0,67	2,34±0,99
60	3,44±1,00	31,25±0,77	21,26±0,74	1,55±0,73
90	4,11±0,92**	28,47±1,24**	20,34±0,35	0,99±1,27
120	3,81±1,17	31,28±0,72	21,81±0,40*	0,67±1,04
150	3,64±1,27	27,90±0,14	23,04±0,31	0,41±0,91
180	3,91±0,91	31,75±0,11	21,08±0,49	0,71±1,54
210	3,71±0,81	25,74±0,08	22,19±0,73	1,09±0,57*
240	3,24±0,14	34,60±0,12***	23,14±0,91	1,11±0,37

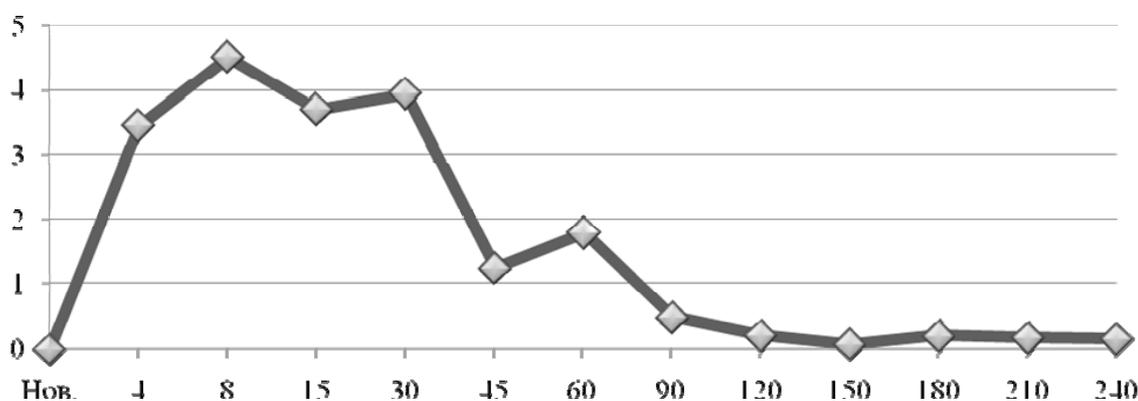


Рис. – Концентрация ретикулоцитов в крови поросят, %

смешивание артериальной и венозной крови. Как следствие этого, парциальное давление кислорода в тканях новорождённого в течение нескольких часов увеличивается в несколько раз, но новорождённый не приспособлен к жизни в таких условиях. Все ферментные системы у него адаптированы к низкому напряжению кислорода. За несколько часов сменить их нельзя. Новорождённый оказывается в условиях избытка кислорода. Возникает кислородное отравление. Чтобы предотвратить такие изменения в организме новорождённого, имеется ряд защитных механизмов: задержка с расправлением лёгких (до 2–3 сут.) и закрытием овального отверстия и т.д. [2].

По нашему мнению, одним из таких механизмов защиты от оксидативного стресса может служить торможение эритропоэза с усиленным разрушением эритроцитов фетального происхождения. У новорождённых поросят в крови циркулируют красные кровяные клетки, имеющие чисто фетальное происхождение. Это крупные клетки с высоким содержанием сухих веществ и гемоглобина, которые находятся в состоянии быстрой элиминации из кровяного русла. Этим обуславливается их повышенный лизис и деформируемость.

Продолжительность торможения эритропоэза и скорость элиминации фетальных эритроцитов зависят от скорости роста поросят. У животных с высокой скоростью роста эти процессы заканчиваются к 3–5-м сут. после рождения, а с низкой скоростью роста – физиологическая анемия может продолжаться до 8–10-сут.

С 4-х суток жизни животного торможение эритропоэза снижается. В кровь выбрасывается много молодых форм эритроцитов (ретикулоцитов и эстеразоположительных эритроидных клеток) (рис.), с частично фетальным происхождением. Согласно данным Е.Н. Мосягиной, на созревание эритроцита от стадии комитированной стволовой клетки требуется от 10 до 21 сут. [2]. Поэтому, по нашему мнению, образование этих клеток имело место в плодный период рождения, но последние стадии созревания произошли уже после рождения поросёнка. Поэтому свойства их отличаются от эритроцитов чисто фетального происхождения.

Поступившие в кровь клетки имеют несколько меньшие размеры, чем чисто фетальные эритроциты. Их диаметр составляет 5,35±0,40 мкм. Эти клетки содержат меньше сухих веществ и гемо-

глобина — соответственно  $37,12 \pm 0,45$  и  $27,11 \pm 0,22$  пг (табл. 2).

У поросят 4-сут. возраста в периферической крови циркулирует много эритроцитов, содержащих негемовое железо, —  $3,24 \pm 0,37\%$ , что на порядок больше, чем у новорождённых поросят.

При анализе эритрограмм (для этого мы строили графики, показывающие зависимость показателя от диаметра эритроцита) по содержанию сухих веществ, гемоглобина, пероксидазной активности отмечается наличие 2–3 максимумов. Эритрограмма растянута. Часто отмечается сдвиг эритрограмм влево, в сторону клеток с меньшими размерами.

Положение первого максимума совпадает с показателями новорождённых поросят (это эритроциты чисто фетального происхождения), второй появляется начиная с четвёртого дня жизни поросёнка.

Сидероцитоз, наблюдаемый у 4-суточных поросят, хорошо объясняется массовым разрушением фетальных эритроцитов и утилизацией железа гемоглобина клетками ретикулоэндотелиальной системы. Дополнительно препараты железа исследуемым поросятам в этот период времени мы не вводили.

Повторный подъём концентрации железа отмечается у 15–30-сут. поросят и сопровождается выходом в кровь молодых и незрелых форм эритроцитов. Содержание сидероцитов у поросят этой возрастной группы достигает рекордных величин — до 5% от всех циркулирующих эритроцитов.

У поросят в этот возрастной период отмечается большое содержание в крови ядерных и эстеразоположительных эритроидных клеток с небольшим диаметром, низкой насыщенностью гемоглобином и высоким содержанием сухих веществ.

По всем изучаемым показателям форма эритрограммы приближается к нормальной. Распределение одномодально, но положение моды не совпадает с клетками предыдущих генераций.

У поросят с 90 по 120-е сут. жизни клетки, выбрасываемые в кровь, по своим морфо- и гистохимическим показателям, как правило, близки к данным половозрелых животных. Распределение показателей одномодально и близко к нормальному.

В последующие изученные нами возрастные периоды эритропоэз у поросят становится более стабильным. Появление максимумов или отдельных фракций клеток или пиков на эритрограммах не обнаруживается. Поэтому выявить появление отдельных генераций эритроцитов используемыми

нами методами исследования не представлялось возможным.

Таким образом, в течение первых восьми месяцев жизни в крови свиней выявлено не менее четырёх генераций красных кровяных клеток. Эти генерации по своим морфо- и гистохимическим показателям можно отнести к различным популяциям эритроцитов. Но в то же время говорить, что эти генерации являются переходными от фетальных эритроцитов к клеткам взрослых свиней, нельзя. Для подтверждения такого заключения мы провели регрессионный анализ изучаемых показателей от диаметра эритроцита, содержания сухих веществ и гемоглобина. Эти показатели считаются своеобразными маркерами, свидетельствующими об условиях созревания эритроцита, а после выхода его в кровяное русло они практически не изменяются в течение всего периода циркулирования в кровяном русле [2].

Характер регрессионных кривых для различных популяций клеток красной крови неодинаков: для фетальных эритроцитов регрессия положительна и линейна, у второй и третьей генераций — регрессия описывается логарифмически нормальным распределением. Четвёртая генерация эритроцитов характеризуется регрессионной зависимостью, близкой к обратно пропорциональной.

Таким образом, в ходе проведённых морфометрических и гистохимических исследований у поросят в ранние фазы постнатального онтогенеза нами было показано наличие не менее четырёх дифференцируемых генераций эритроцитов. Наиболее вероятно предположение, выдвигаемое нами, состоит в том, что эти генерации имеют различное происхождение. Они развиваются из различных линий стволовых клеток. Вполне допускается и экстремедулярное происхождение некоторых генераций.

### Литература

1. Сытько В.В. О некоторых особенностях применения теста функционального состояния эритропоэза у животных в антенатальный период // Научное обеспечение инновационного развития в ветеринарной медицине: матер. междунар. науч.-практич. конф. Троицк: УГАВМ, 2012. С. 132–138.
2. Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. Новосибирск: Наука, 1987. 242 с.
3. Сизова Н.А. и др. Динамика гемолитической резистентности эритроцитов, фракционированных в температурном градиенте. // Лабораторное дело. 1987. № 10. С. 5–10.
4. Гольдберг В.Д., Степанова Л.М., Костарева И.В. Интерференционная микроскопия в гематологии. Томск, 1983. 100 с.
5. Хейхоу Ф.Г., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. М.: Медицина, 1983. 147 с.
6. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: Медицина и физкультура, 1963. 874 с.
7. Мосягина Е.Н. и др. Кинетика форменных элементов крови. М.: Медицина, 1976. 272 с.