

5. Bitiuzkii, N. P. Mikroelementi i rasteniia [Text] / N. P. Bitiuzkii. – Moscow, 1999. – 232 p.
6. Goodwin, T. Vvedenie v biokhimiю rastenii. Vol. 1 [Text] / T. Goodwin, E. Mercer. – Moscow, 1986. – 392 p.
7. Libbert, E. Fiziologiiа rastenii [Text] / E. Libbert. – Moscow, 1976. – 580 p.
8. Mangaladze, N. The effect of Mn on catalase activity in vegetable plants [Text] / N. Mangaladze // The First SDSU–Georgia STEM WORKSHOP on Nanotechnology and Environmental Sciences. – Tbilisi, 2015. – P. 59–60.
9. Mangaladze, N. The influence of Co on catalase activity in vegetable plants [Text] / N. Mangaladze, N. Kiladze // Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences. – 2014. – Vol. 8, Issue 1. – P. 76–80.
10. Mangaladze, N. The effect of microelements on the activities of peroxidase and polyphenol oxidase in tomato leaves and fruit [Text] / N. Mangaladze // Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences. – 2015. – Vol. 9, Issue 3. – P. 139–142.

*Presented by Georgian National Academy Member Nugzar Alexidze  
Дата надходження рукопису 30.11.2017*

Nino Mangaladze, Associate Professor, Department of Biology, Kutaisi Akaki Tsereteli State University, Tamar Mephe str., 59, Kutaisi, Georgia, 4600

УДК 636.028/09:616.15:591.1

DOI: 10.15587/2519-8025.2017.118786

## ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ ЗА ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

© А. О. Уманська, Д. О. Мельничук, Л. Г. Калачнюк

*На сьогоднішній день є досить актуальними для медицини дослідження способів загального обезболування, консервації крові тощо на основі введення організму у стан штучного гіпобіозу. Для детального дослідження даного стану, насамперед, необхідно детальніше дослідити гематологічні показники у стані штучного гіпобіозу та через 24 год після виходу з нього. Було показано значне підвищення еритроцитів і тромбоцитів, однак зменшення вмісту лейкоцитів*

**Ключові слова:** гіпобіоз, гіперкапнія, гіпоксія, еритроцит, лімфоцит, тромбоцит, кров, щури, гематологія, лейкоцит

### 1. Вступ

У сучасному світі актуальною проблемою біології та практичної медицини залишається дослідження адаптації тварин до низьких температур довкілля [1]. Штучна гіпотермія широко використовується в медичній практиці з метою лікування та реабілітації після різноманітних захворювань, оперативних втручань тощо [1, 2]. Це пов'язано зі значним зниженням обміну речовин і використання кисню при пониженні температури та подальшим відновленням фізіологічних функцій після нормалізації температури.

Стан штучної гіпотермії можна створити із використанням гіпокси-гіперкапнічних газових середовищ. За цих умов тварини входять в стан штучного гіпобіозу при зниженні температури тіла до 14–23 °С [3, 4]. Одним з таких способів є методика за Бахметьєва-Джайя-Анжуса [4]. Формування штучного гіпобіотичного стану веде до гіпометаболізму, що супроводжується зниженням енергозабезпечення теплокровного організму [5, 6]. На сьогоднішній день досліджено досить багато біохімічних та фізіологічних показників стану організму за штучного гіпобіозу.

### 2. Літературний огляд

Терміном «гіпобіоз» (грецьк. *hupo* – під, внизу та *bios* – життя) характеризують стан природного (різного глибини) пригнічення життєдіяльності організму, в тому числі і стан зимової чи літньої сплячки

тварин, або зимового заціпеніння. Він був запропонований Б. Монтересо у 1934 р. [7].

Введення гоміотермних організмів в стан штучного гіпобіозу, з метою досягнення повної нечутливості перед хірургічним втручанням, займалися ще в минулому столітті [8]. Для введення лабораторних тварин в стан штучного гіпобіозу використовували метод «закритої судини», запропонований Бахметьєвим, який полягає в їх охолодженні в умовах поступово зростаючої в процесі дихання гіпоксії і гіперкапнії [9]. В подальшому П. Бахметьєв, Д. Джай та Р. Анжус при проведенні хірургічних втручань на дрібних тваринах для їх охолодження до 18–20 °С використовували метод «закритої судини» [10].

Експерименти, які були проведені Е. В. Майстрах свідчать, що пригнічення життєдіяльності можна досягнути одночасним охолодженням та вдиханням газової суміші з високою концентрацією кисню (до 90–95 %) з додаванням вуглекислого газу, яка має збуджуючу дію на дихальний центр. Штучне дихання комбінувалось зі штучним кровообігом і введенням лікарських речовин [11].

У подальшому для створення штучного гіпометаболічного стану використовували окремими очищені фракції і проміжні продукти метаболізму, виділені з мозку, тонкого кишечника, крові та печінки [12]. При введенні таких ендогенних речовин з тканин тварин, що впадають у природний гіпобіоз у кров білих мишей спостерігалось інгібування секреції гормонів передньою і задньою частками гіпофізу,

зниження локомоторної активності, частоти серцевих скорочень і дихання [13].

Було доведено раціональність і перспективність використання даного методу введення гомойотермних тварин у стан штучного гіпобіозу у хірургічній практиці за характером біохімічних і клінічних змін при дослідженні на щурах. Щурів, яких вводили у стан штучного гіпобіозу за методом «закритої судини», піддавали хірургічному втручанню з використанням різних операцій: резекція легені, часткова гепатектомія, операція на шлунку тощо. При цьому відмічено високий відсоток виживаності тварин [14].

Порівняно з використанням традиційного загального наркозу створення стану штучного гіпобіозу відзначається перевагами: рани майже не кровоточать, діяльність серця, легень і нирок значно загальмовується і це дозволяє проводити операції практично без крововтрати тощо. Крім того, зниження температури тіла відбувається майже одночасно у всіх тканинах, що запобігає післяопераційним ускладненням [15].

Таким чином, можливість створення стану штучного гіпобіозу для гомойотермних тварин відкриває нові перспективи у хірургічній практиці і медицині загалом.

### 3. Мета та задачі дослідження

Мета досліджень – порівняти гематологічні показники щурів у стані штучного гіпобіозу з контролем.

Для реалізації даної мети були поставлені наступні задачі:

1. Провести дослідження та порівняти отримані гематологічні показники гіпобіотичної та контрольної груп.

2. Провести дослідження та порівняти отримані гематологічні показники після гіпобіотичної (24 години після виходу з гіпобіозу) та контрольної груп.

### 4. Матеріали та методи досліджень

Експерименти проводилися відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, Франція, 1985 р.), за загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими І національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

У досліджах використовували білих безпородних щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварин було поділено на три групи: 1<sup>а</sup> – контрольна (інтактні тварини), 2<sup>а</sup> – стан штучного гіпобіозу і 3<sup>а</sup> – через 24 год після виходу зі стану штучного гіпобіозу. У кожній групі тварин було по 5 щурів.

Стан штучного гіпобіозу створювали згідно методу Бахметьєва-Джайя-Анжуса [10] за дії факторів гіперкапнії, гіпоксії і гіпотермії. Для введення в стан штучного гіпобіозу тварин поміщали в герметично закрити камеру, об'єм якої становив 3 дм<sup>3</sup> за температури навколишнього середовища +3–+4 °С. Протягом перебування тварин у камері за таких умов змінюється як температура, так і склад газового середовища: розвивається гіперкапнія (зростає вміст вуг-

лекислого газу) та гіпоксія (зменшується рівень кисню). Через 3–3,5 год в залежності від індивідуальних особливостей у тварин спостерігається зниження ректальної температури з 37 °С до 17 °С; зменшення частоти серцевих скорочень з 380 до 80 ударів за хвилину; тварини повністю втрачають рухомість, реакцію на больовий подразник та зникає рефлекс на положення, що свідчить про розвиток стану штучного гіпобіозу.

Кров відбирали із серцевого м'яза та вимірювали гематологічні показники за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора MINDRAY BC-2800.

Дані представлені у вигляді середнього значення ± SEM (по 5 щурів у групі). Використовували t-критерій Стьюдента для всіх аналізів і різниці значень із  $P \leq 0,05$  розглядали як статистично вірогідні. Всі розрахунки проводили з використанням програмного забезпечення OriginLab, Microsoft Excel для t-тест аналізу.

### 5. Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження показали, що у стані штучного гіпобіозу спостерігається зростання еритроцитів та тромбоцитів, водночас зменшується рівень лейкоцитів. Результати наведені у зведеній табл. 1.

Таблиця 1

Гематологічні показники щурів за штучного гіпобіозу,  $M \pm m$ ,  $n=5$

| Гематологічні показники | Контроль  | Гіпобіоз  | Гіпобіоз, вихід |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------------|
| Лейкоцити               | 4,1±0,12  | 2,8±0,43  | 1,6±0,81        |
| Лімфоцити               | 1±0,51    | 1,4±0,71  | 0,7±0,5         |
| Еритроцити              | 6,79±0,54 | 9,44±0,89 | 7,98±0,72       |
| Тромбоцити              | 402±1,1   | 678±0,71  | 325±1,1         |

Примітка:  $p \leq 0,05$  відносно контролю

Оскільки, основною функцією еритроцитів є газообмін в клітині, тому їх зростання у стані штучного гіпобіозу (це явище ще називається справжній еритроцитоз – підвищення еритроцитів шляхом явища еритропоезу) пояснюється нестачею кисню та підвищенням рівня вуглекислоти, так звані явища: гіпоксії та гіперкапнії. Після виходу з гіпобіозу кількість еритроцитів не приходить до норми.

Головними функціями тромбоцитів є: гемостатична – беруть участь у зупинці кровотечі та у зсіданні крові [15]. Тому, при зростанні кількості тромбоцитів у стані штучного гіпобіозу відбувається самовільне зміцнення стінки клітин, кров стає менш текучою, що позитивно впливає на перебіг короткотривалих оперативних втручань. Тобто, навіть перебуваючи у «короткотривалому штучному сні» відбувається гемостаз завдяки спроможності тромбоцитів до швидкого руйнування під час контакту з пошкодженою стінкою кровоносної судини. Проте через 24 години після виходу з гіпобіозу тромбоцити приходять до норми.

Найголовнішою функцією лейкоцитів є забезпечення клітинного імунітету. Оскільки тварина під час гіпобіозу знаходиться у «короткотривалому сні», її обмінні процеси пригнічуються, дихання мінімізоване, тому імунна система дещо пригнічується [16]. Цими факторами можна пояснити зменшення кілько-

сті лейкоцитів у стані штучного гіпобіозу.

### 6. Висновки

1. У стані штучного гіпобіозу спостерігається зростання еритроцитів та тромбоцитів, водночас зменшується рівень лейкоцитів.

2. Оскільки, основною функцією еритроцитів є газообмін в клітині, тому їх зростання у стані штучного гіпобіозу пояснюється нестачею кисню та підвищенням рівня вуглекислоти, так звані явища: гіпоксії та гіперкапнії.

3. Через 24 години після виходу з гіпобіозу рівень еритроцитів не повертається до рівня контролю, проте рівень тромбоцитів нормалізується.

Детальне дослідження гематологічних показників дасть змогу зрозуміти стан гомеостазу тварин під час дії гіпобіотичних чинників та адаптивні зміни, що відбуваються в організмі після виходу з нього. Ці дослідження необхідні для розуміння шляхів адаптації ссавців до низьких температур, а також пошуку шляхів підтримки довготривалого та безпечного гіпобіозу.

### Література

1. Aslami, H. Induction of a hypometabolic state during critical illness – a new concept in the ICU? [Text] / H. Aslami, N. P. Juffermans // The journal of medicine. – 2010. – Vol. 68, Issue 5. – P. 190–198.
2. Nelson, D. L. Lehninger Principles of Biochemistry [Text] / D. L. Nelson, M. M. Cox. – New York: W. H. Freeman, 2008. – 1100 p.
3. Storey, K. B. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation [Text] / K. B. Storey // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2002. – Vol. 133, Issue 3. – P. 733–754. doi: 10.1016/s1095-6433(02)00206-4
4. Zhenyin, T. 5'-Adenosine monophosphate induced hypothermia reduces early stage myocardial ischemia/reperfusion injury in a mouse model [Text] / T. Zhenyin, Z. Zhaoyang, C. L. Cheng // American Journal of Translational Research. – 2011. – Vol. 3, Issue 4. – P. 351–361.
5. Wilz, M. Comparison of hibernation, estivation and daily torpor in the edible dormouse, *Glis glis* [Text] / M. Wilz, G. Heldmaier // Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology. – 2000. – Vol. 170, Issue 7. – P. 511–521. doi: 10.1007/s00360000129
6. Алехин, Ю. С. Модель зимней спячки у незимнесящего млекопитающего при охлаждении его мозга до 1–4 °C [Текст]: тез. докл. междунар. конф. / Ю. С. Алехин, К. П. Иванов // Адапт. организма к природ. и экосоц. условиям среды. – Магадан, 1998. – С. 6–7.
7. Вихованець, В. І. Історія розвитку моделей штучного пригнічення життєдіяльності живих організмів [Текст] / В. І. Вихованець, С. Д. Мельничук // Науковий вісник НАУ. – 2008. – № 127. – С. 65–68.
8. Калабухов, Н. И. Спячка млекопитающих [Текст]: монография / Н. И. Калабухов. – М.: Наука, 1985. – 168 с.
9. Мельничук, С. Д. Вплив умов штучного гіпобіозу на енергетичний обмін у щурів [Текст] / С. Д. Мельничук, В. І. Вихованець // Український біохімічний журнал. – 2005. – Т. 77, № 3. – С. 131–135.
10. Мельничук, С. Д. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини) [Текст]: монографія / С. Д. Мельничук, Д. О. Мельничук. – К.: Видавничий центр НАУ, 2007. – 220 с.
11. Мельничук, Д. О. Влияние углекислотной среды на сохранность эритроцитов в консервированной крови животных [Текст] / Д. О. Мельничук, С. Д. Мельничук, О. В. Арнаута // Научный вестник НАУ. – 2004. – № 75. – С. 163–165.
12. Мельничук, С. Д. Основні показники кислотно-основного стану крові та обмінних процесів у разі гіпобіозу та загальної анестезії за ампутації кінцівки [Текст] / С. Д. Мельничук // Український біохімічний журнал. – 2001. – Т. 73, № 6. – С. 80–83.
13. Мельничук, С. Д. Особливості кислотно-лужної рівноваги та азотового обміну в організмі щурів за умов штучного гіпобіозу [Текст] / С. Д. Мельничук, С. П. Роговський, Д. О. Мельничук // Український біохімічний журнал. – 1995. – Т. 67, № 4. – С. 67–75.
14. Мельничук, С. Д. Вплив умов штучного гіпобіозу на енергетичний обмін у щурів [Текст] / С. Д. Мельничук, В. І. Вихованець // Український біохімічний журнал. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 131–135.
15. Биохимия [Текст]: учебник / ред. Е. С. Северин. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.
16. Скулачев, В. П. Мембранная энергетика [Текст] / В. П. Скулачев, А. В. Богачев, Ф. О. Каспаринский. – М.: Издательство Московского университета, 2010. – 368 с.

*Дата надходження рукопису 20.10.2017*

**Уманська Анна Олександрівна**, аспірант, кафедра біохімії імені академіка М. Ф. Гулого, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041, E-mail: ann.umanska@ukr.net

**Мельничук Дмитро Олексійович**, доктор біологічних наук, професор, академік НАН та НААН України, голова громадської організації, Громадська організація «Рада Героїв України в АПК», вул. Солом'янська, 2а, м. Київ, Україна, 02000  
E-mail: kalachnyuk\_liliya@nubip.edu.ua

**Калачнюк Лілія Григорівна**, доктор біологічних наук, професор, академік Академії наук вищої освіти України, лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, кафедра біохімії імені академіка М. Ф. Гулого, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041  
E-mail: kalachnyuk\_liliya@nubip.edu.ua