

УДК 612.419+612.83:611-08

© Колектив авторів, 2012.

## ЗМІНИ КАРТИНИ КРОВІ ПІД ВПЛИВОМ КСЕНОГЕННОЇ СПИННОМОЗКОВОЇ РІДИНИ

Л.Р. Шаймарданова, Н.О. Новосельська, Н.В. Кірсанова, О.Я. Ярова, Т.Л. Свербілова

Кафедра нормальної анатомії людини (зав.каф. – проф. Пикалюк В.С.)

ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського», м. Сімферополь

### BLOOD CHANGES AFTER THE XENOGENOUS CEREBROSPINAL FLUID EXPOSURE

L.R. Shaymardanova, N.A. Novoselskaya, N.V. Kirsanova, O.Ya. Yarovaya, T.L. Sverbilova

#### SUMMARY

The research is devoted to the study of remote blood reaction to the infusion of xenogenous cerebrospinal fluid (XCSF) which is considered a possible matter for the production of adaptogen of biological origin. The obtained results have revealed that XCSF infusions mainly have caused the increase of erythrocytes amount and stimulation of neutrophils differentiation. Regardless of the number of XCSF infusions, all series of experiment have shown absence of leftside shift of leucocytes formula, absence of the increases of eosinophils over the normal value, no blast forms in blood. Blood cells morphology in experimental groups did not differ from cells of control groups, the pathologic increments and toxic grains of neutrophils were absent. The results allow to consider the possibility for XCSF application for erythro— and myelopoiesis stimulation.

### ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ КРОВИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

Л.Р. Шаймарданова, Н.А. Новосельская, Н.В. Кирсанова, О.Я. Яровая, Т.Л. Свербилова

#### РЕЗЮМЕ

Исследование посвящено изучению отдаленной реакции крови на введение ксеногенной спинномозговой жидкости (КСМЖ), которая рассматривается как возможный субстрат для производства адаптогена биологического происхождения. Полученные результаты показывают, что введение КСМЖ преимущественно вызывает увеличение количества эритроцитов и стимуляцию созревания нейтрофилов. Независимо от кратности введения КСМЖ, ни в одной серии эксперимента не отмечалось сдвига лейкоцитарной формулы влево, увеличения количества эозинофилов выше нормы, присутствия бластных форм в крови. Морфология клеток опытных групп не отличалась от крови контрольных групп, отсутствовали патологические включения и токсигенная зернистость нейтрофилов. Полученные данные позволяют рассматривать вопрос о применении КСМЖ для стимуляции эритро- и миелопоэза.

**Ключові слова:** спинномозкова рідина, експериментальна анатомія.

Вже на протязі століття увагу дослідників привертає спинномозкова рідина (СМР), яка є цінним біологічним середовищем нервової системи і володіє унікальними імунобіологічними властивостями [4,10]. Першочергово вивчались зміст і біологічні властивості аллогенної СМР, інфузії якої доводили її високу ефективність при корекції різних патологічних станів; в подальшому стали використовувати і ксеногенну СМР [1], переважно від великої рогатої худоби, як найбільш близьку за змістом до СМР людини [6]. В дослідках було доведено відсутність тератогенних, ембріотоксичних властивостей КСМР, а також імуннопатологічних реакцій після введення КСМР [7,8,9]. Доклінічні досліді з вивчення властивостей ксеногенної спинномозкової рідини (КСМР), яка розглядається як можлива сировина для виробництва нового імунобіологічного препарату здійснюються в Кримському державному медичному університеті ім. С.І.Георгієвського на базі кафедри нормальної анатомії людини [3]. № держреєстрації 0108U002090.

Метою даної частини досліді є визначення віддалених змін крові під впливом КСМР.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Спинномозкову рідину отримували субокципітальною пункцією від лактуючих корів в стерильну напівзакриту систему за методом [5], проводили крізь бактеріальні фільтри «Мілліпор» і запаювали в ампули. Для досліді були відібрані білі пацюки лінії Вістар жіночої і чоловічої статі 4 вікових категорій: новонароджені, нестатевозрілі (інфантильні), статевозрілі (молодий репродуктивний вік) і тварини похилого віку, позначені римськими цифрами I, II, III, IV відповідно. КСМР вводили одноразово, трьохразово і десятиразово з інтервалом два дні. В кожній серії досліді зміни показників піддослідних тварин порівнювали з результатами контрольних тварин тієї ж статі, віку, маси. Матеріал для досліді – кров, на сьому і тридцять добу брали в відальєвську пробірку з 5% цитратом натрію, на чверть розбавляючи кров. Підрахунок еритроцитів у крові проводили в камері Горяєва. Для підрахунку лейкоцитарної формули готували серію

мазків на склі, і після висихання фіксували в етиловому спирті на протязі 10 хвилин. Зафарбовували за Романовським-Гимза і підраховували відсоткове відношення лейкоцитів за допомогою клавішного лічильника.

Для вивчення кількісних змін клітин крові, в даному досліді вирішили обмежитися оцінкою окремих гематологічних показників (кількість еритроцитів і лейкоцитарної формули) піддослідних пацюків в порівнянні з контрольними, поскільки авторами [11] раніш були вивчені гемоглобін, гематокрит, показники згортаючої системи крові, а також біохімічні показники після застосування КСМР. У праці визначали не тільки кількісні зміни білої і червоної крові, а й морфологію клітин.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У пацюків контрольних груп еритроцити значно більші ( 5,7 - 7,0  $\mu$ , в середньому 6,2  $\mu$  у діаметрі). Доволі часто поліхроматофіли (до 5 % у дорослих тварин). Ядра еозинофілів і поліморфноядерних нейтрофілів частіш кільцевої форми. Еозинофільні гранули дрібні, округлі, густо заповнюють цитоплазму. Зернистість спеціальних гранулоцитів доволі дрібна, частіш пілоподібна, за якою не проглядається цитоплазма.

В піддослідних групах не відмітили морфологічних змін картини крові в жодній із вікових категорій незалежно від кількості разів введення. Форма і розмір клітин без змін, видимі патологічні включення були відсутні. Кількісні зміни після введення КСМР приведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Окремі показники гемограми в досліді (M+m; n=6) \*P&lt;0,05

серія	Еритроц. $\times 10^{12}/л$	п/я %	с/я %	еозино- філи, %	лімфо- цити, %	моно- цити, %
к7-I	2,60 $\pm$ 0,04	3,80 $\pm$ 0,97	33,20 $\pm$ 1,46	0,80 $\pm$ 0,20	54,00 $\pm$ 1,90	8,40 $\pm$ 0,68
е7-I	2,53 $\pm$ 0,03	2,67 $\pm$ 0,54*	38,30 $\pm$ 1,69*	1,83 $\pm$ 0,82*	52,67 $\pm$ 3,77*	8,67 $\pm$ 0,78
к30-I	5,73 $\pm$ 0,05	3,50 $\pm$ 0,24	30,83 $\pm$ 1,40	0,83 $\pm$ 0,34	54,67 $\pm$ 0,88	9,17 $\pm$ 0,72
е30-I	5,67 $\pm$ 0,14	3,33 $\pm$ 0,23	27,83 $\pm$ 0,77*	0,50 $\pm$ 0,24	53,17 $\pm$ 1,99*	8,67 $\pm$ 0,23
к7-II	5,80 $\pm$ 0	3,00 $\pm$ 0	43,80 $\pm$ 1,56	0,60 $\pm$ 0,24	50,60 $\pm$ 2,36	10,40 $\pm$ 0,68
е7-II	6,10 $\pm$ 0,08*	3,20 $\pm$ 0,49	33,00 $\pm$ 3,61*	0,80 $\pm$ 0,37	55,20 $\pm$ 3,50*	7,80 $\pm$ 0,49*
к30-II	6,47 $\pm$ 0,03	2,40 $\pm$ 0,24	38,40 $\pm$ 3,08	1,60 $\pm$ 0,4	49,20 $\pm$ 2,52	8,20 $\pm$ 1,07
е30-II	6,77 $\pm$ 0,07	3,00 $\pm$ 0,32	41,60 $\pm$ 1,63*	0*	44,60 $\pm$ 1,69*	10,4 $\pm$ 0,51*
к7-III	7,57 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,44	22,17 $\pm$ 2,64	1,67 $\pm$ 0,61	59,83 $\pm$ 9,81	4,67 $\pm$ 1,12
е7-III	7,80 $\pm$ 0,08	1,50 $\pm$ 0,88	30,17 $\pm$ 4,94*	2,17 $\pm$ 0,82	62,5 $\pm$ 5,27*	3,83 $\pm$ 0,52
к30-III	7,67 $\pm$ 0,05	1,00 $\pm$ 0,4	25,00 $\pm$ 2,04	1,67 $\pm$ 0,54	59,67 $\pm$ 2,87	6,00 $\pm$ 0,63
е30-III	8,10 $\pm$ 0,09*	1,00 $\pm$ 0	29,00 $\pm$ 2,07*	0,60 $\pm$ 0,24*	62,40 $\pm$ 2,69*	6,60 $\pm$ 0,51
к7-IV	7,00 $\pm$ 0,04	4,83 $\pm$ 0,34	31,00 $\pm$ 5,11	1,67 $\pm$ 0,23	38,33 $\pm$ 5,83	7,67 $\pm$ 0,78
е7-IV	7,67 $\pm$ 0,26	2,67 $\pm$ 0,23*	35,83 $\pm$ 5,18*	0,33 $\pm$ 0,23*	51,83 $\pm$ 5,23*	9,00 $\pm$ 0,40*
к30-IV	7,50 $\pm$ 0,26	1,60 $\pm$ 0,4	29,40 $\pm$ 1,81	2,00 $\pm$ 0,32	57,40 $\pm$ 1,94	8,60 $\pm$ 0,24
е30-IV	8,73 $\pm$ 0,09	1,33 $\pm$ 0,23	41,67 $\pm$ 5,75*	2,0 $\pm$ 0,85	49,50 $\pm$ 4,80*	9,00 $\pm$ 1,47

У тварин I групи одноразове введення КСМР через 7 діб досліду викликало незначні угнітіння кількості еритроцитів з  $2,60 \times 10^{12}/\text{л}$  (в контролі) до  $2,53 \times 10^{12}/\text{л}$  у піддослідній групі, яке прослідковувалось і на 30 добу спостереження -  $5,67 \times 10^{12}/\text{л}$  в порівнянні з  $5,73 \times 10^{12}/\text{л}$ . У цій же групі через 7 діб спостерігалось зменшення відсоткового вмісту палочкоядерних нейтрофілів і лімфоцитів у порівнянні з контролем на 1,13% та 1,13% відповідно. Водночас, збільшився відсотковий вміст сегментоядерних - на 5,1%, еозинофілів на 1,03%, моноцитів - на 0,27%. На 30 добу досліду відмітили угнітіння всіх показників крові піддослідних тварин: еритроцитів - на 0,06%, палочкоядерних - на 0,17%, сегментоядерних - на 3,0%, еозинофілів - на 0,33%, лімфоцитів - на 1,5%, а моноцитів - на 0,5%. Таким чином, найбільш виражено угнітіння кількості сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів. Водночас пониження цих показників може зустрічатися, з даних літератури, як реакція у відповідь на введення АКТГ, який, без сумніву, присутній у змісті КСМР.

У II групі тварин після трьохразового введення КСМР значно зменшилася відсоткова кількість сегментоядерних нейтрофілів і моноцитів на 11,8% та 2,6%, відповідно. Разом з тим збільшилася кількість лімфоцитів - на 4,6%. Незначне збільшення інших показників не було достовірним. В результаті десятиразового введення КСМР, на 30 добу досліду, в картині крові достовірно збільшилася кількість сегментоядерних на 3,2%, моноцитів на 2,2%, і зменшився відсотковий вміст еозинофілів - на 1,6%, лімфоцитів - на 4,6%.

У III групі тварин найбільші відмінності в групі контролю і досліду виявилися за вмістом сегментоядерних нейтрофілів. Після трьохразового введення КСМР відсотковий вміст сегментоядерних був на 8,0% вищий, ніж в контролі. Кількість лімфоцитів збільшилася на 2,67% в порівнянні з контролем. Інші показники збільшилися незначно. Десятиразове введення КСМР на 30 добу досліду відобразилося на збільшенні показників сегментоядерних - на 4%, лімфоцитів - на 2,73%.

У IV групі трьохразове введення КСМР на 7 добу досліду викликало слідуєчі зміни: максимальне збільшення лімфоцитів на 5,57%, а сегментоядерних - на 4,83% в порівнянні з контролем. Разом з тим зменшилася кількість палочкоядерних - на 2,16% від контрольного значення. При десятиразовому введенні КСМР на 30 добу досліду значно збільшився відсотковий вміст сегментоядерних - на 12,27% і зменшилася кількість лімфоцитів - на 7,9% в порівнянні з контролем. Інші показники зазнали незначних змін.

#### ВИСНОВКИ

Отриманні результати доводять, що введення КСМР переважно викликає стимуляцію зрілості нейтрофілів, що виражається у збільшенні кількості сегментоядерних форм. Збільшення кількості еритроцитів у досліді було менш значним, ніж очікувалося,

звертаючи увагу на данні з літературних джерел, що, імовірно, було пов'язано з початково здоровими тваринами, відібраних для введення КСМР. При порівнянні гемограми піддослідних тварин не тільки з гемограмою контрольних, а й з нормою за даними літератури, нами було встановлено, що незалежно від разовості введення КСМР у кров тварин I-IV груп не має ознак реакцій запалення (збільшення лімфоцитів більше норми 59-88%, лейкоцитів, збільшення палочкоядерних і зменшення сегментоядерних нейтрофілів, тобто зрушень лейкоцитарної формули вліво). Також благоприємним фактором стала відсутність токсичної зернистості нейтрофілів у всіх дослідах. З дослідження зрозуміло, що ні в одній із серій тварин, ні при трьохразовому, ні при десятиразовому введенні КСМР, не спостерігається збільшення кількості еозинофілів більше норми (0-5%), що говорить про відсутність антигенного навантаження. Відсутність бластних форм у картині крові на 7 і 30 добу досліду свідчить про стан гематомедулярного бар'єру і є благоприємним прогнозуванням ознак для розгляду питання про можливість введення КСМР при визначених патологіях.

Таким чином, перспектива подальших досліджень знаходиться в сфері можливого застосування КСМР для стимуляції еритро- та мієлопоєза.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Ажипа Я.И. Влияние цереброспинальной жидкости различного видового происхождения на трофическое и функциональное состояние органов и тканей и функциональное состояние и физиологическая активность цереброспинальной жидкости при нарушении трофической функции нервной системы / Я.И. Ажипа, В. Топало // Физиология человека. — 1986. — Т. 12, № 4. — С. 531–552.
2. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. - Изд. «ГЭОТАР-Медиа», 2007. - 798 с.
3. Ликвор как гуморальная среда организма./ В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, В.В. Ткач, и др. // ИТ «Ариал». - Симферополь, 2010. - 192 с.
4. Макаров А.Ю. Роль ликвора в нейрогуморальной регуляции физиологических функций.// Успехи физиологических наук. -1978. - Т. 9, № 4. - С.82-96.
5. Патент 62850А, Україна. Спосіб одержання цільного лікворного препарату: Патент 62850А, Україна, 7А61К35/24, А61К35/12. В.В. Ткач, Ф.В. Адамень, В.В. Лисенко и др. Опубл. 15.12.2003, Бюл. № 12. - 3 с.
6. Ткач В.В. Нормальный химический состав и содержание некоторых биологически активных веществ в цереброспинальной жидкости крупного рогатого скота / В.В. Ткач, В.В. Ткач(мл), В.В. Киселев //Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2004. - №3. - С.61.
7. Ткач В.В. Определение тератогенных и эмбриотоксических свойств биопрепарата "Ликворин" / В.В. Ткач, А.В. Кубышкин, В.В. Ткач (мл.) //Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения:

сб. тр. Крым. мед. ун-та. — Симферополь, 1998. — Т. 134. — С. 89–95.

8. Ткач В.В.(мл.). Влияние ксеногенной спинномозговой жидкости на клеточный иммунитет в эксперименте/ В.В.(Ткач мл.), В.В. Ткач, М.А. Кривенцов //Клінічна анатомія та оперативна хірургія.- 2006.- Т. 5, №2.- С.61-62

9. Ткач В.В.(мл.). Влияние ксеногенной спинномозговой жидкости на реакции гуморального иммунитета/

В.В. Ткач(мл.), В.В. Ткач, М.А. Кривенцов //Клінічна анатомія та оперативна хірургія.- 2006.-Т. 5, №2.- С.62.

10.Фридман А.П. Основы ликворологии.// Изд. «Медицина», Л.; 1971.- 647 с.

11.Шульгин Г.Т. Влияние ксеногенной спинномозговой жидкости на течение восстановительного периода после острой кровопотери.- Автореферат дисс. на соиск. уч. степ.канд.мед.наук.-Москва.-1983.