



## ВЕТЕРИНАРИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО

УДК 619:612.1:616

Д.В. Гармаева, Л.С. Васильева,  
Ч.Б. Кушеев, В.О. Саловаров

### СОСТОЯНИЕ АГРАНУЛОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И АГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ У СТРЕССИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ С ГИПОТИРЕОЗОМ

*Результаты исследований, представленные в статье, показывают, что у животных с гипотиреозом после иммобилизации в стадии тревоги активируется фагоцитарная активность моноцитов/макрофагов, проявляется кратковременная лимфопения, которая сопровождается лимфатизацией красного костного мозга и частичным сохранением депрессии периферического лимфопоэза.*

**Ключевые слова:** гипотиреоз, стресс, агранулоцитопоэз, моноциты, лимфоциты, селезенка.

D.V. Garmayev, L.S. Vasilyeva,  
Ch.B. Kusheev, V.O. Salovarov

### AGRANULOCYTE STATE IN PERIPHERAL BLOOD AND AGRANULOCYTOPOIESIS OF STRESSED ANIMALS WITH HYPOTERIOSIS

*The results of researches presented in article, show that at animals with a hypothyroidism after an immobilization in a stage of alarm fagotsitarny activity of monocytes/macrophages is activated, the short-term limfopeniya which is accompanied by a limfatization of red marrow and partial preservation of a depression peripheral лимфопоэза is shown.*

**Key words:** hypothyroidism, stress, agranulocytopoiesis, monocytes, lymphocytes, spleen.

**Введение.** Недостаточное содержание йода в биосфере приводит к развитию эндемического зоба. В эндемичных по зобу регионах, к числу которых относится Восточная Сибирь, частота различных форм этой патологии нередко превышает 50 % [1, 4, 6]. Дефицит йода в организме возникает не только в результате его недостатка в пище и воде, но и при повышенной его потере с мочой. Вследствие этого наблюдается отрицательный баланс йода в организме, который необходим ему для биосинтеза тиреоидных гормонов и развития гипотиреоза [7, 8]. Гипотиреоз оказывает влияние на функционирование почти всех органов и систем организма, приводит к снижению основного обмена, развитию тканевых отеков и оказывает влияние на реализацию стресс-реакции, требующей активации и перестройки метаболизма. Вместе с тем на сегодняшний день сведений о состоянии агранулоцитарного звена при гипотиреозе и стрессе в литературе крайне мало. Становится очевидной необходимость исследования этого аспекта гипотиреоидного состояния, так как агранулоцитарное звено системы крови обеспечивает иммунную реакцию, имеет особое значение для реактивности организма, поэтому исследование его состояния при гипотиреозе и стрессе может оказаться полезным для решения проблемы лечения данной патологии.

**Цель исследований.** Выявление изменений в агранулоцитарном звене системы крови и белой пульпе селезенки при стрессе в условиях гипотиреоза.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в осенне-зимний период. Содержание, питание, уход соответствовали ГОСТ Р5025892. Экспериментальные исследования проводились согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Экспериментальный гипотиреоз моделировали введением перорально (с кормом) мерказолила в дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 8 недель [3, 5]. Иммобилизационный стресс моделировали однократной 6-часовой иммобилизацией на спине. В эксперименте было использовано 40 крыс. Десять из них оставались интактными и составили контрольную группу. Остальные животные были разделены на 2 группы. Первая группа животных подвергалась только иммобилизационному стрессу (группа S, 12 животных), во второй группе моделировали гипотиреоз, а затем сразу после отмены мерказолила иммобилизационный стресс (группа GS, 18 животных). Выведение животных из экспе-

римента проводили с помощью эфирной эвтаназии на 2-, 7-, 28-е сутки после отмены мерказолила, затем извлекали бедренную кость для изучения красного костного мозга (ККМ). Кровь для исследований брали из хвостовой вены в эти же сроки. Мазки крови и ККМ окрашивали по Паппенгейму [1], в них подсчитывали миелограмму (на 1000 клеток). Селезенку взвешивали и обрабатывали гистологическими методами, по ней определяли (в %) объемную долю белой пульпы (БП) с последующим пересчетом полученных данных на абсолютную массу (в граммах) и выявляли гемосидерин по методу Перлса [1].

Полученные данные обрабатывали статистически с определением типа распределения вариационных рядов, среднего арифметического, ошибки среднего, среднего квадратичного отклонения (Statistica v.6). Достоверность различий средних величин определяли по t-критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** На 2-е сутки наблюдения у животных с эутиреозом после иммобилизации количество моноцитов в периферической крови проявило тенденцию к увеличению. Через 7 суток эксперимента численность этих клеток уменьшилась в 1,5 раза и нормализовалась (рис. 1, а). В ККМ численность клеток моноцитарного ростка на 2-е сутки наблюдения была в пределах нормы, но к 7 суткам проявила тенденцию к снижению (рис. 1, б). Таким образом, выявленная тенденция к развитию моноцитоза в периферической крови на 2-е сутки после стрессорного воздействия связана с миграцией зрелых моноцитов из костномозгового депо. В стадию резистентности происходит нормализация числа этих клеток в крови.

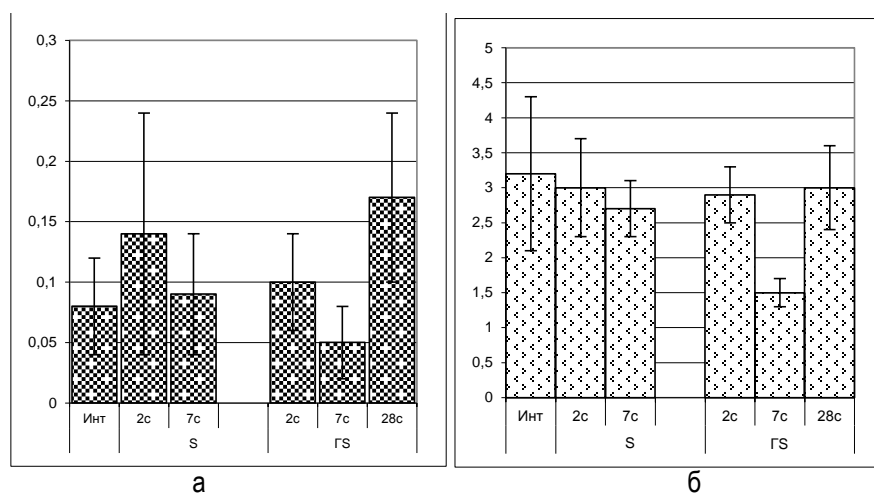


Рис. 1. Абсолютное количество моноцитов периферической крови (а) из 1000 клеток и моноцитопозз (б) из 1000 клеток у стрессированных животных с гипотиреозом (ГС) и с эутиреоидным статусом (S)

Все формы лимфоцитов в периферической крови у животных с эутиреоидным статусом на протяжении 7 суток после стрессорного воздействия увеличивались по численности и превышали норму: малые в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ), средние – в 5 ( $p < 0,05$ ), большие – в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

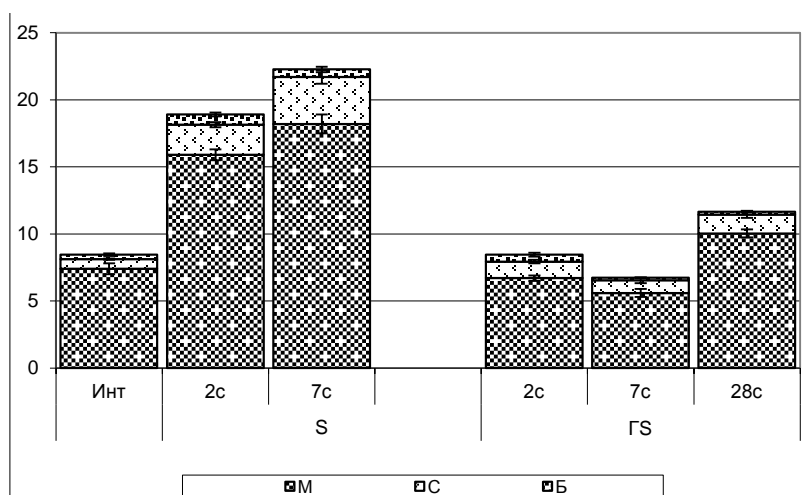


Рис. 2. Абсолютное количество лимфоцитов периферической крови ( $\times 10^9/l$ ) у стрессированных животных с гипотиреозом (ГС) и с эутиреоидным статусом (S): М – малые лимфоциты; С – средние лимфоциты; Б – большие лимфоциты

В ККМ у животных с эутиреозом количество клеток лимфоцитарного ряда на протяжении всего срока наблюдения (7 суток) превышало значение этого показателя у интактных животных: малых лимфоцитов было больше в 3,6 раза ( $p<0,05$ ) (рис. 3, а), средних – в 4, больших – в 3,8 раза ( $p<0,05$ ) (рис. 3, б). Эти данные можно расценивать как проявление, во-первых, стрессорной лимфатизации ККМ (малыми лимфоцитами) и, во-вторых, как активацию центрального лимфопоэза в ККМ под действием стресса (увеличение числа средних и больших лимфоцитов в ККМ). Последнее подтверждается увеличением числа средних и больших лимфоцитов в периферической крови в результате их миграции из ККМ.

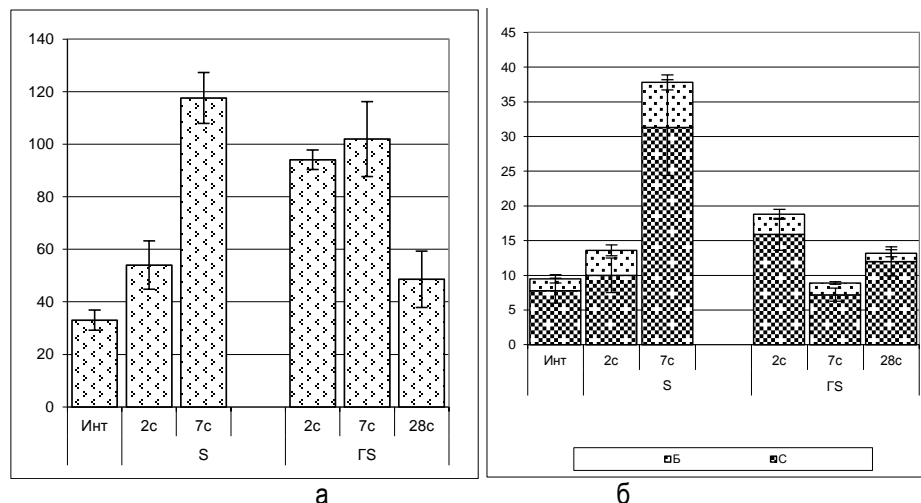


Рис. 3. Количество малых (а), средних и больших (б) лимфоцитов в костном мозге у стрессированных животных с гипотиреозом (ГС) и с эутиреоидным статусом (S) из 1000 клеток

В селезенке, которая является периферическим органом лимфопоэза, в стадию тревоги стресса (на 2-е сутки наблюдения) масса белой пульпы селезенки (БП) уменьшалась в 1,9 раза по сравнению с интактными животными ( $p<0,05$ ) (рис. 4) за счет уменьшения размеров селезеночных телец (СТ) и их реактивных центров (РЦ) в 1,6 и 2,2 раза соответственно. По нашим данным, это обусловлено двумя причинами: во-первых, миграцией зрелых малых лимфоцитов из БП селезенки в кровь (что вносит вклад в наблюдаемый нами лимфоцитоз), во-вторых, временным торможением периферического лимфопоэза (о чем говорит уменьшение массы БП вдвое). К 7-м суткам эксперимента (стадия резистентности стресса) масса БП селезенки, размеры СТ и их РЦ проявили тенденцию к увеличению по отношению к предыдущему сроку, но все ещё не достигали нормы: по среднему значению размеры СТ были меньше нормы в 1,6 раза, РЦ – в 2,2 раза, а масса БП статистически значимо была в 1,6 раза меньше, чем у интактных животных ( $p<0,05$ ) (рис. 4). Из этого следует, что периферический лимфопоэз в стадию резистентности стресса активировался.

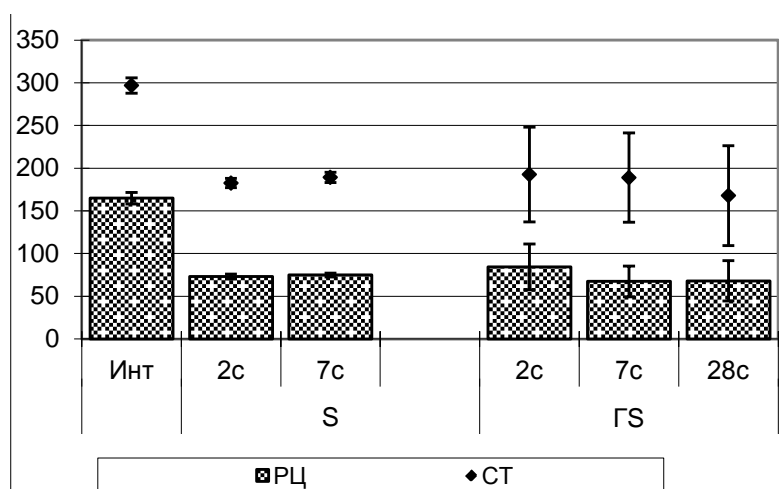


Рис. 4. Динамика изменения размера селезеночных телец и их реактивных центров белой пульпы селезенки у стрессированных животных с гипотиреозом (ГС) и с эутиреоидным статусом (S)

Фагоцитарная функция моноцитов/макрофагов при стрессе у животных с эутиреозом недостаточна для своевременной ликвидации всех последствий стресса. Основанием для такого предположения является установленное нами увеличение массы гемосидерина в БП селезенки на протяжении всего наблюдения, которая к концу эксперимента превышала норму в 2 раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 5).

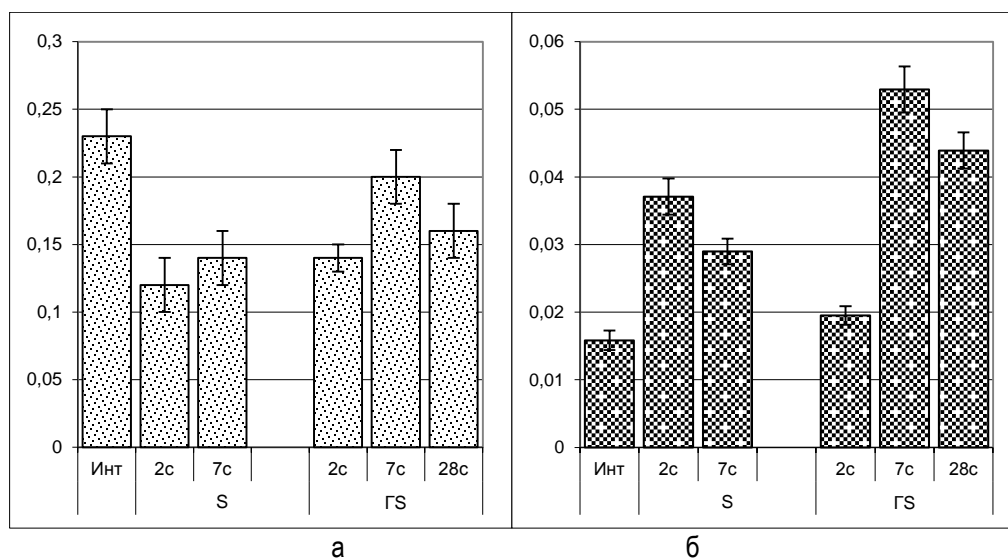


Рис. 5. Изменение массы белой пульпы селезенки (а) и массы гемосидерина (б) у стрессированных животных с гипотиреозом (GS) и с эутиреоидным статусом (S)

Таким образом, у животных с эутиреозом в стадию тревоги иммобилизационного стресса происходит лимфотизация ККМ и активация центрального лимфопозза, наблюдается торможение периферического лимфопозза и опустошение БП селезенки, что в итоге приводит к формированию лимфоцитоза. В стадию резистентности лимфоцитоз нарастал за счет активации и центрального и периферического лимфопозза. Моноцитарный росток изменялся незначительно.

У стрессированных животных с гипотиреозом количество моноцитов в периферической крови на 2-е сутки наблюдения проявило тенденцию к увеличению по отношению к интактным животным, к 7 суткам, наоборот, к уменьшению (по среднему значению была в 1,6 раза меньше), а к 28 суткам к увеличению (среднее значение превышало в 2 раза норму) (рис. 1, а). В ККМ динамика численности клеток моноцитарного ряда имела волнообразный характер: на 2-е сутки наблюдения их количество не выходило за пределы нормы, к 7 суткам уменьшилось в 2 раза ( $p < 0,05$ ), через 28 суток вновь увеличилось до уровня интактных животных (рис. 1, б). Таким образом, у стрессированных животных с гипотиреозом в стадию тревоги происходит активная миграция моноцитов из ККМ в кровь и соответственно уменьшение их костномозгового резерва к 7 суткам, что в свою очередь ведет к активации моноцитопозза. Количество малых лимфоцитов в периферической крови у стрессированных животных с гипотиреозом на 2-е сутки наблюдения находилось в пределах нормального значения (рис. 2). К 7 суткам их стало в 1,3 раза меньше нормы ( $p < 0,05$ ), но к 28 суткам увеличилось и превысило в 1,4 раза этот показатель у интактных животных ( $p < 0,05$ ). Количество средних лимфоцитов на протяжении всего наблюдения увеличивалось и было в 2 раза больше нормы ( $p < 0,05$ ). Количество больших лимфоцитов в крови на 2-е сутки наблюдения проявило тенденцию к увеличению по сравнению с нормальным значением. К 7 суткам их численность уменьшилась и концу эксперимента (28-е сутки) стала в 1,5 раза меньше нормы (рис. 2).

В ККМ численность клеток лимфоцитарного ряда у стрессированных животных с гипотиреозом на 2-е сутки наблюдения увеличивалась и превышала норму малых лимфоцитов в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 3, а), средних – в 2 раза ( $p < 0,05$ ), больших – в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 3, б). К 7 суткам эксперимента количество малых лимфоцитов в 3 раза ( $p < 0,05$ ) превышало уровень интактных животных. К 28 суткам этот показатель нормализовался. Из этого следует, что лимфатизация ККМ при стрессе происходит одинаково и не зависит от тиреоидного статуса. Количество средних лимфоцитов в ККМ у стрессированных животных с гипотирео-

зом на 7-е сутки наблюдения уменьшилось и нормализовалось, оставаясь в диапазоне нормы до конца наблюдения. Количество больших лимфоцитов тоже уменьшилось в 4,7 раза ( $p < 0,05$ ), проявляя тенденцию к снижению в сравнении с нормой. Через 28 суток наблюдения количество больших лимфоцитов в ККМ нормализовалось. Из результатов исследований следует, что при гипотиреозе в первую неделю стресс-реакции организм расходует костномозговой резерв средних и больших лимфоцитов, а позже активируется центральный лимфопозз, но значительно слабее, чем у животных с эутиреозом.

На 2-е сутки наблюдения масса БП селезенки уменьшилась в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с нормой, к 7 суткам увеличилась до нормы, а к 28 суткам вновь уменьшилась и была в 1,4 раза меньше, чем у интактных животных ( $p < 0,05$ ) (рис. 4). Динамика размеров СТ в течение месяца наблюдения (28 суток) уменьшалась статистически незначимо по сравнению с интактными животными, при этом размеры их РЦ уменьшились и на 28-е сутки были в 2,4 раза меньше нормы (рис. 4). По этим показателям не было выявлено отличий между группами стрессированных животных с гипотиреозом и эутиреозом, следовательно, изменения БП селезенки, вызванные стрессом, не зависят от тиреоидного статуса.

Фагоцитарная активность моноцитов/макрофагов у животных с гипотиреозом под действием стресса на 2-е сутки наблюдения существенно возрастала, о чем свидетельствует нормализация массы гемосидерина в БП селезенки ( $p < 0,05$ ) (рис. 5, б). Однако на 7- и 28-е сутки после стрессорного воздействия активность фагоцитоза гемосидерина существенно снизилась и масса гемосидерина в БП селезенки увеличилась в 2,2–2,7 раза по сравнению с предыдущим сроком ( $p < 0,05$ ) (рис. 5, а). Таким образом, стресс способствовал активации фагоцитарной активности моноцитов/макрофагов у животных с гипотиреозом, но лишь в стадию тревоги.

**Заключение.** Таким образом, при стрессе независимо от тиреоидного статуса происходит лимфатизация ККМ и опустошение БП селезенки в стадию тревоги, обусловленное миграцией зрелых лимфоцитов в кровь и ККМ и торможением периферического лимфопозза. Отличие в реакции системы лимфоцитов крови на стресс при гипо- и эутиреозе заключается в том, что активация центрального лимфопозза (в ККМ) при эутиреозе происходит сразу (в стадии тревоги), а при гипотиреозе – лишь в стадию резистентности, поэтому в периферической крови при эутиреозе формируется лимфоцитоз, а при гипотиреозе количество лимфоцитов не выходит за пределы нормы.

### Литература

1. Кандор В.И. Молекулярно-генетические аспекты тиреоидной патологии // Проблемы эндокринологии. – 2001. – № 5. – С. 3–10.
2. Кост Е.А. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования. – М.: Медицина, 1975. – 382 с.
3. Козлов В.Н. Тиреоидная трансформация при моделировании эндемического эффекта у белых крыс в эксперименте // Сиб. мед. журн. – 2006. – № 5. – С. 27–30.
4. Николаева Л.А. Окружающая среда и здоровье населения // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Иркутск: НЦРВХ СО РАМН. – Иркутск, 2011. – С. 28–35.
5. Орлов С.Б., Титова М.А., Мухина И.А. Резекция тонкой кишки как экспериментальная модель гипотиреоза // Морфология. – 2002. – № 2. – С. 117.
6. Петунина Н.А., Трухина Л.В. Гипотиреоз // Рус. мед. журн. – 2007. – Т. 15. – № 2. – С. 89–90.
7. Развитие диффузного токсического зоба на фоне предшествующего гипотиреоза / Л.Г. Стронгин [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2007. – Т. 53. – № 3. – С. 38–41.
8. Сингер П. Обследование и лечение больных с эутиреоидным зобом // Болезни щитовидной железы / под ред. Л.И. Браверманна. – М.: Медицина, 2000. – С. 264–288.

