

ДИНАМИКА ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ В ПЛАЗМЕ И ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС В МОДЕЛИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОГО СОЗДАНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ И ДИСЛИПИДЕМИИ

Медведев И.Н., Скорятина И.А.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ, Курск, Россия, e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Цель: оценить динамику патологических проявлений в плазме и эритроцитах крыс в условиях экспериментального последовательного формирования артериальной гипертонии и дислипидемии. В исследование включено 68 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 2,5–3 месяцев. Из них 33 животных составили группу контроля. 35 крыс после последовательного формирования у них артериальной гипертонии, а затем дислипидемии составили экспериментальную группу. Крысы экспериментальной группы в ходе создания у них обоих видов патологии были обследованы 5 раз. У экспериментальных и контрольных крыс применены биохимические, гематологические и статистические методы исследования. При последовательном формировании артериальной гипертонии и дислипидемии у крыс выявлено постепенное усиление процессов перекисного окисления липидов в плазме, понижение количества эритроцитов-дискоцитов и числа измененных обратимо и необратимо их форм. При развитии у крыс артериальной гипертонии и дислипидемии найдено постепенное усиление перекисидации липидов в эритроцитах и повышение их агрегации. У контрольных крыс отмечен стабильно нормальный уровень учитываемых биохимических и гематологических характеристик.

Ключевые слова: модель артериальной гипертонии и дислипидемии, крысы, эритроциты, агрегация, поверхностная геометрия

DYNAMICS OF PATHOLOGICAL MANIFESTATIONS IN PLASMA AND ERYTHROCYTES RATS MODELS OF THE SERIES HYPERTENSION AND DYSLIPIDEMIA

Medvedev I.N., Skoryatina I.A.

Kursk Institute of social education (branch of the institute RSSU (Russian State Social University)), Kursk, Russia, e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Objective: To assess the dynamics of pathological manifestations in plasma and red blood cells of rats in experimental sequential formation of arterial hypertension and dyslipidemia. The study included 68 male rats Wistar aged 2,5–3 months. Of these, 33 animals have made the control group. 35 rats after sequential formation of their hypertension, dyslipidemia, and then made the experimental group. Rats in the experimental group during the creation of both of them types of pathology were examined 5 times. In experimental and control rats used biochemical, hematological and statistical methods. The sequential formation of arterial hypertension and dyslipidemia in rats showed a gradual increase in lipid peroxidation in plasma, decrease in red blood cell count, and the number of discocytes changed reversibly and irreversibly their forms. With the development of the rat arterial hypertension and dyslipidemia found a gradual increase in lipid peroxidation in erythrocytes and increase their aggregation. In control rats observed consistently normal level accounted for biochemical and haematological characteristics.

Keywords: model of arterial hypertension, and dyslipidemia, rat erythrocytes, aggregation, surface geometry

В условиях современности медицинская наука сохраняет в фокусе своего пристального внимания изучение ранних этапов развития различной патологии и начальных механизмов ее реализации [10]. Весьма большой интерес проявляется исследователями к функциональным и реологическим особенностям различных форменных элементов крови [4, 5] и особенно к их наиболее многочисленной популяции – эритроцитам — при различных заболеваниях, в том числе при весьма распространенной в настоящее время сердечно-сосудистой и обменной патологии. Среди них во всем цивилизованном мире одну из лидирующих позиций занимает

артериальная гипертония (АГ), приводящая к широкой инвалидизации населения и вносящая существенный вклад в цифры смертности лиц трудоспособного возраста. В цивилизованных странах на фоне АГ нередко развивается дислипидемия, что весьма негативно сказывается на общем прогнозе. Было замечено, что при развернутой клинической картине АГ, особенно отягощенной обменными нарушениями, отмечаются высокая активность тромбоцитов [9] и ухудшение микрореологических свойств эритроцитов и сосудистого контроля над ними, что существенно снижает эффективность микроциркуляции и интенсивность обмена веществ во всех тканях [6, 7]. Вместе с тем состояние микрореологических характеристик эритроцитов на ранних этапах развития АГ в сочетании с дислипидемией изучено недостаточно.

Отсутствие возможности до конца проследить наиболее ранние этапы возникновения микрореологических нарушений эритроцитов на человеке ввиду выпадения из поля зрения клиницистов лиц с первыми признаками АГ и возникающей на ее фоне дислипидемии диктует потребность проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных с моделированием у них АГ, а затем дислипидемии. В этой связи в работе была поставлена цель: оценить динамику патологических проявлений в плазме и эритроцитах крыс в условиях экспериментального последовательного формирования артериальной гипертонии и дислипидемии.

Методика исследования

В исследование включено 68 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 2,5–3 месяцев, полученных от здоровых самок первым-вторым пометом. Из них 33 животных получали комбикорм производства «Лабораторкорм» (Россия) в полном объеме, не подверглись воздействиям и составили группу контроля. Они были обследованы двукратно: в исходе и в возрасте 4–4,5 месяцев, т.е. одновременно с окончанием наблюдения за экспериментальными крысами. Ввиду отсутствия статистически значимых различий между результатами обоих обследований полученные данные представлены одной цифрой – их средней арифметической. У 35 крыс была сформирована артериальная гипертония путем назначения им на 2 недели кардиовазонефропатогенной полусинтетической диеты, обогащенной холестерином, нагруженной солями двузамещенного фосфорнокислого водного натрия и дефицитной по калию и магнию на фоне ежедневного внутримышечного введения суспензии гидрокортизона ацетата 1,5 мг на 100 г массы тела животного при замене воды для питья на 1%-ный раствор поваренной соли и холодовым воздействием на животных в конце данного 2-недельного воздействия – 4°C в течение 4 ч [1]. Спустя трое суток после формирования АГ эти крысы помещались в тесные клетки по 1 особи на 30 суток и начинали получать высококалорийную диету, состоящую из комбикорма (47%), сладкого сгущенного

молока (44%), растительного масла (8%) и растительного крахмала (1%), что обеспечило следующий состав их рациона: жиры 29,6%, протеины 14,8%, углеводы 55,6%.

Экспериментальные крысы обследовались пятикратно – в исходе, в конце формирования АГ, спустя трое суток после моделирования АГ (в начале дополнительного формирования дислипидемии), через 15 суток дополнительного формирования дислипидемии и в конце ее экспериментального создания [3].

Измерения артериального давления (АД) у животных выполнялись неинвазивно на приборе MLU/4c501 методом наложения хвостовой манжеты (MedLab, Китай). Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме животных выявляли по количеству содержащихся в ней тиобарбитуровая кислота (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» и по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) с учетом уровня антиокислительной активности (АОА) жидкой части крови [2]. В эритроцитах определялись концентрации малонового диальдегида (МДА) и АГП, а также активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [2]. В красных кровяных тельцах энзиматически был оценен уровень холестерина (ХС) набором «Виталдиагностикум» (Россия) и выяснена концентрация общих фосфолипидов (ОФЛ) по содержанию фосфора с расчетом соотношения ХС/ОФЛ. Цитоархитектоника красных кровяных телец определялась с помощью световой фазовоконтрастной микроскопии с подразделением их на дискоциты, обратимо деформированные и необратимо измененные формы [8]. Агрегационную активность эритроцитов выясняли с помощью светового микроскопа в камере Горяева по количеству их агрегатов, количеству агрегированных и не вступивших в агрегацию красных кровяных телец во взвеси отмытых эритроцитов [8]. Результаты обработаны критерием t- Стьюдента.

Результаты исследования

У экспериментальных крыс после формирования АГ отмечено стабильное повышение уровней систолического и диастолического АД. Это сохранялось у крыс и на фоне развития дислипидемии до конца наблюдения (табл.).

У крыс с АГ отмечено повышение в плазме количества АГП и ТБК-активных продуктов. При возникновении у этих животных дислипидемии концентрации АГП и ТБК-продуктов в плазме дополнительно увеличивались, существенно превышая цифры контроля. Выявленное усиление ПОЛ при последовательном моделировании у крыс АГ и дислипидемии оказалось возможно вследствие постепенного ослабления АОА плазмы суммарно на 43,8% (табл.).

При формировании АГ в эритроцитах крыс количество холестерина несколько повышалось, тогда как содержание в их мембранах ОФЛ испытало тенденцию к снижению,

что существенно дополнительно усиливалось в ходе развития дислипидемии, приводя в конечном счете к увеличению градиента ХС/ОФЛ на 43,1%.

В ходе формирования АГ в эритроцитах крыс активировалось ПОЛ за счет ослабления активности их антиоксидантной защиты. Данные изменения достоверно усиливались в ходе последующего развития дислипидемии, вызывая рост АГП и МДА в эритроцитах до $3,02 \pm 0,020$ Д₂₃₃/10¹² эр. и $1,67 \pm 0,014$ нмоль/10¹² эр. Выявленные изменения активности ПОЛ в эритроцитах у модельных животных при формировании у них АГ и дислипидемии оказались возможны в результате суммарной депрессии их каталазы и супероксиддисмутазы на 24,8% и 22,6% соответственно (табл.).

При формировании АГ, а затем дислипидемии в крови у крыс отмечено понижение количества эритроцитов-дискоцитов и повышение количества измененных обратимо и необратимо эритроцитов. При развитии у крыс полной картины двойной патологии найдено увеличение суммы красных кровяных телец в агрегате и количества этих агрегатов при одновременном снижении числа свободных красных кровяных телец на 35,0%, 73,2% и 19,7% соответственно (табл.).

Динамика артериального давления, биохимических и гематологических показателей у экспериментальных крыс

Регистрируемые параметры	Экспериментальное формирование АГ, М±m, n=35		Экспериментальное формирование дислипидемии на фоне АГ, М±m, n=35			Контроль, М±m, n=33
	исходное состояние	окончание формирования АГ	исходное состояние	промежуточный этап	Окончание формирования дислипидемии на фоне АГ	
Систолическое АД, мм рт. ст.	110,4±0,23	152,6±0,41 p<0,01	152,0±0,39 p<0,01	149,9±0,51 p<0,01	152,4±0,51 p<0,01	110,5±0,33
Диастолическое АД, мм рт. ст.	74,2±0,32	94,8±0,33 p<0,01	95,1±0,28 p<0,01	94,6±0,39 p<0,01	95,2±0,42 p<0,01	73,6±0,40
ОХС, ммоль/л	2,18±0,007	2,20±0,009	2,21±0,01	2,50±0,010 p<0,01	2,82±0,011 p<0,01	2,19±0,008
ХС ЛПВН, ммоль/л	1,14±0,009	1,13±0,011	1,16±0,012	1,00±0,010 p<0,05	0,89±0,016 p<0,01	1,17±0,005
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,56±0,008	0,58±0,007	0,57±0,005	0,88±0,009 p<0,01	1,12±0,011 p<0,01	0,55±0,002
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,48±0,006	0,49±0,009	0,48±0,005	0,62±0,008 p<0,01	0,81±0,006 p<0,01	0,47±0,005
ТГ, ммоль/л	1,06±0,009	1,08±0,009	1,07±0,004	1,38±0,009 p<0,01	1,79±0,010 p<0,01	1,05±0,004
ОЛ, ммоль/л	3,02±0,012	3,05±0,008	3,06±0,009	4,28±0,010 p<0,01	5,20±0,12 p<0,01	3,04±0,007
АГП в плазме, Д ₂₃₃ /1мл	1,35±0,007	1,74±0,006 p<0,01	1,78±0,005 p<0,01	2,36±0,009 p<0,01	2,85±0,012 p<0,01	1,38±0,004
ТБК-активные продукты в плазме, мкмоль/л	2,15±0,009	2,91±0,007 p<0,01	2,94±0,008 p<0,01	3,41±0,016 p<0,01	4,20±0,014 p<0,01	2,12±0,008
Антиоксидантный потенциал плазмы, %	28,9±0,15	24,7±0,09 p<0,05	24,8±0,13 p<0,05	22,3±0,10 p<0,01	20,1±0,09 p<0,01	29,0±0,10

ХС эритроцитов, мкмоль/10 ¹² эр.	0,92±0,004	0,94±0,006	0,94±0,007	1,09±0,005 p<0,01	1,16±0,009 p<0,01	0,93±0,005
ОФЛ эритроцитов, мкмоль/10 ¹² эр.	0,49±0,003	0,47±0,004	0,47±0,006	0,45±0,005 p<0,05	0,43±0,009 p<0,01	0,49±0,003
ХС/ОФЛ эритроцитов	1,88±0,003	2,00±0,007 p<0,05	2,00±0,005 p<0,05	2,42±0,009 p<0,01	2,69±0,010 p<0,01	1,89±0,004
АГП эритроцитов, Д ₂₃₃ /10 ¹² эр.	2,04±0,012	2,39±0,010 p<0,01	2,41±0,015 p<0,01	2,88±0,018 p<0,01	3,02±0,020 p<0,01	2,05±0,010
МДА эритроцитов, нмоль/10 ¹² эр.	1,11±0,006	1,26±0,007 p<0,01	1,25±0,009 p<0,01	1,39±0,012 p<0,01	1,67±0,014 p<0,01	1,10±0,006
Каталаза эритроцитов, МЕ/10 ¹² эр.	9274,1±10,60	8400,0±9,80 p<0,01	8410,0±11,50 p<0,01	7900,0±12,30 p<0,01	7430,0±13,10 p<0,01	9300,0±19,40
СОД эритроцитов, МЕ/ 10 ¹² эр.	1815,0±1,02	1700,0±2,10 p<0,05	1705,0±3,05 p<0,05	1660,0±2,72 p<0,01	1480,0±2,84 p<0,01	1820,0±7,54
Дискоциты, %	86,1±0,08	77,5±0,05 p<0,01	77,8±0,07 p<0,01	70,6±0,09 p<0,01	65,0±0,13 p<0,01	85,8±0,07
Обратимо изм. эритроциты, %	7,7±0,14	15,2±0,15 p<0,01	14,8±0,12 p<0,01	20,6±0,16 p<0,01	25,6±0,11 p<0,01	8,1±0,14
Необратимо изм. эритроциты, %	6,2±0,12	7,3±0,14 p<0,01	7,4±0,10 p<0,01	8,8±0,15 p<0,01	9,4±0,16 p<0,01	6,1±0,09
Сумма всех эритроцитов в агрегате	38,0±0,08	45,2±0,05 p<0,01	45,0±0,06 p<0,015	48,8±0,09 p<0,05	51,3±0,10 p<0,01	37,9±0,11
Количество агрегатов	8,6±0,10	10,7±0,09 p<0,01	10,8±0,11 p<0,01	12,6±0,10 p<0,01	14,9±0,13 p<0,01	8,5±0,07
Количество свободных эритроцитов	251,6±0,32	232,6±0,40 p<0,05	233,0±0,48 p<0,05	227,5±0,52 p<0,05	210,1±0,50 p<0,01	249,6±0,17

Условные обозначения: p – найденная достоверность различий показателей с группой контроля.

Обсуждение

В ходе последовательного развития у крыс АГ, а затем дислипидемии отмечено весьма свойственное для человека [10] ослабление антиоксидантного потенциала плазмы, что приводит к постепенному повышению в ней количества АГП и ТБК-активных соединений и ухудшению метаболизма в тканях. Кроме того, активация процессов ПОЛ в плазме неизбежно вызывала альтерацию поверхностных структур форменных элементов крови [6], в том числе наиболее многочисленной их популяции — эритроцитов, что весьма негативно сказывалось на их функциях.

Формирующиеся в эксперименте изменения в соотношении между фракциями липидов мембран красных кровяных телец и активация в них ПОЛ у модельных крыс весьма рано нарушали рецепторные и пострецепторные механизмы их функционирования [18]. Возникающий липидный дисбаланс в мембранах приводил также к отрицательной динамике в регуляции в эритроцитах ионного и антиоксидантного статуса, которая обеспечивала

негативные изменения их метаболизма и структурно-функциональных свойств в сосудах и форменных элементах крови, что начинает проявляться уже в весьма ранние сроки при формировании АГ [10]. Это неизбежно вело к снижению количества отрицательных зарядов, экспонированных на поверхности эритроцитов, ответственных за поддержание клеток в дезагрегированном состоянии. В основе данного явления, видимо, лежало уменьшение в мембранах эритроцитов на фоне активации ПОЛ количества сиаловых кислот, что приводило к выраженному приросту способности эритроцитов к агрегации. Кроме того, создающаяся ситуация во многом благоприятствовала утрате значительной частью эритроцитов своей двояковогнутой формы, затрудняющей процесс их перемещения по сосудам в бассейне микроциркуляции. Возникающие изменения в эритроцитах ухудшают их цитоархитектонику, приводя к повышению в крови обратимо и необратимо измененных их разновидностей [5].

Найденное у модельных крыс усиление агрегации эритроцитов во многом обеспечивалось возникающими изменениями заряда их мембраны по причине деградации на ней имеющих отрицательный заряд гликопротеинов под действием интенсивного ПОЛ [6]. Усиление генерации активных форм кислорода в этих условиях обеспечивало в создаваемой модели оксидативную альтерацию структур мембраны при одновременном повреждении глобулярных протеинов плазмы, способных соединяться в виде мостиков между отдельными эритроцитами и реализовать процесс их агрегации.

Есть основания полагать, что выявленное повышение агрегации эритроцитов у экспериментальных крыс во многом также связано с воздействием катехоламинов, концентрация которых при различных неблагополучиях в организме и особенно АГ в сочетании с дислипидемией может значительно повышаться [10]. Данное повышение во многом имеет компенсаторное значение, так как направлено на интенсификацию метаболизма в испытывающих обменные трудности органах и тканях. Катехоламины действуют через специфические α -адренорецепторы: α_1 , α_{2a} , α_{2b} и α_{2c} . При активации α_1 -рецепторов в качестве посредника выступает система Ca^{2+} -кальмодулин с вовлечением в каскад внутриклеточных реакций фосфатидилинозитола. Активация α_2 -адренорецепторов реализуется путем подавления аденилатциклазы вследствие влияния рецептора-агониста на Gi-белки, приводя к понижению количества цАМФ в эритроцитах [5].

Заключение

Создание у крыс сначала АГ, а затем дислипидемии постепенно ослабляет антиоксидантную защиту плазмы крови и эритроцитов, усиливая в них ПОЛ. Развивающиеся нарушения у экспериментальных животных постепенно ухудшают цитоархитектонику эритроцитов и повышают их агрегационную способность, делая ее сравнимой с таковой у

лиц с АГ и дислипидемией. Созданная модель позволила выяснить выраженность нарушений в плазме и эритроцитах при дебюте последовательного развития АГ и дислипидемии, что весьма характерно для популяций промышленно развитых стран.

Список литературы

1. Антонюк М.В., Королев И.Б., Котельников В.Н. и др. Способ моделирования кардиовасоренальной артериальной гипертензии у крыс. Патент РФ на изобретение № 2327228.
2. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000 – 167 с.
3. Жукова О.Б., Зайцев К.В., Гостюхина А.А., Абдулкина Н.Г., Радзивил Т.Т. Экспериментальное обоснование методологических подходов к коррекции дислипидемии депривацией света [Электронный ресурс] // Журнал «Медицина и образование в Сибири» – 2014. – № 3. – http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php
4. Завалишина С.Ю. Функциональное состояние системы гемостаза у новорожденных телят // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С. 42–45.
5. Завалишина С.Ю., Мальцева Т.С. Микрореологические особенности эритроцитов у регулярно тренирующихся кандидатов и мастеров спорта по легкой атлетике первого зрелого возраста // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19, № 2. – С. 134–135.
6. Завалишина С.Ю., Фадеева Т.С. Функциональные особенности эритроцитов у здоровых молодых людей, не тренирующихся физически // Вестник Российского Университета Дружбы Народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2011. – № 2. – С. 55–62.
7. Кутафина Н.В., Завалишина С.Ю. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2012. – № 1. – С. 30–37.
8. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Кутафина Н.В. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных свойств тромбоцитов и эритроцитов // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-1. – С. 117–120.
9. Савченко А.П., Завалишина С.Ю., Кутафина Н.В. Тромбоцитарная активность при отсутствии физической нагрузки // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 577.

10. Medvedev I.N., Savchenko A.P. and Kiperman Ya. V. Dynamics of the Intravascular Activity of Platelets in Young Men with High Normal Blood Pressure Regularly Practicing Physical Activity. *Biology and Medicine (Aligarh)* 2015, 7:1 BM-069-15.

Рецензенты:

Громнацкий Н.И., д.м.н., профессор, профессор кафедры терапии № 2 Курского государственного медицинского университета, г. Курск;

Жукова Л.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой эндокринологии и диабетологии Курского государственного медицинского университета, г. Курск.