

## СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОПОЭЗА В УСЛОВИЯХ КРОВОПОТЕРИ

**Фаршатова Е.Р., Хисамов Э.Н., Борцова Ю.Л., Галимова С.Ш.,  
Аглымова Д.В., Сelifонкина Г.З., Аляева А.Т.**

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»*

*Министерства здравоохранения Российской Федерации, Уфа, e-mail: Hisamov7958@yandex.ru*

Целью данной работы является изучение особенностей влияния антиоксидантов на сроки восстановления эритронов после острой кровопотери. Материалом исследования служила красная кровь кроликов. Исследование проводилось с двумя группами кроликов. 1 группа – одномоментная кровопотеря в размере 20 % объема циркулирующей крови (ОЦК); 2 группа – кровопотеря + витамин Е (5 % раствор 0,7–0,8 мл в/м 10 раз ежедневно). Оценка состояния эритропоэза проводилась по количеству эритроцитов, ретикулоцитов и по сдвигу ретикулоцитограммы «влево». Было установлено, что у 2 группы кроликов, которые получали дозы витамина Е, время восстановления эритронов после кровопотери сократилось на 5 сут по сравнению с кроликами 1 группы. Среднее значение количества эритроцитов в 1 группе кроликов вернулось в близкое к исходному состоянию через 15 сут после кровопотери, а во 2 группе – уже через 10 сут после кровопотери. Сокращение времени восстановления крови после кровопотери, очевидно, связано с антиоксидантным влиянием витамина Е на процесс оживления гемопоэза, в частности эритропоэза, а также на повышение резистентности эритроцитов. Активация эритропоэза проявилась особенностью динамики изменений количества ретикулоцитов и ретикулоцитограммы. Средние значения количества ретикулоцитов 2 группы животных, которые получали инъекции витамина Е, имели большее выражение, чем у 1 группы. Однако продолжительность ретикулоцитоза во 2 группе была меньше, что, вероятно, связано с сокращением срока восстановления количества эритроцитов после кровопотери. Величина коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы отражала активность ретикулоцитарной реакции в ответ на кровопотерю с большим выражением у животных, получавших инъекции витамина Е. Таким образом, витамин Е в условиях кровопотери снижает эффект «окислительного стресса», проявляя свойства как антиоксиданта и как активатора гемопоэза.

**Ключевые слова:** кровопотеря, эритропоэз, антиоксидантные свойства витамина Е

## STATE OF ERYTHROPOIESIS IN CONDITIONS OF BLOOD LOSS

**Farshatova E.R., Khisamov E.N., Bortsova Yu.L., Galimova S.Sh.,  
Aglyamova D.V., Selifonkina G.Z., Alyaeva A.T.**

*Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation,  
Ufa, e-mail: Hisamov7958@yandex.ru*

The purpose of this work is to study the characteristics of the effect of antioxidants on the recovery time of erythron after acute blood loss. The research material was the red blood of rabbits. The study was conducted with two groups of rabbits. Group 1 – immediate blood loss of 20% of the circulating blood volume (CBV); Group 2 – blood loss + vitamin E (5% solution 0.6-0.8 ml IM 10 times daily). The state of erythropoiesis was assessed by the number of erythrocytes, reticulocytes and by the shift of the reticulocytogram “to the left”. It was found that in group 2 rabbits that received doses of vitamin E, the recovery time of erythron after blood loss was reduced by 5 days compared to rabbits in group 1. The average value of the number of erythrocytes in group 1 of rabbits returned to close to the initial state 15 days after blood loss, and in group 2 – already 10 days after blood loss. The reduction in blood recovery time after blood loss is obviously due to the antioxidant effect of vitamin E, the process of revitalizing hematopoiesis, in particular, erythropoiesis, as well as increasing the resistance of erythrocytes. Activation of erythropoiesis was manifested by the peculiarity of the dynamics of changes in the number of reticulocytes and the reticulocytogram. The average values of the number of reticulocytes in group 2 of animals that received vitamin E injections were higher than those in group 1. However, the duration of reticulocytosis in group 2 was shorter, which is probably due to a reduction in the period of recovery of the number of erythrocytes after blood loss. The value of the shift coefficient “to the left” of the reticulocytogram reflected the activity of the reticulocyte reaction in response to blood loss with greater expression in animals receiving injections of vitamin E. Thus, vitamin E in conditions of blood loss reduces the effect of “oxidative stress”, exhibiting properties as an antioxidant and as an activator of hematopoiesis.

**Keywords:** blood loss, erythropoiesis, antioxidant properties of vitamin E

Изучение медицинских аспектов кровопотери связано с широким распространением данной патологии как в форме наружного кровотечения, так и внутреннего кровоизлияния. Актуальность исследований по кровопотере также поддерживается и в связи с травмами во время боевых действий. В механизме расстройств в организме при кровопотере присутствует ги-

поволения, которая осложняет деятельность ряда жизненно важных систем, таких как кровообращение, состояние крови и адаптивные возможности регуляторных и барьерных структур [1, 2]. Смешанная гипоксия организма одновременно инициирует срочную адаптацию, в частности активацию симпатoadренальной и гемопoэтической систем [3, с. 35–40]. В условиях

гипоксемии наступают отклонения и в сфере видов окислительно-восстановительного процесса. При этом происходит усиление свободнорадикального окисления и, соответственно, подавление окислительного фосфорилирования со снижением синтеза АТФ. В этих условиях появляется необходимость использования антиоксидантов [4].

Исходя из этого, целью данной работы является изучение особенностей влияния антиоксидантов на сроки восстановления эритронов после острой кровопотери.

### Материалы и методы исследования

Экспериментальная модель была создана в виде состояния острой кровопотери. В качестве материала для исследования были выбраны взрослые кролики, самцы породы шиншилла массой тела 3,5–4,0 кг, в количестве 20 особей. Кровопускание производилось одномоментно без обезболивания из краевой вены уха в размере 20% от объема циркулирующей крови (ОЦК). ОЦК определялся из расчета 6% от массы тела. Исследование проводилось в исходном состоянии животных, далее через 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15 сут после кровопотери. Работа велась в двух группах кроликов по 10 особей. В первой группе проводилось кровопускание, во второй группе при условиях кровопотери производились в/м инъекции 5% масляного раствора витамина Е (альфа-токоферола ацетата) ежедневно из расчета 10 мг/кг в течение 10 сут. Первая инъекция производилась через 12 ч после момента кровопускания. Если масса кролика составляла 4 кг, то объем вводимого раствора составлял 0,8 мл.

Во время эксперимента и после него состояние кроликов было удовлетворительное, случаев гибели не было. Изучение состояния эритропоза проводилось по трем параметрам:

1. Определение количества эритроцитов по данным гематологического анализатора.

2. Подсчет количества ретикулоцитов в мазке крови при окрашивании суправитально методом Сейфарза путем выявления зернисто-сетчатой субстанции при окраске бриллиантовым крезильным синим из расчета на 1000 эритроцитов [5, с. 70].

3. Определение ретикулоцитограммы с установлением коэффициента сдвига «влево».

Коэффициент сдвига «влево» определялся отношением суммы процентного содержания венчикообразных, глыбчатых, полносетчатых и неполносетчатых форм на процент пылевидных ретикулоцитов [5, с. 70].

Полученные в процессе работы цифровые результаты были проанализированы методами математической статистики.

Для установления достоверности различий был использован непараметрический критерий Вилкоксона для сопряженных распределений пар, когда одно и то же животное является контролем (исходное состояние) и экспериментальным (в процессе опыта) [6, с. 34, 35]. Вычисление проводится по формуле

$$S = \Sigma d^2 - \Sigma d/n;$$

$$Sd = \sqrt{S / (n-1)};$$

$$t_d = d / Sd.$$

$$(h-0,2 \cdot S = 0,04-0,2 = 0,16.$$

$$Sd = \sqrt{0,16 / 9 = 0,044.$$

$$t_d = 0,2 / 0,044 = 4,48. 4,48 > 2,3).$$

где d – разность между средними показателями (M) исходного состояния и определенного срока после кровопотери. Если  $t_d > t_{st}$ , то при P = 0,05 (по таблице), разница получается достоверно.

Экспериментальное исследование было проведено с соблюдением основных принципов биоэтики, морально-этических принципов проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированных локальным этическим комитетом БГМУ (председатель А.Г. Хасанов).

### Результаты исследования и их обсуждение

Задачей исследования было установление характера эритропоза в динамике острой постгеморрагической анемии при введении внутримышечно витамина Е. В условиях среднего размера кровопотери у кроликов в целом состояние эритрона соответствовало общеизвестным стадиям. В первой сосудисто-рефлекторной стадии количественный и качественный состав эритроцитов в конкретном объеме крови остается в пределах исходного уровня [3, с. 39]. Это так называемая «скрытая анемия». Во второй, гидремической стадии после кровопотери наступает разжижение, «разбавление» циркулирующей крови, связанное с поступлением в кровоток тканевой жидкости и депонированной крови. Несмотря на повышенное содержание эритроцитов в местах депонирования по отношению к плазме, депонированная кровь не в состоянии полностью компенсировать размеры потери крови. Поэтому в этой стадии наступает уже выраженная эритроцитопения. Так, в наших опытах у 1 группы кроликов была зарегистрирована вполне заметная разница в количестве эритроцитов между исходным уровнем и через 1 сут после кровопотери (табл. 1).

Таблица 1

Количественные показатели эритрона после кровопотери  
( $M \pm d$ , \* -  $td > t_{st}$  при  $p = 0,05$ , сравнение с исходным уровнем)

Сроки исследования	Количество эритроцитов ( $\times 10^{12}/л$ ) – после кровопотери $M \pm d$	Количество ретикулоцитов (%) – после кровопотери $M \pm d$	Количество эритроцитов ( $\times 10^{12}/л$ ) – кровопотеря + вит Е $M \pm d$	Количество ретикулоцитов (%) – кровопотеря + вит. Е $M \pm d$
Исходный уровень	4,76	2,78	4,51	2,81
Через 1 сут	3,51 $\pm$ 0,125*	1,71 $\pm$ 0,107*	3,41 $\pm$ 0,110	1,32 $\pm$ 0,149*
Через 3 сут	3,14 $\pm$ 0,163*	3,42 $\pm$ 0,64*	3,39 $\pm$ 0,112*	3,71 $\pm$ 0,090*
Через 5 сут	3,36 $\pm$ 0,140*	3,81 $\pm$ 0,103*	3,82 $\pm$ 0,69*	4,13 $\pm$ 0,132*
Через 7 сут	3,87 $\pm$ 0,089*	4,51 $\pm$ 0,073*	4,10 $\pm$ 0,041*	4,77 $\pm$ 0,196*
Через 10 сут	3,91 $\pm$ 0,085*	3,78 $\pm$ 0,100*	4,22 $\pm$ 0,029	4,43 $\pm$ 0,162*
Через 12 сут	4,18 $\pm$ 0,058*	3,26 $\pm$ 0,048*	4,41 $\pm$ 0,010	3,56 $\pm$ 0,075*
Через 15 сут	4,27 $\pm$ 0,049	3,21 $\pm$ 0,043*	4,71 $\pm$ 0,020	2,77 $\pm$ 0,040

Через 3 сут после кровопотери наблюдалось дальнейшее снижение количества эритроцитов, в механизме которого, очевидно, присутствовал, кроме разжижения крови тканевой жидкостью, и фактор эритродиэреза, обусловленной функциональным напряжением в условиях гипоксемии. По истечении 5 сут после кровопотери была отмечена некоторая тенденция восстановления состояния эритрона, увеличение количества эритроцитов по сравнению с предыдущим сроком исследования. Эти изменения, очевидно, обусловлены активацией юктагломерулярного комплекса почек (ЮГК) и, соответственно, повышением содержания в организме эритропоэтина, а также под влиянием продуктов усиленного апоптоза клеток красной крови. Полученные в этот срок исследования сдвиги со стороны количества эритроцитов, вероятно, отражают наступление костномозговой стадии постгеморрагической анемии. В последующие сроки после кровопотери – через 7, 10, 12 сут отмечалось относительное повышение количества эритроцитов. Только через 15 сут кровопотери полученная разница среднего количества эритроцитов при сравнении с исходным уровнем носила недостоверный характер. Следовательно, восстановление количества эритроцитов происходило не раньше, чем 15 сут после кровопускания.

По ходу выполнения планируемой работы параллельно велось исследование состояния красной крови кроликов 2 группы, то есть при введении витамина Е в условиях кровопотери.

Наблюдение за динамикой изменений количества эритроцитов в этой группе кро-

ликов выявило заметное отличие по сравнению по этим же параметрам животных 1 группы. Так, восстановление среднего значения количества эритроцитов при введении витамина Е в условиях кровопотери происходило значительно быстрее. Положительные сдвиги особенно были заметны через 3 сут после кровопускания. Уже через 10 сут после кровопотери разница в среднем значении количества эритроцитов по сравнению с таковыми исходного уровня не имела достоверного характера. Следовательно, восстановление количества эритроцитов у анемизированных животных при введении витамина Е происходило значительно раньше.

Изучение состояния эритропоэза в условиях кровопотери по содержанию ретикулоцитов в периферической крови животных одновременно 1 и 2 групп позволило установить определенную разницу изучаемого процесса, связанную с инъекциями витамина Е (табл. 1). Сдвиги среднего количества ретикулоцитов у животных 1 группы в период после кровопотери носили волнообразный характер. Так, через 1 сут после кровопотери наблюдалось значительное снижение количества ретикулоцитов по сравнению с исходным уровнем. В последующие сроки отмечалось повышение среднего значения данного показателя. Однако через 10 сут после кровопотери наблюдалась тенденция снижения содержания ретикулоцитов. В последующие сроки исследования – через 12 и 15 сут после кровопотери отмечалось постепенное снижение данного показателя. В то же время, несмотря на эти сдвиги, количество ретикулоцитов оказалось выше исходного уровня.

Таблица 2

Показатели коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы и количества пылевидных ретикулоцитов после кровопотери ( $M \pm d$ , \* -  $td > tst\ npu\ p = 0,05$ , сравнение с исходным уровнем)

Сроки исследования	Количество пылевидных ретикулоцитов (%) после кровопотери $M \pm d$	Величина коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы после кровопотери (ед.)	Количество пылевидных ретикулоцитов (%) – кровопотеря + вит. Е $M \pm d$	Величина коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы – кровопотеря + вит. Е (ед.)
Исходный уровень	65,7	0,52	66,1	0,51
Через 1 сут	73,3 $\pm$ 7,6*	0,58	74,4 $\pm$ 8,3*	0,34
Через 3 сут	66,4 $\pm$ 0,7	0,50	63,5 $\pm$ 2,6*	0,57
Через 5 сут	61,2 $\pm$ 4,5*	0,63	58,1 $\pm$ 8,0*	0,72
Через 7 сут	43,4 $\pm$ 22,3*	1,3	47,7 $\pm$ 18,4*	1,09
Через 10 сут	52,3 $\pm$ 13,4*	0,91	59,7 $\pm$ 6,4*	0,67
Через 12 сут	58,4 $\pm$ 7,3*	0,71	63,1 $\pm$ 3,0*	0,58
Через 15 сут	62,1 $\pm$ 3,6*	0,61	65,9 $\pm$ 0,2	0,51

У животных 2 группы, которые получали витамин Е после кровопотери, изменения содержания ретикулоцитов имели несколько другой характер. Продолжительность сдвигов после кровопотери сократилась. Уже на 15 сут наблюдалось восстановление исходного уровня. В то же время количественные показатели ретикулоцитов при введении витамина Е оказались выше, чем у животных 1 группы. Следовательно, активность ретикулоцитарной реакции при введении витамина Е была выше, но несколько кратковременной.

В процессе работы параллельно была изучена и ретикулоцитограмма у животных первой и второй групп (табл. 2).

Ретикулоцитограмма (ретикулоцитарная формула) включает процентное содержание следующих форм ретикулоцитов по степени дифференциации.

1. Венчиковидные ретикулоциты имеют округлую зернистую структуру в виде круга, венца.

2. Глыбковидные ретикулоциты характеризуются зернистой структурой, похожей на клубок.

3. Полносетчатые ретикулоциты имеют зернистость, похожую на густую смесь зернисто-нитчатых структур.

4. Неполносетчатые ретикулоциты – зернисто-сетчатая структура в виде отдельных нитей.

5. Пылевидные ретикулоциты включают мелкозернистую структуру в гиалоплазме в форме пылинки.

В динамике изменений количества пылевидных ретикулоцитов после кровопоте-

ри у кроликов 1 группы отмечался волнообразный характер. Через 1 сут после кровопотери наблюдалось повышение среднего значения процентного содержания пылевидных форм по сравнению с исходным уровнем. Через 3 сут после кровопотери количество пылевидных ретикулоцитов было на исходном уровне. В последующие дни отмечалось снижение данного показателя. На 15 сут после кровопотери среднее значение содержания пылевидных ретикулоцитов еще оставалось ниже исходного уровня.

Изучение изменений со стороны пылевидных ретикулоцитов 2 группы животных, которые получали витамин Е, выявило также волнообразный характер имеющихся сдвигов. Через 1 сут после кровопотери происходило увеличение процентного содержания пылевидных форм, а в последующие сроки наблюдалось снижение данного показателя. Однако, в отличие от 1 группы кроликов, на 15 сут после кровопотери наблюдалось восстановление среднего значения процентного содержания пылевидных ретикулоцитов до исходного уровня. Следовательно, продолжительность времени изменений количества пылевидных ретикулоцитов после кровопотери при получении витамина Е сократилась по сравнению с таковыми данными кроликов 1 группы.

Изменения со стороны величины коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы после кровопотери 1 и 2 групп кроликов также носили волнообразный характер. Однако в количественном значении показатели пылевидных ретикулоцитов по сравнению с величиной коэффициента

сдвига «влево» имели противоположное направление. Данное состояние показателей объясняется формулой вычисления коэффициента сдвига «влево» ретикулоцитограммы: чем больше количества ретикулоцитов 1, 2, 3, 4 форм, тем выше значение показателя сдвига «влево». В обеих группах через 3 ч наблюдалось снижение данного показателя, а далее повышение с тенденцией восстановления до исходного уровня. Через 15 сут после кровопотери величина коэффициента сдвига ретикулоцитограммы «влево» в 1 группе еще не достигла исходного уровня, а во 2 группе этот показатель находился в пределах исходного состояния.

### Заключение

В проблеме кровопотери основной задачей остается восстановление кровотока в насколько возможно короткие сроки. Для этого должен быть подход с учетом особенностей механизма гемопоза в условиях различных фаз протекания постгеморрагической анемии. Уже во время сосудисто-рефлекторной фазы, то есть «скрытой анемии», целесообразно поддержание эритропоза и снижение процесса эритролизиса. В условиях гемической гипоксии страдает красный костный мозг, а также усиливается апоптоз эритроцитов под влиянием функционального напряжения. Гипоксическое состояние, обусловленное кровопотерей, сопровождается усилением перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое распространяется и на эритроциты. Кроме того, приходится учитывать особенности окислительно-восстановительного процесса в условиях гипоксии, когда меняется баланс между процессами окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ) и свободнорадикального окисления с преобладанием последнего. При этом параллельно снижается и активность антиокислительной системы.

С учетом приведенных выше понятий в данной работе уже через 12 ч после кровопотери были организованы инъекции витамина Е кроликам 2 группы. Было установлено, что в этой группе животных восстановление исходного состояния красной крови происходило раньше, чем в 1 группе животных. Сокращение периода восстановления оценивалось по показателям количества как эритроцитов, так и ретикулоцитов. Сокращение времени восстановления крови после кровопотери, очевидно, связано с антиоксидантным влиянием витамина Е на процесс оживления гемопоза, в частности эритропоза, а также на повышение резистентности эритроцитов. При использовании витамина Е ретикулоцитарная реакция была более активной и менее продолжительной. Активность, очевидно, была связана с некоторым подавлением свободнорадикального окисления в пользу окислительного фосфорилирования. Менее продолжительный сдвиг «влево» ретикулоцитограммы, вероятно, обусловлен относительно более ранним восстановлением количества эритроцитов.

### Список литературы

1. Гакаев Д.А. Патологические изменения в организме при острой кровопотере // Медицина и здравоохранение: материалы IV Междунар. науч. конф. (Казань, май 2016 г.). Казань: Бук, 2016. С. 37–40.
2. Пшениснов К.В., Александрович Ю.С. Массивная кровопотеря в педиатрической практике // Гематология и трансфузиология. 2020. № 65 (1). С. 70–86. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-70-86.
3. Новицкий В.В., Гольберг Е.Д., Уразова О.И. Патология: учебник. Т. 2. 4-е изд., перераб. и доп. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2012. С. 35–40.
4. Саидов Д.С. Оценка состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности крови у больных с язвенным гастродуоденальным кровотечением // Здравоохранение Таджикистана. 2019. № 1. С. 43–50.
5. Полозюк О.Н., Ушакова Т.М. Гематология: учебное пособие. Персиановский: Донской ГАУ, 2019. 159 с.
6. Зверев А.А., Зефирова Т.Л. Статистические методы в биологии: учебно-методическое пособие. Казань: КФУ, 2013. 42 с.