

**«Фундаментальные и прикладные исследования в медицине»
Франция (Париж), 14-23 октября 2014 г.**

Медицинские науки

**КОРРЕКЦИЯ ГЕМАТОКСИЧЕСКОГО
ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ
ПОМОЩИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА
К ПЕРЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ**

Нурмухамбетов А., Балабекова М.К.,
Аскарова А., Жукешева М., Тухватшин Р.Р.,
Аканов А.

*Казахский национальный медицинский университет
им. С.Д. Асфендиярова, Алматы,
e-mail: balabekovamarina@mail.ru*

Широко распространенными загрязнителями окружающей среды являются соединения тяжелых металлов, соли которых оказывают гематоксическое влияние и могут вызывать развитие гипорегенераторной анемии [1,2,3,4]. Продолжительное течение анемии, особенно на фоне воздействия тяжелых металлов, может привести к формированию хронической гипо-апластической анемии, которая представляет угрозу для жизнедеятельности. Вместе с тем, способы лечения последней до настоящего времени остаются проблематичными. Однако своевременная коррекция течения металл-индуцированной анемии позволила бы заблаговременно предупредить развитие гипо- и аплазии костного мозга. В свете вышеизложенного, поиск новых доступных и эффективных способов патогенетической терапии больных анемическим синдромом представляет огромный теоретический и практический интерес.

Целью настоящего исследования являлось изучение корригирующего влияния прерывистой гипокситерапии на гематоксическое воздействия тяжелых металлов.

Работа выполнена в рамках международного проекта «Изучение гематоксического влияния тяжелых металлов и возможности активации защитно-приспособительных механизмов организма при помощи нормо- и гипобарической гипоксии у взрослых и старых животных в сравнении» (научный руководитель проф. А.А. Аканов) при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан

Материал и методы исследования. Исследования проведены на 40 белых крысах обоего пола, массой тела 180-220 г., с учетом рекомендаций, изложенных в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях» Страсбург, 18.03.1986 г. с соблюдением всех норм и правил проведения экспериментов с участием животных (решение ЛЭК КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова протокол № 2 от 18.04.2013г.). В конце эксперимента животных забивали под хлороформным наркозом и брали кровь и отпечатки костного мозга для исследо-

вания. Все животные подразделены на 4 серии по 10 опытов: 1-серия интактные особи; 2-серия контрольная группа крыс, подверженная прерывистому гипоксическому прекодиционированию; 3-серия животные, получавшие перорально ацетат свинца (АС) (15 мг/кг м.т.) и бихромат калия (БК) (3 мг/кг м.т.); 4-серия крысы, получавшие соединения металлов и курс гипокситерапии. Соли тяжелых металлов вводили в течение 3-х недель, ежедневно. Начиная с 3-недели после начала введения солей, крыс подвергали воздействию нормобарической гипоксии в течение 21 суток с экспозицией по 1 часу ежедневно. Модель нормобарической гипоксии создавали при помощи гипоксикатора, снижающего содержание кислорода в атмосферном воздухе до 10%.

Гематологические исследования проводили на гематологическом анализаторе (Sysmex 1000i, Япония, 2010г.). Эритропоэтин (ЕРО) определяли на иммуноферментном анализаторе (TitanSunrise, Австрия) с помощью набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации эритропоэтина в сыворотке (плазме) крови ЭРИТРОПОЭТИН – ИФА – БЕСТ.

Мазки-отпечатки костного мозга окрашивали по Романовскому-Гимза. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны при помощи программы SPSS версия 16, STATISTICA, версия 7. Количественные показатели представлены в виде М(СО), Ме (25%-75%), где М – среднее значение, а Ме – медиана, 95% ДИ.

Полученные результаты. У контрольных животных сразу после трехнедельного гипоксического прекодиционирования отмечалось статистически значимое увеличение в крови общего содержания гемоглобина на 16,4%, средней концентрации гемоглобина в эритроците (МСНС) – на 11,8%. В то же время общее количество эритроцитов уменьшалось на 33% и MCV – на 13,2% ($P \leq 0,001$) (табл. 1).

Исследование ЕРО не выявило его присутствия в крови в условиях нормоксии у контрольных крыс, так как в этих условиях он определяется в очень незначительных значениях [5]. Это связано с тем, что в ответ на гипоксию синтез ЕРО индуцируется при участии железосодержащих транскрипционных гипоксия индуцибельных факторов (HIFs) [6]. В присутствии кислорода HIF-1 и HIF-2 гидроксилируются, и быстро разрушаются в протеосомах [7]. Тогда как, в крови у крыс, подвергавшихся влиянию гипоксии, медиана содержания ЕРО составляла 25,1 МЕ/л (интерквартильный размах от 24,55 до 30,65 ($P < 0,01$)). Таким образом, проведение гипоксической тренировки приводило к повышению синтеза и секреции ЕРО у животных.

Таблица 1

Показатели красной крови при гипоксическом прекондиционировании крыс

Элементы крови *	Контроль				Гипоксия				Mann- Whitney U Test
	N	Mean (SD)	95 % ДИ		N	Mean (SD)	95 % ДИ		
HGB, (g/L)	10	128,6(14,6)	116,4	140,8	10	149,7(13,6)	140,0	159,4	0,007** z=-2,710
RBC, (x10 ⁶ /μL)	10	7,7(1,0)	6,9	8,5	10	5,3(0,7)	4,8	5,8	0,0007** z=-3,376
MCV, fL	10	53,8(2,1)	52,1	55,5	10	46,7(2,8)	44,7	48,7	0,001** z=-3,288
MCHC, g/dL	10	31,2(0,6)	30,7	31,7	10	34,9(0,4)	34,6	35,2	0,0003** z=-2,754

Примечание. * – HGB (концентрация гемоглобина), RBC (общее число эритроцитов), MCV (средний объем эритроцитов в общем объеме пробы), MCHC (средняя концентрация гемоглобина в эритроците), RDW-CV (ширина распределения эритроцитов по объему); ** – по Mann-WhitneyU-Test статистическая значимость по отношению к контролю.

Под влиянием гипоксии в костном мозге площадь эритроидного ростка изменялась не существенно, хотя отмечалась тенденция к увеличению полихроматофильных нормоцитов. При этом статистически значимо уменьшались объем гранулоцитарного ростка на 16,1%, содержание миелоцитов на 33,3% и базофилов на 59,5%.

У особей, получавших АС и БК, значимо уменьшались общее содержание гемоглобина крови на 20,0%, показатель гематокрита – на 24,7%, хотя число эритроцитов изменялось не существенно, был отмечен значительный лейкоцитоз. При этом показатель ширины распределения эритроцитов по объему (RDW-CV) повышался в 2,2 раза, что указывает на развитие выраженного анизоцитоза (табл. 2). Со стороны костного мозга у животных, получавших соединения тяжелых металлов, наблюдалось уменьшение эритроидного ростка на 30,0% (p>0,05), пронобластов в 2,2 раза, полихроматофильных нормоцитов на 10,1% (p<0,021), оксифильных нормоцитов на 22,7% (p>0,05), миелокариоциты не выявлялись. Эти данные позволяют заключить, что под влиянием введенных металлов.

ЕРО в крови у опытных крыс, подвергавшихся воздействию АС и БК, также как и у интактных крыс, не выявлялся, что также может быть связано с угнетением его синтеза солями тяжелых металлов. В то же время у этих животных подверженных гипокситерапии, значение ЕРО составляло 30,1 МЕ/л. Таким образом, 3-х недельная прерывистая гипоксия у животных, получавших соединения тяжелых металлов, повышала синтез ЕРО.

Прерывистая гипокситерапия у животных, получавших АС и БК, полностью устраняла уменьшение содержания гемоглобина и оно даже превышало контрольный уровень на 20,7% (P<0.05). При этом показатель гематокрита, по сравнению с данными нелеченных животных, увеличивался на 44,7%, превышая контрольные значения на 9,0%. Показатель ширины распределения эритроцитов по объему (RDW-CV) снижался по сравнению с нелечеными животными на 45,1%, приближаясь к значению контрольного уровня. У леченных особей количество лейкоцитов не отличалось от контрольных значений (табл. 2).

Таблица 2

Показатели крови животных, получавших солей тяжелых металлов, корригированных гипокситерапией

№	Элементы крови *	Контроль М(СО)	КВ, %	Металлы М(СО)	КВ, %	Металлы + гипоксия М(СО)	КВ, %	Wilcoxon 2 – Sample Test
1	НСТ, %	41,3(5,2)	12,6	31,1(4,0)	12,9	45,0(7,9)	18,7	0,004*** Z=-2,887
2	WBC, (x10 ³ /μL)	7,9(1,1)	13,9	13,3(3,2)	24,1	6,6(2,9)	47,7	0,002*** Z=-3,079
3	HGB,(g/L)	128,6 (14,6)	54,5	103,1 (17,7)	17,2	155,9 (18,9)	11,5	0,012***
4	RBC, (x10 ⁶ /μL)	7,7(1,0)	13,0	7,0(1,2)	17,1	5,6(0,7)	12,3	0,001** Z=-3,175 0,012*** Z=-2,501
5	MCV, (fL)	53,8(2,1)	3,9	44,7 (2,3)	5,1	47,8 (3,0)	6,3	0,017***
6	MCHC, (g/dL)	31,2 (0,6)	1,9	33,0 (1,8)	5,4	33,5 (2,0)	6,0	0,012**
7	RDW-CV, %	12,6 (0,6)	4,8	27,7 (1,8)	6,5	15,0 (1,2)	8,0	0,889**

Обозначения см. табл. 1. ** – по Wilcoxon 2 – SampleTest статистическая значимость по отношению к контролю, *** – по отношению к металлу.

Со стороны костного мозга при гипокситапии, по сравнению с нелечеными опытными животными, отмечалось статистически значимое увеличение эритроидного ростка на 17,7% ($P<0.05$), полихроматофильных нормоцитов на 42,8% ($P<0.05$). При этом происходило увеличение количества лимфоцитов в 4,3 раза и эозинофилов в 5,0 раза, тогда как количество миелоцитов снижалось в 3,3 раза, сегментоядерных нейтрофилов на 35% и в целом гранулоцитарный росток оставался уменьшенным.

Обсуждение полученных результатов. Изменения со стороны «красной» крови в результате адаптации к прерывистой нормобарической гипоксии заключались в преимущественном более раннем и выраженном увеличении синтеза гемоглобина. При этом под влиянием гипоксии общее количество эритроцитов в крови у опытных крыс оставалось ниже контрольного уровня на 39,7% ($p=0,017$). Такое уменьшение количества эритроцитов в крови, очевидно, связано с тем, что прерывистый режим гипоксии (по 1 часу в рабочие дни в течение трех недель), с последующей реоксигенацией может явиться стрессорным фактором, приводящим к перекисидации липидов мембран эритроцитов. Однако стимуляцию эритропоэза следует ожидать в последующие сроки. Такое предположение основывается на том факте, что в костном мозге отмечалась явная тенденция к увеличению полихроматофильных нормоцитов, указывающая на начало стимуляции эритропоэза. Эти данные согласовываются с данными литературы. Так, Т.В. Серебровская и соавт. исследовали влияние периодических нормобарических гипоксических тренировок на гемопоэтические стволовые клетки периферической крови мужчин-добровольцев [8]. Было выявлено, что в течение недели после прекращения тренировок в периферической крови снижалось содержание гемопоэтических стволовых клеток. По мнению авторов, данный феномен связан с переходом стволовых клеток в ткани, что повышает их регенерационный потенциал. По данным Меерсон Ф.З. компенсаторные реакции при гипоксии реализуются в двух направлениях, что находится в зависимости от продолжительности гипоксического воздействия [9]. Так, при непрерывном нахождении в условиях гипоксии к концу первых суток начинается истинный эритроцитоз. В указанные сроки в костном мозге число молодых форм клеток увеличивается в 2 раза, к концу вторых суток – более чем в 3 раза. В условиях же прерывистой периодической гипоксии эти процессы развивались спустя некоторое время [9].

Результаты экспериментальных исследований показали, что у крыс, подвергавшихся воздействию солей тяжелых металлов, развивается дизэритропоэтическая, гипорегенераторная, микроцитарная анемия. На это указывало умень-

шение в крови уровня гемоглобина, снижение показателя гематокрита, значимое, по сравнению с контролем, снижение величины среднего объема эритроцитов и развитие наглядного показателя анемии – выраженного анизоцитоза, а также снижение в пунктате костного мозга эритроидного ростка, пронормобластов, полихроматофильных и оксифильных нормоцитов и исчезновение миелокариоцитов. Полученные нами данные созвучны с данными литературы [10,11]. Поскольку важным фактором патогенеза металлндуцированных анемий является подавление эритропоэза [12,13], в патогенетической коррекции таких анемий важное значение имеют стимуляторы эритропоэза.

Экспериментальные данные показали, что под влиянием гипоксической тренировки повышался синтез ЕРО, который является необходимым регулятором эритропоэза [14, 15, 16]. В настоящее время является общепризнанным то, что гипоксия активирует синтез ЕРО путем стимуляции гипоксия – индуцибельного фактора (HIF-1 alpha) [6].

Под влиянием 3-х недельной прерывистой гипокситерапии отмечалось существенное нарастание уровня гемоглобина, показателя гематокрита, статистически значимое увеличение в пунктате костного мозга площади эритроидного ростка и числа полихроматофильных нормоцитов у крыс, получавших тяжелые металлы. Так, если в периферической крови крыс, получавших АС и БК, среднее (СО) значение уровня гемоглобина составляло 103,1 (17,7), то у опытных крыс с гипокситерапией – 155,9 (18,9), что было выше на 51,4% ($p=0,012$, $z=-2,521$) уровня гемоглобина нелеченых особей. У леченных гипоксией опытных особей нивелировались явления микроцитоза и анизоцитоза.

Если у опытных животных под влиянием тяжелых металлов развивался выраженный лейкоцитоз, за счет гранулоцитов, то гипокситерапия нормализовала количество лейкоцитов до контрольного уровня. При этом в костном мозге отмечалось 4-5 кратное увеличение лимфоцитов и эозинофилов. Рядом исследователей *in vitro* показано, что гипоксия способствует жизнеспособности гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток [17,18,19]. Эти данные позволяют предположить, что гипокситерапия стимулирует, наряду с эритропоэзом, и лимфопоэз в костном мозге

Таким образом, периодическая адаптация организма к гипоксии может явиться важным патогенетическим фактором стимуляции гемопоэза при угнетении функции костного мозга, вызванным продолжительным действием солей тяжелых металлов.

Список литературы

1. Schwaetz J., Landrigan P., Baker E.L. Lead induced anemia: dose responserelation and evidence for a threshold //Am J Public Health. – 1990. – № 80. – P. 165.
2. Wright R.O., Tsaih S.W., Schwartz J., Wright R.J., Hu H. Association between iron deficiency and blood lead level in a longitudinal

analysis of children followed in an urban primary care clinic // *J Pediatr.* – 2003. – P. 142-149.

3. Silvio De Flora, Marietta Ilcheva, Roumen M. Balansky. Oral chromium(VI) does not affect the frequency of micronuclei in hematopoietic cells of adult mice and of transplacentally exposed fetuses // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* – 2006. – Vol. 610, Issues 1-2. – P. 38-47.

4. Балабекова М.К., Нурмухамбетов А.Н. Влияние комбинированного введения ванадия и хрома на высшую нервную деятельность. // Гигиена, эпидемиология и иммунобиология. – 2010 – № 1(43). С. 35-36.

5. Chikuma M., Masuda S., Kobayashi T. Tissue-specific regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain and uterus // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2000 – 279:1242-1248.

6. Fantacci M., Bianciardi P., Caretti A. Carbamylated erythropoietin ameliorates the metabolic stress induced in vivo by severe chronic hypoxia // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2006 – 103(46):17531-17536.

7. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W., Clifford S.C., Vaux E.C., Cockman M.E., Wykoff C.C., Pugh C.W., Maher E.R., Ratcliffe P.J. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. // *Nature* – 1999 – 399: 271-275.

8. Серебровская Т.В., Никольский И.С., Ишук В.А., Никольская В.В. Адаптация человека к периодической гипоксии: влияние на гемопозитические стволовые клетки и иммунную систему // *Вестник международной академии наук (русская секция).* – 2010. – № 2. – С. 12-18.

9. Меерсон Ф.З. Общий механизм адаптации и профилактики. – М.: Медицина, 1973. – 360 с.

10. Goyer R.A. Lead toxicity: current concerns // *Environ Health Perspect.* – 1993. – № 100. – P. 177-187.

11. Grandjean P., Jensen B.M., Sando S.H., Jørgensen P.J., Antonsen S. Delayed blood regeneration in lead exposure: An effect on reserve capacity. // *Am J Public Health.* – 1989. – № 79. – P. 1385-1388.

12. MaqsoodAhamed, MohdJavedAkhtar, SanjeevVermaetal. Environmental lead exposure as a risk for childhood aplastic anemia // *Bioscience Trends.* – 2011. – Vol. 5, Issue 1. – P. 38-.

13. Нурмухамбетов А.Н. Патогенетические основы техногенных поражений систем организма // *Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы патофизиологии».* – Алматы, 2008. – С. 10-19.

14. Buemi M., Cavallaro E., Floccari F. Erythropoietin and the brain: from neurodevelopment to neuroprotection // *Clinical Science* – 2002 – 103:275-282.

15. Chikuma M., Masuda S., Kobayashi T. Tissue-specific regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain and uterus // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2000 – 279: 1242-1248.

16. Takeuchi M., Takasaki S., Shimada S., Kobata A. Role of sugar chains in the in vitro biological activity of human erythropoietin produced in recombinant Chinese hamster ovary cells // *J Biol Chem.* – 1990 – 265(21):12127-12130.

17. Dame C. Erythropoietin mRNA expression in human fetal and neonatal tissue // *Blood.* – 1998 – 92:3218-25.4.

18. Marti HH. Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain // *Eur. J. Neurosci.* – 1996 – 8:666-76.

19. Marti HH. Detection of erythropoietin in human liquor: intrinsic erythropoietin production in the brain // *Kidney Int.* – 1997 – 51:416-8.

«Компьютерное моделирование в науке и технике»

ОАЭ (Дубай), 16-23 октября 2014 г.

Технические науки

КОМПЬЮТЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТИ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИХ ЭНЕРГОСИСТЕМ АПК

Беззубцева М.М., Волков В.С., Котов А.В.,
Обухов К.Н.

Санкт-Петербургский государственный аграрный
университет, Санкт-Петербург,
e-mail: mysnegana@mail.ru

В условиях инновационного развития электротехнологий, компьютеризации, автоматизации и конкуренции целесообразна кардинальная переоценка роли знаний при подготовке кадров для потребительских энергосистем (ПЭС) АПК. Научно-технологический комплекс, способный обеспечить конкурентоспособность продукции нового поколения и энергоэффективность производства, является Computer-Aided Engineering. Этапу внедрения передовых электротехнологий требуется обновление компетенций при обучении научных сотрудников, исследователей-разработчиков, инженеров и технологов, обслуживающих и проектирующих энергоэффективные ПЭС.

Модуль «Компьютерные технологии в научных исследованиях энергоэффективности потребительских энергосистем АПК» является апробированным авторским курсом по научной школе Беззубцевой М.М. «Эффективное использование энергии. Интенсификация электротехнологических процессов». Модуль органично интегрирован в общий образовательный процесс подготовки магистрантов по направлению 110800.68 – «Агроинженерия», направление подготовки «Электротехнологии и электрооборудование в сельском хозяйстве» [1, 2, 3, 4].

Учебное пособие состоит из введения, заключения и 3 глав: методы расчета магнитных систем; программный комплекс ANSYS в научных исследованиях; методология исследований инновационных электротехнологических процессов научной школы «Эффективное исследование энергии. Интенсификация электротехнологических процессов» в среде программного комплекса ANSYS. Библиографический список включает 170 наименований отечественной и зарубежной литературы. Базовые статьи по результатам исследований кратко представлены в научно-технических статьях [5, 6, 7, 8].

С методической точки зрения учебное пособие отличается логичностью, взаимосвязанностью глав, четкостью и доступностью изложения, наличием примеров, визуального материала, что способствует лучшему усвоению материала. В настоящее время отсутствует учебное пособие по данной тематике. В этой связи изданное в СПбГАУ учебное пособие является актуальным для отрасли. Содержательная часть учебного пособия соответствует Государственному образовательному стандарту третьего поколения по направлению «Агроинженерия» (направление подготовки «Электротехнологии и электрооборудование в сельском хозяйстве»).

Учебное пособие рекомендовано для магистров, инженеров и научных работников, занимающихся проблемами повышения энергоэффективности производственных процессов в ПЭС АПК.

Список литературы

1. Беззубцева М.М., Волков В.С. Интеграция науки и образования при подготовке агроинженерных кадров электротехнических специальностей // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2014. – №1, С. 50-51.

2. Беззубцева М.М. Компетентности магистрантов-агроинженеров при исследовании энергоэффективности электротехнологического оборудования // *Успехи современного естествознания.* – 2014. – № 3. С. 170.