

На правах рукописи

**Коноваленко Юлия Александровна**

**НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОСВЯЗИ РАЗЛИЧНОЙ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ И  
СИСТЕМЫ ЭРИТРОНА У БЕЛЫХ КРЫС**

03.00.13 – физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

ТОМСК – 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования “Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию”

*Научный руководитель:*

доктор медицинских наук,  
профессор, академик РАМН,  
Заслуженный деятель науки РФ

**Медведев Михаил Андреевич**

*Официальные оппоненты:*

доктор медицинских наук,  
профессор

**Низкодубова Светлана Васильевна**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Ковалев Игорь Викторович**

*Ведущая организация:*

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Томский государственный университет Федерального агентства по образованию»

Защита состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_2007г. в \_\_\_ часов, на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050, г. Томск, Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г.Томск, пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2007г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Суханова Г.А.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы** Накопленные к настоящему времени сведения убедительно показывают наличие взаимосвязи органов пищеварения и кроветворения. Известно значение многих отделов пищеварительной трубки в регуляции эритропоэза. Изучена роль желудка, печени, поджелудочной железы, всех отделов кишечника в обеспечении полноценного функционирования системы эритрона, а также до некоторой степени выяснены физиологические механизмы этих взаимоотношений [Гольдберг А. И. с соавт. 1955-1959; Рысс Е. С., 1963; Черниговский А. Я., 1967; Золотницкая Р. П., 1975; Колобаев В. И. с соавт., 1982; Голубев В. Б., 1984; Катаева Л. Н. с соавт., 1994].

Однако до настоящего времени мало изучена роль слюнных желез в регуляции гемопоэза. Взаимодействие слюнных желез и системы эритрона показано в экспериментах с сиаладенэктомией (моделью недостаточности слюнного аппарата) [Tasaka S. et al., 1958, Герина Л. С., 1979, 1980; Плешко Р. И. с соавт., 1992-1996]. Обнаружено, что экстирпация поднижнечелюстных и околоушных слюнных желез у крыс и кроликов сопровождается развитием анемии, выражающейся в снижении содержания гемоглобина и количества эритроцитов периферической крови на 10-14 день после сиаладенэктомии. Кроме того, установлено, что в костном мозге у крыс угнетается продукция клеток эритроидного ряда [Tasaka S. et al., 1958, Герина Л. С., 1979, 1980; Плешко Р. И. с соавт., 1992-1996].

Существуют предположения о природе выявленных изменений: во-первых, причины, связанные с недостаточным уровнем в организме эндогенных стимуляторов эритропоэза, вырабатываемых слюнными железами [Сукманский О. И., 1972-1991; Tatemoto Y., et al. 1991]; во-вторых - алиментарного генеза – изменение метаболизма железа, как фактора, необходимого для обеспечения нормального эритропоэза, ввиду нарушения условий для его полноценного всасывания [Суходоло И. В., Плешко Р. И., 1992-1996]; в третьих – причины, связанные с изменением гормонального статуса организма, развивающегося в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез [Денисов А. Б. с соавт., 2003], с чем связаны сопутствующие изменения регуляции эритропоэза [Новицкий В. В. с соавт., 1995].

Имеющиеся сведения единичны и носят констатирующе - описательный характер. Практически не изучено поведение эритрона в условиях длительно сниженной функциональной активности слюнного аппарата, а также при гиперфункции слюнных желез.

**Цель:** исследовать влияние различной функциональной активности слюнных желез на периферическое звено эритрона.

**Задачи исследования:**

1. Определить показатели периферического звена эритрона в условиях удаления слюнных желез.
2. Определить показатели периферического звена эритрона при гиперфункции слюнных желез.
3. Определить показатели периферического звена эритрона в условиях фармакологической блокады вегетативной иннервации слюнных желез.

**Научная новизна и теоретическая значимость**

В работе впервые дана характеристика периферического звена эритрона при сниженной активности слюнных желез, вызванной сиаладенэктомией, при гиперсаливации и введении гексаметония. Показано, что у крыс в условиях гипофункции саливаторного аппарата развивается регенераторная анемия, сопровождающаяся нарушением синтеза гемоглобина, которая не носит гемолитический характер. Эти изменения сопровождаются увеличением проницаемости мембран эритроцитов для мочевины и модификацией фосфолипидного состава эритроцитов.

При длительной гипосаливации (24 недели после начала эксперимента) фосфолипидный состав эритроцитов остается измененным, а проницаемость их мембран для мочевины возвращается к величинам, близким к нормальным. В условиях длительно сниженной функциональной активности слюнных желез у животных развиваются признаки дефицита железа.

Показано, что гиперсаливация сопровождается кратковременным увеличением количества эритроцитов и содержания гемоглобина с дальнейшим приближением к контрольным показателям. При этом в эритроцитах увеличивается содержание лизофосфатидилхолина на протяжении всего срока исследования.

Установлено, что фармакологическая блокада вегетативной иннервации слюнных желез сопровождается развитием анемии, не имеющей желездефицитного и гемолитического компонента.

**Практическая значимость**

В результате исследований получены новые данные фундаментального характера о физиологической роли слюнных желез. Установлено, что гипофункция и гиперфункция саливаторного аппарата сопровождаются разнонаправленными изменениями в эритроне. Практическая ценность полученных результатов может учитываться при

развитии патологии слюнных желез и возможной коррекции нарушений эритропоэза.

***Положения, выносимые на защиту:***

1. При исключении слюнных желез из пищеварительного конвейера у крыс развивается регенераторная анемия, при этом в эритроцитах происходит накопление лизофосфатидилхолина и повышается проницаемость их мембран для мочевины.
2. В условиях длительно сниженной функциональной активности слюнного аппарата содержание гемоглобина и индексы, отражающие гемоглобинизацию эритроцитов, достоверно снижаются. Этот процесс связан с нарастающими признаками дефицита железа.
3. При гиперсаливации в периферической крови наблюдается кратковременное увеличение количества эритроцитов и содержания гемоглобина с дальнейшим возвращением изучаемых показателей к величинам близким к контрольным. При этом на протяжении всего эксперимента в эритроцитах накапливается лизофосфатидилхолин, содержание остальных фракций фосфолипидов изменяется недостоверно.
4. В условиях фармакологической блокады вегетативной иннервации слюнных желез у крыс развивается анемия, не являющаяся железодефицитной и гемолитической. Проницаемость мембран эритроцитов для мочевины у крыс с денервированной слюнной железой достоверно не изменяется.

***Апробация и реализация работы***

Основные результаты диссертации обсуждались на Всероссийской конференции, посвященной памяти В. А. Пегеля (Томск, 2001, 2006); IV съезде физиологов Сибири (Новосибирск, 2002); II Конгрессе молодых ученых и специалистов (Томск, 2002); XIX съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (Екатеринбург, 2004); V съезде физиологов Сибири (Томск, 2005).

Результаты диссертации опубликованы в 6 печатных работах, в том числе в рецензируемых журналах: «Бюллетень сибирской медицины» (Бюллетень сибирской медицины. – 2005. - Т4, приложение 1. – С. 61) и «Вестник Томского государственного университета» (Вестник Томского государственного университета. – 2006. - № 21. – С. 100 – 101).

Результаты работы рекомендованы к использованию в учебном процессе кафедры нормальной физиологии ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, в разделе “физиология пищеварения”; в учебном процессе кафедры физиологии человека и животных ГОУ ВПО ТГУ в курсе «физиология человека и животных», в разделе “физиология пищеварения”; в учебном

процессе кафедры медико-биологических дисциплин ГОУ ВПО ТГПУ в курсе «физиология человека и животных», в разделе “физиология пищеварения”.

### ***Объем и структура диссертации***

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты собственных наблюдений», «Обсуждение результатов» и выводов. Библиография включает 218 источников, в том числе 157 - отечественных авторов. Работа иллюстрирована 20 рисунками, 9 таблицами.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Объектом исследования служили 298 беспородных половозрелых крыс-самцов, к моменту проведения эксперимента достигших массы 180-200г. Уход за животными, проведение эксперимента, выведение животных из эксперимента производились в соответствии с Федеральным Законом РФ от 01.01.1997г. “О защите животных от жестокого обращения”, и в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных”, утвержденными Приказом МЗ СССР №755 от 12.08.1987.

Было проведено 3 серии экспериментов:

- I. Серия экспериментов со сниженной функциональной активностью слюнных желез.
- II. Серия экспериментов с повышенной функциональной активностью слюнных желез.
- III. Серия экспериментов с фармакологическим выключением слюнных желез.

В первой серии опытов, где моделировалась гипофункция саливаторного аппарата животные были разделены на следующие группы:

1. Фоновая группа. Фоновую группу составили интактные животные.
2. Контрольная группа. Во избежание влияния оперативного вмешательства в качестве контрольной группы использовались ложнопериорированные животные.
3. Опытная группа животных со сниженной функциональной активностью слюнных желёз. Гипофункция саливаторного аппарата моделировалась путём тотальной сиаладенэктомии.

Операция тотальной сиаладенэктомии представляла собой удаление через срединный шейный разрез объединённого комплекса подъязычных и подчелюстных слюнных желёз, а также максимально возможного иссечения диффузно расположенных околоушных слюнных желёз с

внутренней поверхности области шеи. Ложная операция осуществлялась путем наложения срединного шейного разреза и рассечения тканей до слюнных желёз с обработкой шва так же, как при сиаладенэктомии. Соответствующие экспериментальным группам операции проводились под общим эфирным наркозом.

Во всех группах выведение животных из эксперимента производилось через 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24 недели после соответствующего вмешательства.

Во второй серии опытов, где моделировалась повышенная функциональная активность слюноторного аппарата, представлены следующие группы:

1. Контрольная группа. В этой серии экспериментов в качестве контрольной использовались интактные животные.
2. Опытная группа с повышенной функциональной активностью слюнных желез.

Увеличение функциональной активности слюнных желез моделировалось путем многократного снижения прикуса. Метод разработан и апробирован Wells Н. с соавт. (1959), уточнен Шубниковой Е. А. с соавт. (1979), Curbelo Н. М. et al., (1987) и Денисовым А. Б. (2003). У крыс производили скусывание нижнечелюстных резцов до десневого края. В силу регенерационной способности зубов крыс, процедуру производят через 2 дня на третий. Результаты оценивали через 1-2 дня после последнего скусывания. Согласно исследованиям, при подобном воздействии гипертрофируются ацинарные отделы слюнных желез, особенно в подчелюстных слюнных железах [Curbelo Н. М. et al., 1987; Денисов А. Б., 2003].

Выведение животных из эксперимента в данной серии опытов проводилось через 2 и 4 недели после начала удаления резцов.

В третьей серии экспериментов, где производилась фармакологическая денервация слюнных желез, животные были разделены на следующие группы:

1. Группа интактных (фоновых) животных.
2. Группа ложнооперированных животных, которым вводился физиологический раствор (показатели этой группы были приняты за контроль).
3. Группа ложнооперированных животных, инъецированных гексаметонием.
4. Группа животных с удалёнными слюнными железами, которым вводился физиологический раствор.

5. Группа животных с удалёнными слюнными железами, инъецированных гексаметонием.

Гексаметоний (“Sigma”, США), являясь бис-четвертичной аммониевой солью, обладает достаточно высокой избирательной активностью и выраженной избирательностью действия. Он обладает способностью блокировать н-холинорецепторы вегетативных нервных узлов и в связи с этим тормозит передачу нервного возбуждения с преганглионарных на постганглионарные волокна вегетативных нервов. При этом нарушается проведение возбуждения как в симпатических, так и в парасимпатических ганглиях. Введение этого препарата нарушает эфферентную иннервацию слюнных желез, что проявляется угнетением их секреции.

Гексаметоний животным вводился ежедневно, внутривенно, в дозе 10 мг/кг [Гацура В. В, Саратиков А. С., 1977]. Физиологический раствор вводился ежедневно, внутривенно, в объёме, эквивалентном объёму раствора ганглиоблокатора.

Материалом исследования служили: периферическая кровь, сыворотка, эритроциты крыс.

В периферической крови, полученной из хвостовой вены, изучали количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит стандартными гематологическими методами. На основе полученных величин вычислялись основные эритроцитарные коэффициенты, отражающие гемоглобинизацию эритроцитов: средний объём эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в одном эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в одном эритроците (MCHC) [Меньшиков В. В., 1987]. Количество ретикулоцитов определяли путем прижизненной окраски на стекле во влажной камере бриллиантовым резиниловым синим [Меньшиков В. В., 1987].

Сывороточные показатели обмена железа: сывороточное железо (СЖ), общую железосвязывающую способность (ОЖСС) определяли при помощи стандартных наборов «БИО-ЛА-ТЕСТ» «Железо ПСТ» (Чешская республика). Принцип метода основан на образовании комплексного соединения ионов  $Fe^{2+}$  с динатриевой солью 3-(2-пиридил)-5,6-бис(4-сульфо-фенил)-1,2,4-триазина, фиолетового цвета, пригодного для фотометрического определения [Ceriotti et al. 1980].

ОЖСС определяли по методу Caraway W. T. [Caraway W. T., 1963]. Принцип метода заключался в полном насыщении трехвалентным железом трансферрина сыворотки с последующим определением концентрации  $Fe^{2+}$  описанным выше методом. Разница между ОЖСС и СЖ составляла



ненасыщенную железосвязывающую способность НЖСС. Отношение уровня СЖ к ОЖСС характеризовало насыщение трансферрина железом.

Для определения фракций билирубина использовался набор реактивов “Билирубин-Ново” (г. Новосибирск). В основу положен метод Ендрассика-Гроффа, где определение общего и конъюгированного билирубина основано на реакции диазотирования диазосульфаниловой кислотой в присутствии ускорителя (конъюгированный билирубин). Определение неконъюгированного билирубина определялось из разницы между концентрацией общего и конъюгированного билирубина.

Проницаемость эритроцитарных мембран оценивалась методом построения кривых мочевинового гемолиза. Принцип метода основан на способности мочевины проникать сквозь клеточные мембраны путем диффузии, равномерно распределяясь во вне и внутриклеточном пространстве. При высокой концентрации мочевины в среде инкубации создается высокая концентрация ее внутри клетки, что вызывает осмотический шок. О количестве разрушенных клеток судили по степени гемолиза эритроцитов. Используя ряд физиологических растворов с различной долей мочевины, получали S-образную кривую мочевинового гемолиза, отражающую проницаемость мембран взятой в опыт популяции эритроцитов [Колмаков В. Н. с соавт., 1980-1990].

Липиды экстрагировали хлороформ-метаноловой смесью из трижды отмытых от плазмы эритроцитов с последующей очисткой от нелипидных примесей путем добавления 0,74% KCl. Разделение фосфолипидов производилось методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей метанол : хлороформ : вода в соотношении 64 : 25 : 4 с последующей окраской пятен 5% раствором фосфорно – молибденовой кислоты. Количественную оценку хроматограмм производили путем элюирования красителя из соответствующих пятен этанол - хлороформенной смесью и (1:2), с последующим спектрофотометрированием при длине волны 620 нм. Идентификацию отдельных фосфолипидов проводили с помощью свидетелей («Sigma», США) [Folch J. et al., 1957; Мэдди Э., 1979].

Результаты исследований обработаны на компьютере с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 FOR WINDOWS (StatSoft.Inc., 2001), с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для независимых выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях сниженной функциональной активности слюнных желез у животных снижалось число эритроцитов и содержание гемоглобина уже через 1 неделю после начала эксперимента (табл. 1).

Таблица 1

Показатели периферического звена эритрона у крыс в различные сроки после экстирпации слюнных желёз

срок	группы животных	n	Количество эритроцитов, Т/л	Содержание гемоглобина, г/л	Гематокрит, %	МСН, пг	МСНС, г/л
1 нед.	Инт	7	5,06±0,12	170,67±9,04	46,17±1,79	35,05±0,43	369,75±13,62
	ЛО	6	4,09±0,54	140,40±10,33	44,80±0,66	34,31±0,81	320,83±15,78
	САЭ	11	3,27±0,16**	104,29±12,01***	38,57±0,61**	31,73±0,36*	266,73±9,06**
2 нед.	Инт	9	4,83±0,18	166,67±13,56	43,50±0,43	36,09±1,73	382,83±11,06
	ЛО	8	4,02±0,13	143,12±8,67	45,36±1,01	36,02±0,38	316,24±7,43
	САЭ	9	3,31±0,08**	113,43±7,48***	39,45±0,54**	33,23±0,35*	284,73±10,12**
3 нед.	Инт	7	4,98±0,42	166,83±9,56	43,10±0,37	34,50±0,62	388,23±9,22
	ЛО	6	4,54±0,09	144,02±10,58	41,02±1,01	33,46±0,37	351,45±8,54
	САЭ	10	3,85±0,08*	114,71±8,04***	39,86±0,57	29,90±0,60**	287,83±10,12**
4 нед.	Инт	9	5,36±0,07	174,64±9,37	43,17±0,79	31,22±1,36	399,83±14,87
	ЛО	8	5,07±0,16	173,20±8,58	42,55±0,61	31,63±0,35	406,60±13,50
	САЭ	11	4,21±0,21*	123,71±7,94***	39,46±1,20	26,01±1,28*	341,14±12,63**
6 нед.	Инт	7	5,01±0,09	177,64±13,2	44,13±0,46	34,02±0,33	399,17±10,14
	ЛО	6	4,93±0,12	170,40±6,93	43,49±0,34	34,42±0,41	391,40±9,96
	САЭ	11	4,71±0,13	129,71±7,24***	40,01±0,65	28,12±0,98**	321,33±10,94**
12 нед.	Инт	7	4,90±0,18	175,98±9,04	42,03±0,67	33,45±0,35	439,50±11,64
	ЛО	8	4,80±0,25	168,20±8,72	41,80±0,97	35,05±0,19	422,20±15,04
	САЭ	9	4,71±0,21	132,29±7,67***	39,71±0,61	27,57±0,61**	332,57±14,13**
24 нед.	Инт	6	5,01±0,16	168,50±10,81	42,83±0,60	33,67±0,67	403,33±11,83
	ЛО	7	4,98±0,19	162,80±8,52	43,72±0,72	32,01±0,63	383,60±6,17
	САЭ	10	4,65±0,13	127,43±9,75***	42,12±0,74	26,86±0,74**	301,71±7,04**

Примечание: Инт – интактные, ЛО – ложнооперированные (контроль), САЭ – сиаладенэктомированные животные

\*\*\*p<0,005; \*\*p<0,01; \*p<0,05 – достоверность различий опытной и контрольной групп

Через 1 неделю после начала эксперимента количество эритроцитов снизилось до  $3,27 \pm 0,16$  Т/л (контроль -  $4,09 \pm 0,54$  Т/л;  $p < 0,01$ ), содержание гемоглобина - до  $104,29 \pm 12,01$  г/л (контроль -  $140,40 \pm 10,33$  г/л;  $p < 0,005$ ).

Сходная динамика наблюдалась и через 2, 3 и 4 недели после сиаладенэктомии. Через 6, 12 и 24 недели после экстирпации слюнных желез изучаемый показатель возвращался к нормальным величинам, в то время как содержание гемоглобина оставалось достоверно сниженным на всем протяжении исследования (табл. 1).

Судя по увеличению количества ретикулоцитов, прослеживавшемуся до 3 недели эксперимента, анемия на ранних этапах исследования носила регенераторный характер (рис. 1).

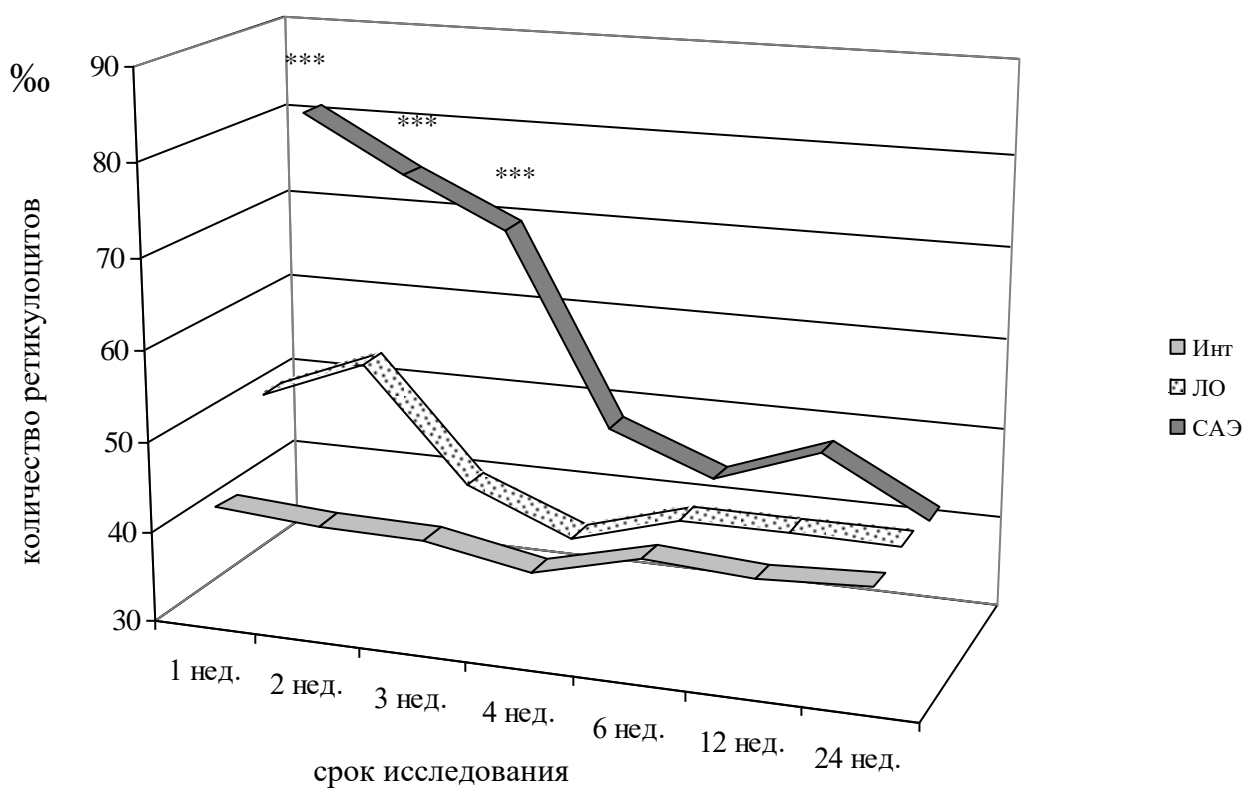


Рис. 1. Изменение содержания ретикулоцитов у половозрелых крыс-самцов в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез через 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24 недели после сиаладенэктомии

Инт – интактные, ЛО – ложнооперированные (контроль), САЭ – сиаладенэктомированные животные

\*\*\* $p < 0,005$  – достоверность различий опытной и контрольной групп

Динамика изменения количества ретикулоцитов такова: через 1 неделю -  $80,90 \pm 5,21$  ‰ (контроль –  $51,71 \pm 2,54$  ‰), через 2 недели –  $74,71 \pm 3,43$  ‰ (контроль  $56,20 \pm 3,43$  ‰), через 3 недели –  $69,42 \pm 2,18$  ‰ (контроль –  $43,80 \pm 3,803$  ‰) во всех случаях  $p < 0,005$ . Начиная с 4 недели после сиаладенэктомии число ретикулоцитов у контрольных (ложнооперированных) и опытных (сиаладенэктомированных) животных достоверно не различалось (рис. 1).

Следует учесть, что при сиаладенэктомии свой вклад в развитие анемии вносит оперативная кровопотеря, т. к. у ложнооперированных животных также сохранялась тенденция к снижению описываемых показателей по сравнению с фоновыми (интактными) животными.

Дополнительным свидетельством в пользу этого являлось и уменьшение величины гематокрита через 1 и 2 недели после начала эксперимента (табл. 1).

При повышении функциональной активности сливаторного аппарата имела место кратковременная стимуляция эритропоэза с последующим возвращением изучаемых показателей к таковым в контрольной группе интактных животных (табл. 2).

Таблица 2

Показатели периферического звена эритрона крыс в условиях гиперфункции сливаторного аппарата через 2 и 4 недели после начала скусывания резцов

Срок исследования	Группы животных	n	Содержание гемоглобина, г/л	Количество эритроцитов, Т/л	Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, пг	Количество ретикулоцитов, ‰.
2 недели	Инт	8	<b>166,67±4,41</b>	<b>4,86±0,19</b>	<b>34,29±0,73</b>	<b>41,60±1,36</b>
	УР	13	<b>189,15±3,14**</b>	<b>5,91±0,09***</b>	<b>32,08±0,83</b>	<b>55,20±1,29***</b>
4 недели	Инт	7	<b>174,83±3,31</b>	<b>5,60±0,10</b>	<b>31,22±0,36</b>	<b>39,33±1,45</b>
	УР	10	<b>171,80±3,95</b>	<b>5,07±0,22</b>	<b>34,03±0,97</b>	<b>45,50±2,08</b>

Примечание: Инт – интактные (контроль), УР – животные с удаленными резцами (опытные)

\*\*\* $p < 0,005$ ; \*\* $p < 0,01$  – достоверность различий опытной и контрольной групп

Количество эритроцитов через 2 недели после начала эксперимента, увеличивалось до  $5,91 \pm 0,09$  Т/л (контроль -  $4,86 \pm 0,19$  Т/л;  $p < 0,001$ ); гемоглобина - до  $189,15 \pm 3,14$  г/л (контроль -  $166,67 \pm 4,41$  г/л;  $p < 0,01$ ) (табл. 2).

Причины подобного поведения эритрона в условиях сниженной и повышенной функциональной активности сливаторного аппарата, основываясь на данных литературы, можно интерпретировать с тех позиций, что слюнные железы являются местом синтеза биологически активных веществ: в их гранулярных протоках локализуется эритропоэтин, вырабатываются такие стимуляторы эритропоэза, как фактор гранулоцитоза, колониестимулирующий фактор, тимоцит-трансформирующий фактор, а также неспецифическими положительными регуляторами гемопоэза являются паротин и калликреин [Сукманский О. И., 1972-1990]. Снижение показателей периферической крови при гипосаливации, связано не только с наличием постгеморрагического компонента, но и некоторым недостатком стимуляторов эритропоэза, развивающемся в организме при сиаладенэктомии. При обратном состоянии - увеличении функциональной активности слюнных желез – прослеживалась кратковременная стимуляция эритропоэза, что могло быть связано с непродолжительным увеличением содержания этих веществ в организме животных.

Однако эта гипотеза не объясняет изменения через 4 недели после соответствующего воздействия, т. к. количество эритроцитов при обоих типах модификации деятельности сливаторного аппарата возвращается к величинам, близким к соответствующим им контрольным показателям. Содержание гемоглобина при гиперфункции слюнных желез не отличается от таковой величины у интактных (контрольных) животных, в то время как у сиаладенэктомированных крыс этот показатель остается достоверно сниженным относительно контроля.

Выявленный гипохромный характер анемии при гипофункции сливаторного аппарата может свидетельствовать о ее связи с истощением запасов железа и вследствие этого развивающимся его дефицитом, что проанализировано в настоящем исследовании.

При изучении показателей обмена железа у крыс в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез на ранних сроках эксперимента достоверно значимых изменений не обнаружено: СЖ, ОЖСС, НЖСС, а также насыщенность железом трансферрина достоверно не отличались от таковых показателей в контрольной группе ложнооперированных животных через 1, 2, 3 недели после экстирпации

слюнных желез.

При более длительном воздействии, по прошествии 4 недель от начала эксперимента, в крови сиаладенэктомированных животных развивалась тенденция к сидеропении, выражавшаяся в уменьшении концентрации сывороточного железа до  $16,86 \pm 1,86$  мкмоль/л, (контроль -  $22,71 \pm 1,15$  мкмоль/л;  $p < 0,005$ ). Снижение происходило через 6 и 12 недель после сиаладенэктомии, наиболее выражено через 24 недели после начала эксперимента, и составило  $13,14 \pm 1,32$  мкмоль/л (контроль  $26,29 \pm 1,18$  мкмоль/л;  $p < 0,001$ ) (рис. 2). Наряду с уменьшением концентрации СЖ, в условиях длительной гипосаливации увеличивалась ОЖСС. Так, через 24 недели после экстирпации слюнных желез этот показатель увеличился в среднем на 13,69% ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

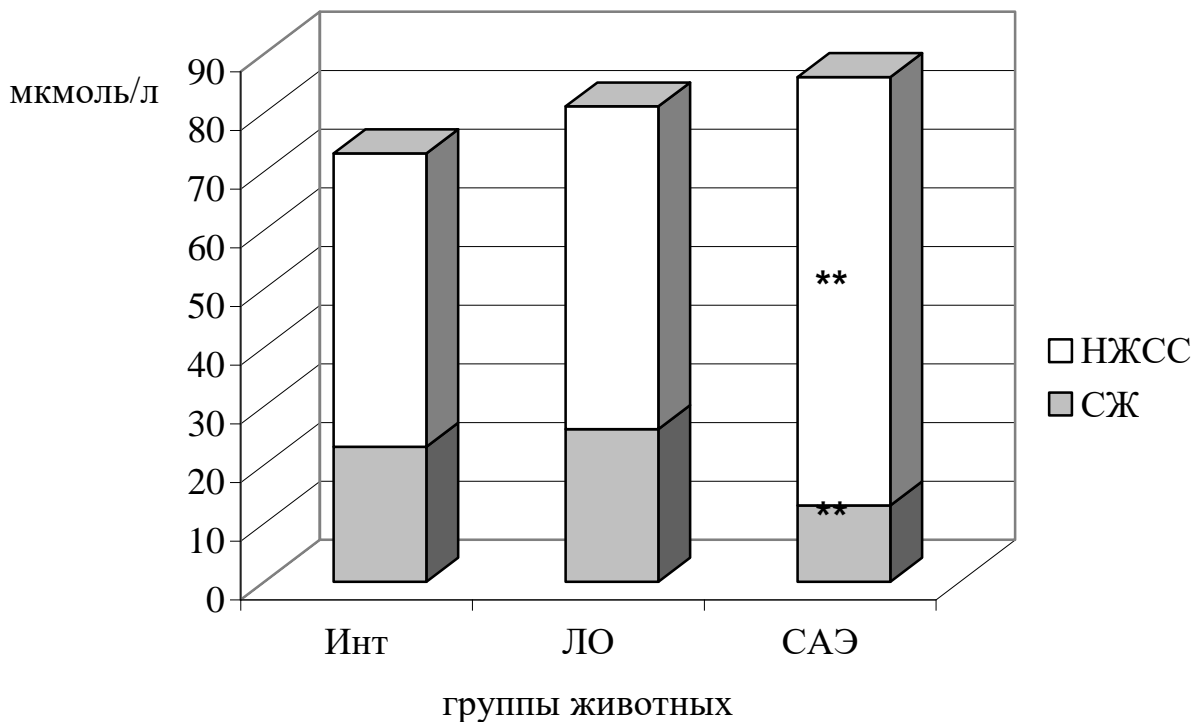


Рис. 2. Показатели сывороточного железа у крыс в условиях длительно сниженной функциональной активности слюнного аппарата через 24 недели после экстирпации слюнных желез

Инт – интактные животные, ЛО – ложнооперированные (контроль) животные, САЭ – сиаладенэктомированные животные, весь столбик – ОЖСС

\*\* $p < 0,01$  – достоверность различий опытной и контрольной групп

Кроме этого, возрастала и НЖСС сыворотки: через 4 недели - с

53,57±2,52 мкмоль/л до 72,76±2,50 мкмоль/л ( $p<0,01$ ) в контрольной группе ложнооперированных животных; через 6 недель – с 55,33±2,33 мкмоль/л до 70,71±2,31 мкмоль/л ( $p<0,01$ ); через 12 недель с 52,57±2,03 мкмоль/л до 72,57±2,66 мкмоль/л ( $p<0,01$ ); через 24 недели с 53,41±1,49 мкмоль/л до 77,43±1,29 мкмоль/л ( $p<0,01$ ) (рис. 2).

Насыщение железом трансферрина у животных со сниженной функциональной активностью слюнных желез через 4 недели после сиаладенэктомии уменьшилось в 1,51 раз ( $p<0,001$ ) через 6 недель - в 1,60 раз ( $p<0,001$ ); через 12 недель – в 1,96 раз ( $p<0,001$ ); через 24 недели – в 2,27 раз ( $p<0,001$ ).

Говоря о природе выявленных нарушений, прежде всего стоит ответить на вопрос о том, что может явиться причиной железодефицита в моделируемых условиях сниженной функциональной активности слюнных желез. Известно, что основным механизмом, способствующим наличию стабильных запасов железа, является его регулируемая абсорбция, которая зависит от функционального состояния органов желудочно-кишечного тракта. Ведущая роль в этом процессе принадлежит энтероцитам ворсинок ДПК [Cadet E. et al., 2005]. Однако показана роль желудка во всасывании железа.

В настоящее время получены факты, свидетельствующие о регуляторном влиянии количественного и качественного состава секретов слюнных желез на функциональное состояние слизистой оболочки желудка, в частности, на активность гастринпродуцирующих клеток, выполняющих рецепторно-секреторную функцию.

Исследованиями И. В. Суходоло (1988-1989) показано, что у крыс в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез изменяется слизистая оболочка желудка: в слизистой оболочке антрального отдела уменьшается плотность гастринпродуцирующих клеток, при этом снижается концентрация гастринина в сыворотке, который, как известно, является основным стимулятором продукции  $H^+$ -ионов. Модуляция деятельности гастринпродуцирующих клеток отражается на состоянии внутриклеточного метаболизма клеток мишеней, в частности, париетальных клеток, секретирующих соляную кислоту [Суходоло И. В., 1988].

Учитывая вышесказанное, можно предположить, что при сиаладенэктомии создаются каскадные нарушения в функционировании нижележащих отделов пищеварительного тракта, что изменяет условия для всасывания веществ, необходимых для обеспечения полноценного эритропоэза. Вероятно, это и находит отражение в обнаруженном

изменении показателей метаболизма железа в отдаленном после сиаладенэктомии периоде.

При сопоставлении индивидуальных изменений проницаемости эритроцитарной мембраны (ПЭМ) у крыс в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез, был выявлен определенный тип нарушения кривой мочевинового гемолиза, так называемый синдром лизиса, характеризующийся усилением гемолиза в пробах с 135 до 165 ммоль/л мочевины и уменьшением ее концентрации, вызывающей разрушение 50 % красных кровяных клеток [Колмаков В. Н. с соавт. 1980-1990]. Изменения однонаправлены, более выражены на ранних сроках проведения эксперимента, достигая пика к 3 неделе (рис. 3), на 4 неделе эксперимента ПЭМ также оставалась увеличенной.

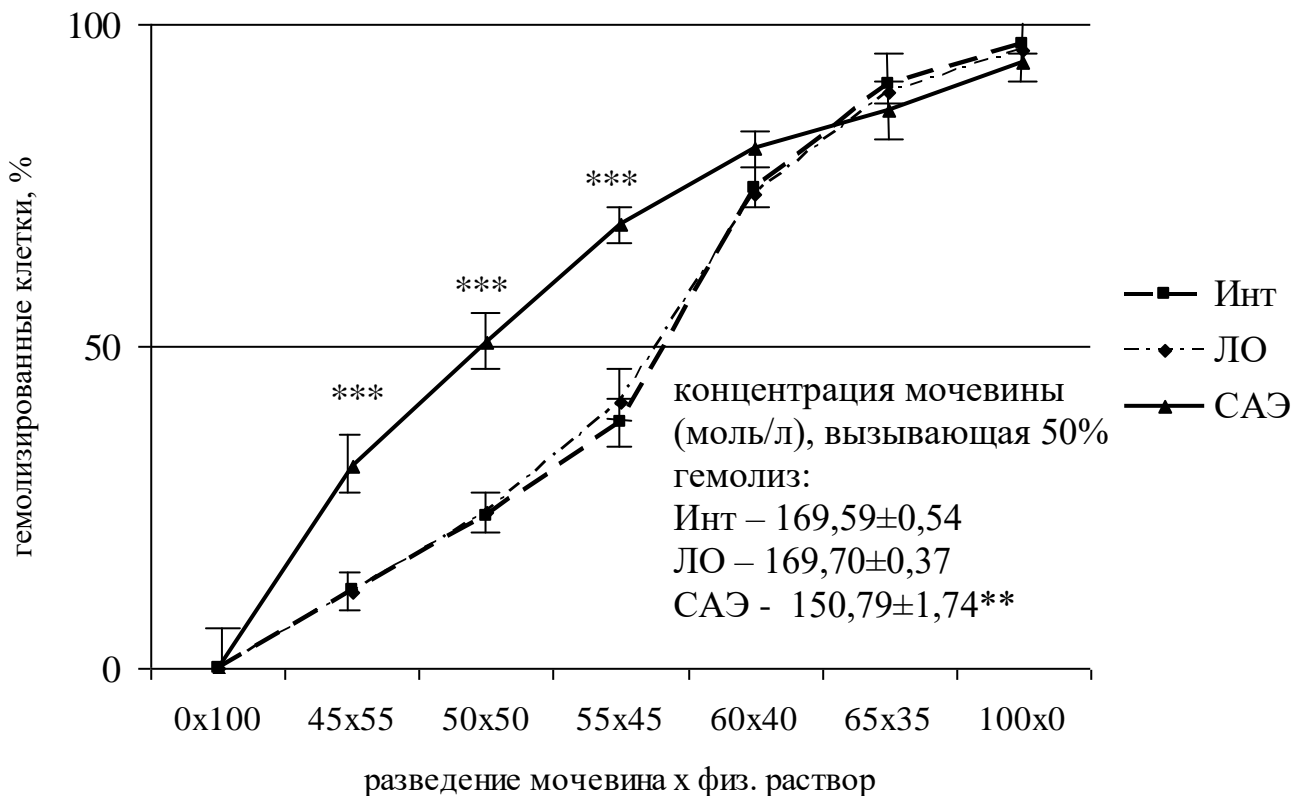


Рис. 3. Показатель проницаемости эритроцитарных мембран крыс в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез через 3 недели после сиаладенэктомии

Инт – интактные, ЛО – ложнооперированные (контроль), САЭ – сиаладенэктомированные животные

\*\*\* $p < 0,005$ ; \*\*  $p < 0,01$  – достоверность различий опытной и контрольной групп



При более продолжительном влиянии (начиная с 6 недели) и в условиях длительного воздействия (12 и 24 недели) изучаемый показатель возвращается к величинам, близким к контрольным.

Согласно данным литературы, повышение ПЭМ определяется усилением процессов пассивной фильтрации ионов и небольших молекул через дефекты мембраны и компенсаторным усилением процессов активного транспорта [Колмаков В. Н. с соавт. 1980-1990].

На вопрос о том, что явилось причиной нарушения проницаемости мембран эритроцитов, позволило ответить более детальное изучение фосфолипидного состава.

В настоящем эксперименте было обнаружено изменение фосфолипидного спектра эритроцитов в условиях как повышенной, так и сниженной функциональной активности слюнных желез. Установлено отчетливое увеличение содержания лизофосфатидилхолина (лФХ) как у крыс с повышенной, так и со сниженной функциональной активностью слюнных желез. Изменения стойкие, выражены на протяжении всего срока исследования (табл. 3; рис. 5).

Таблица 3

Содержание лизофосфатидилхолина (%) в эритроцитах крыс при гипосаливации

Группы животных	Срок исследования						
	1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.	6 нед.	12 нед.	24 нед.
Инт	2,42±0,18	2,20±0,20	2,43±0,21	2,27±0,25	2,47±0,15	2,79±0,21	2,06±0,17
ЛО	2,47±0,19	2,24±0,22	2,00±0,19	2,31±0,19	2,37±0,27	2,65±0,15	2,66±0,16
САЭ	3,90±0,36 *	3,77±0,16 **	4,09±0,32 **	4,82±0,16 **	4,42±0,20 ***	3,84±0,23 **	4,07±0,15 ***

Примечание: Инт – интактные, ЛО – ложнооперированные (контроль), САЭ – сиаладенэктомированные животные

\*\*\* $p < 0,005$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \* $p < 0,05$  - достоверность различий опытной и контрольной групп

Помимо этого, у крыс со сниженной функциональной активностью слюнных желез на фоне увеличения фракции лФХ наблюдалась тенденция к снижению содержания лФХ, наиболее выраженная к 4 недели эксперимента: в среднем на 14,86 % от этого показателя в контрольной группе ложнооперированных животных ( $p < 0,01$ ) (рис. 4).

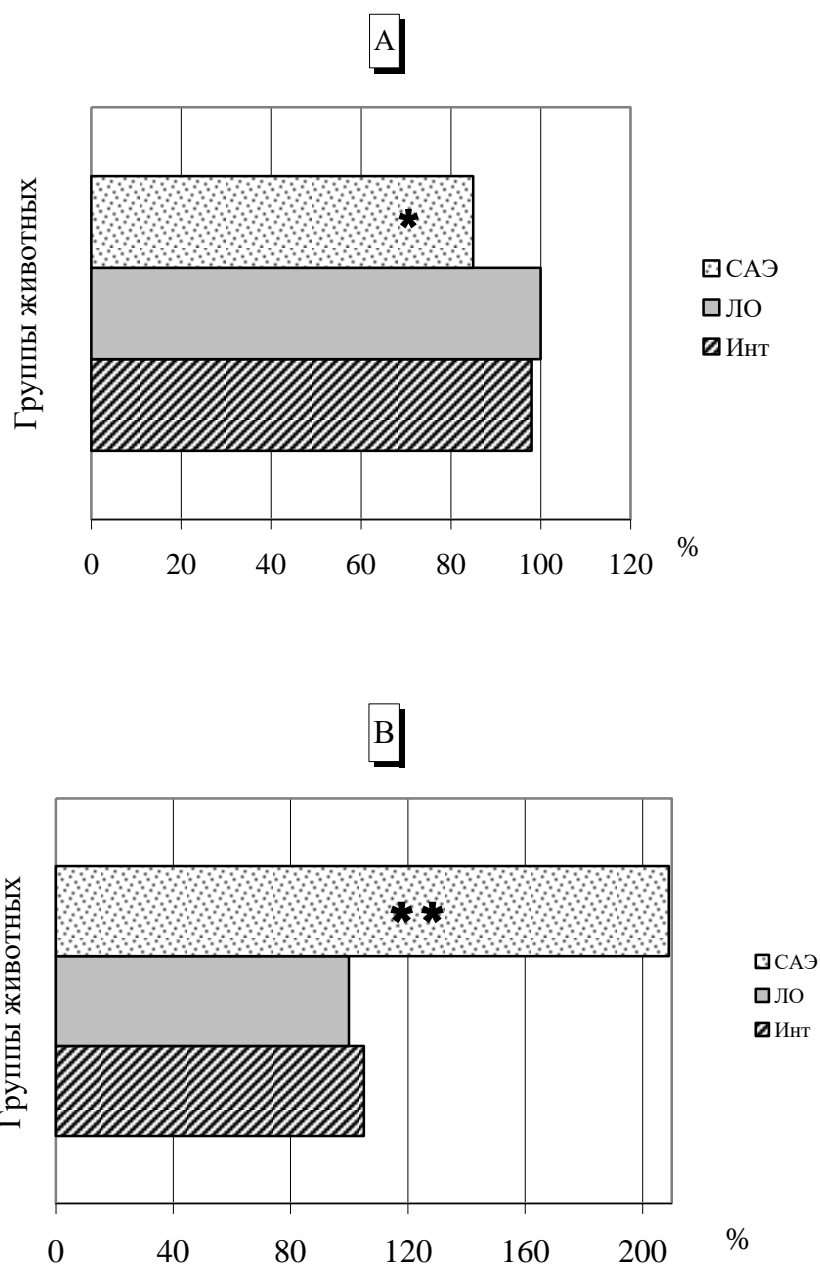


Рис. 4. Относительное изменение (%) содержания фосфатидилхолина (А) и лизофосфатидилхолина (В) в эритроцитах крыс в условиях сниженной функциональной активности слюнных желез через 4 недели после сиаладенэктомии

Инт – интактные, ЛО – ложнооперированные (контроль), САЭ – сиаладенэктомированные животные

\*\* $p < 0,01$ ; \* $p < 0,05$  - достоверность различий опытной и контрольной групп

В условиях же повышенной функциональной активности слюнных желез через 2 недели после начала эксперимента содержание лФХ увеличивалось в среднем в 1,86 раз ( $p < 0,005$ ), через 4 недели – в 1,96 раз; ( $p < 0,005$ ) (рис. 5).

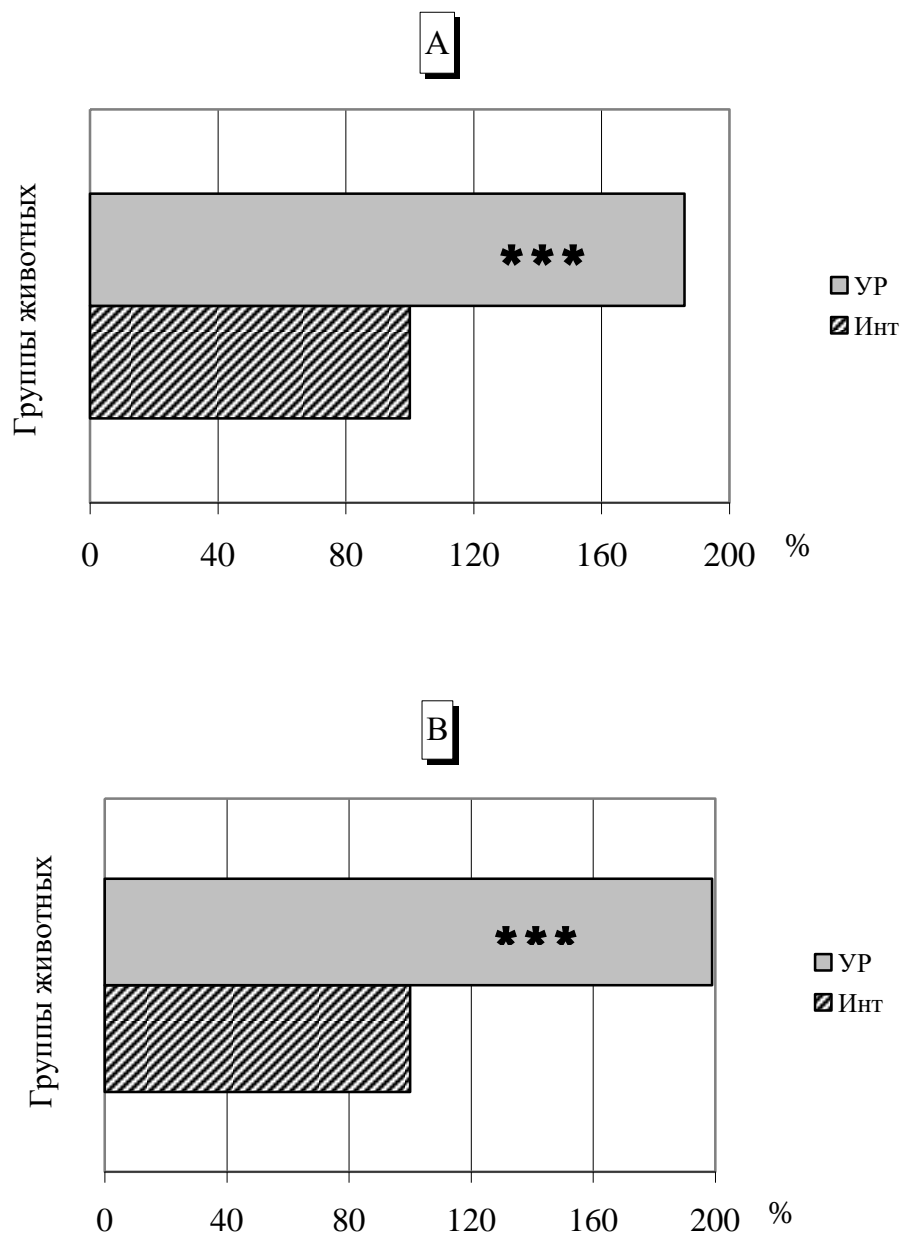


Рис. 5. Относительное изменение (%) содержания лизофосфатидилхолина в эритроцитах крыс в условиях повышенной функциональной активности слюнных желез через 2 (А) и 4 (В) недели после начала удаления резцов  
 Инт – интактные (контроль), УР – животные с удаленными резцами  
 \*\*\* $p < 0,005$  – достоверность различий опытной и контрольной групп

На фоне увеличения содержания лФХ, развивалась тенденция к снижению ФХ. Через 2 недели этот показатель составил  $42,43 \pm 0,62\%$  против контроля  $48,47 \pm 3,59\%$ , через 4 недели –  $41,08 \pm 0,91\%$ , контроль  $49,68 \pm 1,66\%$ .

Снижение содержания ФХ в данном случае может быть обусловлено усилением гидролиза этой фракции под влиянием специфической фосфолипазы типа А [Болдырев А. А., 1986; Селищева А. А., Козлов Ю. П., 1988; Грибанов Г. А., 1991].

Одной из причин, которая может привести к активации фосфолипаз, является изменение в работе калликреин-кининовой системы. Работами томских исследователей показано, что при нарушении функционирования слюнных желёз нарушается баланс между процессами кининообразования и кининоразрушения [Васильев В. Н., 1988-1989; Шумилов С. П., Шумилова Е. А., Васильев В.Н., 1997]. Из литературы известно [Алимова Е. К., Аствацатурьян А. Т., Жаров Л. В., 1975; Мэдди Э., 1979], что в таких условиях происходит изменение активности липолитических ферментов, в частности, резкая активация фосфолипаз типа А, при этом происходит расщепление как фосфолипидов сыворотки, так и мембран эритроцитов. Увеличение содержания фракции лизофосфатидилхолина может быть связано как с повышением скорости распада ФХ наружного слоя мембраны эритроцита, так и с поступлением его из липопротеидов сыворотки [Алимова Е. К., Аствацатурьян А. Т., Жаров Л. В., 1975; Мэдди Э., 1979]. Наличие этого фактора может объяснить уменьшение содержания фракции фосфатидилхолина при параллельном достоверном увеличении фракции лизофосфатидилхолина.

Однако при продолжительно сниженной функциональной активности слюнных желез происходило восстановление проницаемости мембран эритроцитов для мочевины до контрольных величин, но в то же время, содержание в фосфолипидной фракции эритроцитов лизофосфатидилхолина оставалось достоверно повышенным. Вероятно, в этих условиях включаются дополнительные механизмы стабилизации мембраны эритроцита, что приводит к восстановлению ПЭМ.

Согласно работам Колосовой М. В. (1999), Степовой Е. А., (1999), Новицкого В. В. с соавт. (2000), Рязанцевой Н. В. (2001) эритроцит можно рассматривать как уникальную модель для оценки состояния организма, то есть по уровню нарушений метаболизма красных кровяных клеток можно судить о глубине патологического процесса на уровне организма.

Анемия, развивавшаяся при гипосаливации, не смотря на снижение гемолитической устойчивости эритроцитов, не имела в своей природе

выраженного гемолитического компонента, т. к. показатели порфиринового обмена, в частности, содержание неконъюгированного билирубина в сыворотке сиаладенэктомированных крыс не отличалось от такового показателя у контрольных ложноперирированных животных на протяжении всего срока исследования.

Эксперименты также показали, что эффекты фармакологической блокады слюнных желез путем выключения общей вегетативной иннервации, вызываемой введением гексаметония, аналогичны тем, которые имеют место при сиаладенэктомии (табл. 4).

У крыс с денервированной слюнной железой снижалось количество эритроцитов и гемоглобина через 2 недели до  $4,95 \pm 0,19$  Т/л (контроль  $5,65 \pm 0,15$  Т/л;  $p < 0,01$ ) и до  $145,41 \pm 9,50$  г/л (контроль  $164,69 \pm 9,96$  г/л;  $p < 0,01$ ) соответственно. Гемоглобинизация эритроцитов достоверно не изменялась. Через 4 недели после начала эксперимента количество эритроцитов было снижено до  $4,09 \pm 0,15$  Т/л (контроль  $5,93 \pm 0,20$  Т/л;  $p < 0,005$ ) содержание гемоглобина - до  $124,50 \pm 3,71$  г/л (контроль  $162,77 \pm 5,75$  г/л;  $p < 0,005$ ).

Таблица 4

Количественные и качественные показатели периферического звена эритрона у крыс в условиях гипофункции сливаторного аппарата моделируемой различными методами

срок	Группы животных	n	Количество эритроцитов, Т/л	Содержание гемоглобина, г/л
2 недели	Инт	8	<b>5,69±0,16</b>	<b>166,91±15,37</b>
	ЛО+физ. раствор	9	<b>5,65±0,15</b>	<b>164,69±9,96</b>
	САЭ+физ. раствор	9	<b>4,18±0,17***</b>	<b>119,27±11,05***</b>
	ЛО+ГМ	9	<b>4,95±0,19**</b>	<b>145,41±9,50**</b>
	САЭ+ГМ	10	<b>3,55±0,15***</b>	<b>105,45±12,18***</b>
4 недели	Инт	8	<b>5,63±0,21</b>	<b>168,32±4,29</b>
	ЛО+физ. раствор	9	<b>5,93±0,20</b>	<b>162,77±5,75</b>
	САЭ+физ. раствор	9	<b>4,62±0,18***</b>	<b>141,61±4,74***</b>
	ЛО+ГМ	8	<b>4,09±0,15***</b>	<b>124,50±3,71***</b>
	САЭ+ГМ	9	<b>3,81±0,13***</b>	<b>114,18±11,45***</b>

Примечание: Инт – интактные, САЭ – сиаладенэктомированные, ЛО – ложноперирированные животные, ГМ – гексаметоний

\*\*\* $p < 0,005$ ; \*\* $p < 0,01$  - достоверность различий опытной и контрольной групп

Однако при более подробном изучении характера развивающейся анемии, обращало на себя внимание, что при выключении вегетативной

иннервации слюнных желез она не носила ни железодефицитный, как это было установлено у сиаладенэктомированных животных, ни гемолитический характер.

Сравнительный анализ количества эритроцитов и содержания гемоглобина после воздействия гексаметония позволяет предположить об его вкладе в развитие снижения изучаемых показателей, т. к. происходит дополнительное снижение показателей периферического звена эритроцитоза после введения гексаметония как у ложнопериорированных, так и сиаладенэктомированных животных.

Это позволяет предположить, что для обеспечения полноценного эритроцитоза необходимо не только анатомическая целостность, но и физиологическая состоятельность слюнных желез.

## ВЫВОДЫ

1. В условиях гипофункции слюняторного аппарата развивалась гипохромная регенераторная анемия. Через 4 недели после сиаладенэктомии количество эритроцитов и ретикулоцитов возвращалось к нормальным значениям, а содержание гемоглобина и индексы, отражающие гемоглобинизацию эритроцита оставались достоверно сниженными.
2. Анемия, развивавшаяся при гипофункции слюняторного аппарата, начиная с 4 недели эксперимента приобретала признаки железодефицитной, в то время как на ранних сроках эксперимента сывороточные показатели обмена железа изменялись недостоверно.
3. Снижение функциональной активности слюнных желез сопровождалось обратимым изменением проницаемости эритроцитарной мембраны для мочевины и накоплением в эритроцитах лизофосфатидилхолина при снижении содержания фосфатидилхолина, но выявленные изменения не приводили к повышенному гемолизу.
4. При повышении функциональной активности слюнных желез через 2 недели после начала эксперимента установлено кратковременное увеличение числа эритроцитов и содержания гемоглобина, сменявшееся к 4 неделе эксперимента возвращением показателей к контрольным величинам. Изменения сопровождались достоверным накоплением в составе клеток красной крови лизофосфатидилхолина.
5. При нарушении вегетативной иннервации слюнных желез у животных развивалась нормохромная анемия, не связанная с дефицитом железа, не обладавшая признаками гемолитической и не сопровождавшаяся изменением структурных параметров эритроцитов.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Медведев, М. А. Выяснение роли слюнных желез в функциональном состоянии системы красной крови / М. А. Медведев, Ю. А. Коноваленко, Н. М. Кротенко // Материалы всероссийской конференции, посвященной памяти и 95-летию со дня рождения В. А. Пегеля “Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях”, Томск, 18 - 19 декабря, 2001 г., сборник статей – Томск, 2001, - С. 100-103.
2. Медведев, М. А. Периферическое звено эритрона и фосфолипиды мембран эритроцитов в условиях различной функциональной активности слюнных желез / М. А. Медведев, Ю. А. Коноваленко, Н. М. Кротенко // Материалы IV Сибирского физиологического съезда, Новосибирск 30 июня – 2 июля 2002, - Новосибирск, 2002 – С. 177 - 178.
3. Коноваленко, Ю. А. Количественные показатели периферического звена эритрона в условиях различной функциональной активности слюнных желез / Ю. А. Коноваленко // Науки о человеке: сборник статей молодых ученых и специалистов / под ред. Огородовой Л. М., Капилевича Л. В. – Томск : изд-во СГМУ, 2002. - С. 174 – 175.
4. Коноваленко, Ю. А. Роль слюнных желез в регуляции эритропоза / Ю. А. Коноваленко, Н. М. Кротенко // Тез. докл. XIX съезда физиологического общества им. И.П.Павлова, Екатеринбург, 2004. – С. 100.
5. Коноваленко, Ю. А. Особенности анемического синдрома в условиях гипофункции слюнного аппарата у крыс / Ю. А. Коноваленко // Тезисы докладов V Сибирского физиологического съезда, Томск, 29 июня – 1 июля, 2005 г. - Бюллетень сибирской медицины. – 2005. - Т4, приложение 1. – С. 61.
6. Некоторые параметры функционирования эритрона у крыс при гипофункции слюнного аппарата / М. А. Медведев, Ю. А. Коноваленко, Н. М. Кротенко, Е. Н. Шепелева, Л. М. Вьюгова, Н. В. Кротенко // Материалы всероссийской конференции, посвященной памяти и 100-летию со дня рождения В. А. Пегеля “Механизмы индивидуальной адаптации”, Томск, 18 - 19 декабря, 2006 г. – Вестник Томского государственного университета. – 2006. - № 21. – С. 100 - 101.

## СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ОЖСС – общая железосвязывающая способность;  
НЖСС – железосвязывающая способность;  
СЖ – сывороточное железо;  
ПЭМ – проницаемость эритроцитарной мембраны;  
ФХ – фосфатидилхолин;  
лФХ – лизофосфатидилхолин;  
МСV – mean corpuscular volume - средний объём эритроцита;  
МСН - mean corpuscular hemoglobin – среднее содержание гемоглобина в одном эритроците;  
МСНС - mean corpuscular hemoglobin concentration - средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците.