

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 612.117.2:616.12-008.331.1-092.9

*В.С. Айдарова, О.В. Кудокоцева, И.И. Ломакин, Г.А. Бабийчук**Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков***СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ
ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У НОРМО-
И ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС**

Гемореологические показатели двух групп гипертензивных крыс линии SHR (с хронической алкогольной интоксикацией и без таковой) отличаются от аналогичных показателей нормотензивных животных. Эритроциты спонтанно гипертензивных крыс более устойчивы к осмотическим нагрузкам в сравнении с эритроцитами крыс, хронически употребляющих алкоголь на протяжении трех месяцев.

Ключевые слова: реология крови, артериальная гипертензия, хроническая алкогольная интоксикация, эритроциты, осмотическая хрупкость.

Нарушения реологических свойств крови приводят к расстройствам в системе микроциркуляции, затруднению оксигенации тканей и, в конечном итоге, к нарушению функционирования органов и систем [1]. Расстройства в системе гемостаза являются неотъемлемым компонентом патогенеза артериальной гипертензии (АГ) [2].

Одним из факторов внешней среды, влияющим на формирование АГ или усугубляющим его течение, является злоупотребление алкоголем [3, 4].

В этой связи целью работы было изучение некоторых гемореологических показателей у нормотензивных белых беспородных крыс и у гипертензивных крыс линии SHR с хронической алкогольной интоксикацией и без таковой.

Материал и методы. Эксперименты проведены в осенне-зимний период на половозрелых 12–14-месячных крысах, составивших три группы по 5 особей в каждой: белые беспородные крысы – контрольные, и крысы линии SHR (спонтанно-гипертензивные) двух экспериментальных групп (нативные крысы SHR и с ХАИ), в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных» (Страсбург, 1986; Киев, 2001).

Процедуру хронического отравления алкоголем спонтанно-гипертензивных крыс выполняли в соответствии с моделью [5]. Артериальное давление (АД) измеряли непрямой метод по принципу медицинской тонометрии с помощью электрокардиографа «Поли-Спектр» (компания «Нейрософт», Россия). Абсолютное количество эритроцитов в периферической крови определяли общепринятым методом в камере Горяева. Относительную вязкость крови определяли с использованием капиллярного вискозиметра ВК-4. Гематокрит оценивали методом центрифугирования в стеклянных капиллярах (Micromed) и выражали в %. Для оценки уровня доставки кислорода к тканям использовали расчетный показатель k – отношение гематокрита к вязкости крови [6]. Распределение эритроцитов по индексу сферичности устанавливали по зависимости осмотической хрупкости, используя физико-математическую модель гипотонического гемолиза эритроцитов в растворе непроникающего вещества [7]. Основные формы эритроцитов соответствовали следующим интервалам индекса сферичности: сфероциты (сфероциты + сферостоматоциты + стоматоциты III) – (1–1,3); стоматоциты (стоматоциты II и I + нор-

моциты) – 1,3–1,7; «нормоциты» (дискоциты) 1,7–2,1 и «уплощенные» дискоциты – 2,1–3.

Для статистической обработки данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Расхождения между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Мониторинг АД у беспородных белых крыс подтвердил стабильность регистрируемых показателей при цифрах АД, равных 126/95, что соответствует усредненным данным литературы для нормотензивных животных [8], табл. 1.

Таблица 1. Показатели САД и ДАД для нормо- и гипертензивных крыс, ($M \pm m$) мм рт. ст.

Показатель	Группы крыс		
	контроль	SHR	SHR+ХАИ
САД	126,6±3,0	221,1±6,4*	223,5±4,1*
ДАД	94,7±2,6	129,3±4,2*	119,2±4,6*

Примечания: 1. Хроническая алкогольная интоксикация.

2. * $p < 0,05$ – различия статистически значимы по сравнению с контролем.

На модели чистой линии крыс SHR, спонтанно развивающей хроническую гипертензию без каких-либо предшествующих первичных заболеваний, показано, что среднее АД, равное 221/129, на 75 % превышает цифры САД и на 73 % – ДАД в сравнении с соответствующими показателями для беспородных нормотензивных крыс.

Известно, что употребление больших количеств алкоголя увеличивает риск гипертензии [3, 4], однако связь между его умеренным потреблением и АД остается спорной [9]. Результаты наших исследований показали, что хроническая алкогольная интоксикация на протяжении трех месяцев достоверно не изменяет показатели как САД, так и ДАД у генетически детерминированных крыс со спонтанной гипертензией (табл. 1).

Проведенные нами эксперименты показали достоверные различия в количестве циркулирующих эритроцитов, вязкости периферической крови и показателях гематокрита

у спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR. Данные показатели превосходили аналогичные показатели у нормотензивных крыс на 41, 81 и 17 % соответственно (табл. 2). У животных со спонтанной гипертензией был достоверно снижен и уровень доставки кислорода к тканям (в сравнении с нормотензивными крысами). Хроническая алкогольная интоксикация крыс линии SHR приводила к достоверному снижению количества эритроцитов в периферической крови, вязкости крови и цифр гематокрита, а также повышению коэффициента k по сравнению с крысами, не употребляющими алкоголь.

Возрастание гематокрита связано с повышенным уровнем эритроцитов, что закономерно приводит к повышению вязкости крови, причем зависимость эта носит не прямо пропорциональный, а экспоненциальный характер [1, 2]. С точки зрения гемодинамики возрастание гематокрита сопровождается снижением доставки кислорода к тканям и приводит к тканевой гипоксии [2]. Уровень доставки кислорода к тканям (отношение гематокрита к вязкости крови), по данным наших исследований, достоверно ниже в двух исследуемых группах спонтанно-гипертензивных крыс по сравнению с нормотензивными (табл. 2).

Хроническая алкогольная интоксикация приводит к снижению количества красных кровяных клеток, что согласуется с данными других авторов [10, 11]. Этот факт изменения абсолютного числа эритроцитов в периферической крови объясняет и изменения (снижение) цифр гематокрита и

Таблица 2. Некоторые гемореологические показатели для нормо- и гипертензивных крыс

Показатель	Группы крыс		
	контроль	SHR	SHR+ХАИ
Кол-во эритроцитов в 1мл периферической крови (10^9)	4,4±0,4	6,2±0,3*	5,3±0,2 ⁰
Гематокрит, %	36,8±1,1	43,3±1,8*	39,4±2,2 ⁰
Вязкость периферической крови	3,7±0,4	6,7±0,2*	5,6±0,3* ⁰
Уровень доставки кислорода к тканям	9,94	6,46*	7,04*

Примечание. $p < 0,05$; * различия статистически значимы по сравнению с контролем; ⁰ различия статистически значимы по сравнению с группой SHR.

Здесь и в табл. 3 и 4.

вязкости крови у крыс с хроническим потреблением этанола.

Анализ кривых осмотической хрупкости для экспериментальных групп SHR и SHR с хронической алкогольной интоксикацией свидетельствует, что эритроциты крыс SHR более устойчивы к осмотическим нагрузкам, в то время как эритроциты крыс группы SHR с хронической алкогольной интоксикацией обладают повышенной осмотической хрупкостью. Так, 50 % эритроцитов периферической крови крыс линии SHR гемолизируют в растворах NaCl осмолярностью 150 мОсм/л (~ 0,45% NaCl), в то время как этот показатель для эритроцитов контрольной группы нормотензивных крыс и крыс группы SHR с хронической алкогольной интоксикацией равен 155 мОсм/л (~ 0,465% NaCl) и 172 мОсм/л (~ 0,515% NaCl) соответственно.

На основании данных осмотической хрупкости нами рассчитан процент гемолиза в суспензии эритроцитов крыс контрольной группы в зависимости от концентрации NaCl во внеклеточном растворе (табл. 3).

Таким образом, в суспензии эритроцитов периферической крови крыс линии SHR с наследственно детерминированной АГ даже при такой высокой гипотонии остается до 10 % непрогемолизированных эритроцитов, что достоверно выше в сравнении с другими группами (контрольной и SHR+ХАИ). Повышенную устойчивость эритроцитов в группе крыс линии SHR можно объяснить большим количеством красных клеток периферической крови уплощенной формы – (15,58±4,16) %, по сравнению с другими группами, в которых доля этих клеток составляет около 3,6–3,8 %.

Изменения гемореологических показателей тесно связаны с изменением структурно-функциональных особенностей мембран эритроцитов. Проанализировав кривые осмотической хрупкости и проанализировав графики плотности распределения эритроцитов по индексу сферичности, определяли соотношение форм эритроцитов в периферической крови трех исследуемых групп (табл. 4).

Можно отметить, что популяции эритроцитов в группах SHR и SHR+ХАИ более

Таблица 3. Гемолиз эритроцитов нормо- и гипертензивных крыс, %

Концентрация NaCl, %	Группы крыс		
	контроль	SHR	SHR+ХАИ
0,9	0	0	0
0,8	0	2,75±2,44*	2,69±2,23*
0,7	0	6,75±3,00*	7,90±1,77*
0,6	2,38±1,79	10,60±2,71*	20,36±4,33 ⁰ *
0,5	27,25±7,61	22,73±6,78	55,62±5,54 ⁰ *
0,4	94,57±1,75	60,63±16,46*	93,70±2,21 ⁰
0,3	96,02±2,06	91,62±2,22*	98,39±1,13 ⁰

Так, при концентрации NaCl, равной 0,5 %, гемолиз эритроцитов составил (27,25±7,61)% в контроле, (22,73±6,78)% в группе SHR и (55,62±5,54)% в группе SHR+ХАИ. При концентрации NaCl, равной 0,3 %, гемолиз эритроцитов составил (96,02±2,06), (91,62±4,22) и (98,39±1,13) % соответственно.

гетерогенны, чем эритроцитов периферической крови нормотензивных контрольных крыс. Так, в периферической крови крыс линии SHR содержание дискоцитов с индекса сферичности 1,3–1,7 и 1,7–2,1 составило 75,45 % (при 95,35 % у беспородных крыс и 84,4 % у крыс линии SHR + ХАИ).

Таблица 4. Соотношение форм эритроцитов по индексу сферичности у нормо- и гипертензивных крыс, %

Индекс сферичности	Группы крыс		
	контроль	SHR	SHR+ХАИ
1,0÷1,3	0,88±0,81	8,98±2,29*	12,0±2,10*
1,3÷1,7	45,84±7,76	32,48±3,48*	54,2±6,18 ⁰
1,7÷2,1	49,51±6,64	42,97±1,15	30,2±6,08 ⁰ *
2,1÷3,1	3,77±2,14	15,58±4,2*	3,6±2,01 ⁰

В исследуемых группах гипертензивных животных достоверно (в сравнении с контролем) возрастает количество эритроцитов предгемолитической формы (сфероциты): $(8,98 \pm 2,29)\%$ в группе SHR и $(12,0 \pm 2,10)\%$ в группе SHR+ ХАИ. В контрольной группе этот показатель равен $(0,88 \pm 0,81)\%$. Число дегенеративных (уплощенных форм) эритроцитов у крыс SHR было выше более чем в 4 раза по сравнению с нормотензивным контролем.

Дегенеративные формы эритроцитов являются менее полноценными, чем дискоциты, с точки зрения микроциркуляции, кислородтранспортной функции и способности к деформации, поэтому увеличение их количества является неблагоприятным признаком [12, 13]. Переход из дискоидной формы в недискоидную рассматривается многими авторами как естественный процесс старения эритроцитов [12, 14]. Нарушения кровообращения ишемического типа сопровождаются ускорением процессов дегенерации эритроцитов и приводят к возрастанию числа измененных форм. При артериальной гипертензии не исключено, что одним из факторов, повреждающих эритроциты, могут являться значительные гидродинамические перегрузки вследствие повышенного системного давления [14].

Выявленные нами изменения поверхностной архитектоники эритроцитов крыс линии SHR, вероятнее всего, являются следствием нарушения структурно-функциональной организации клеточных мембран, которое может быть основополагающим фактором реализации патологических состояний врожденного и приобретенного генеза.

Список литературы

1. *Муравьев А.В.* Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови) / А.В. Муравьев, С.В. Чепоров. – Ярославль: Изд-во Ярославского гос. ун-та, 2009. – 54 с.
2. Микроциркуляция и реология крови при нарушениях кровообращения / И.А. Тихомирова, А.В. Муравьев, Е.П. Петрученко, С.Г. Михайлова. – Ярославль: Изд-во «Канцлер», 2011. – 103 с.
3. *Бабушкина А.В.* О проблеме неконтролируемой артериальной гипертензии / А.В. Бабушкина // Украинский медицинский журнал. – 2010. – Вып. 79, № 5. – С. 67–71.
4. *Моисеев В.С.* Алкоголь и болезни сердца: Руководство для врачей / В.С. Моисеев, А.А. Шелепин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 168 с.
5. Регенеративно-пластическая терапия алкогольных висцеропатий / В.И. Грищенко, Г.А. Коваленко, А.Ю. Петренко и др. – К.: Наук. думка, 2010. – 152 с.
6. *Stoltz J.E.* New trends in clinical hemorheology: an introduction to the concept of the hemorheological profil / J.E. Stoltz // Schwetz: Med. Wochenschr. – 1991. – Vol. 43, Suppl. – P. 4–49.

Выводы

1. У крыс линии SHR регистрируются достоверно высокие цифры артериального давления, повышение количества циркулирующих эритроцитов, вязкости периферической крови, показателя гематокрита и уровня доставки кислорода к тканям (в сравнении с нормотензивными крысами).

2. Хроническая алкогольная интоксикация на протяжении трех месяцев достоверно не изменяет показатели как САД, так и ДАД у генетически детерминированных крыс со спонтанной гипертензией.

3. Хроническая алкогольная интоксикация крыс линии SHR на протяжении трех месяцев приводила к достоверному снижению количества эритроцитов периферической крови, вязкости крови и цифр гематокрита по сравнению с крысами SHR, не употребляющими алкоголь.

4. Популяция эритроцитов крыс SHR характеризовалась достоверно высоким числом дегенеративных (уплощенных) форм и сфероцитов в сравнении с нормотензивным контролем, тогда как у крыс группы SHR с хронической алкогольной интоксикацией наблюдалось достоверное снижение числа дискоцитов и увеличение эритроцитов сфероидной формы.

5. Эритроциты крыс группы SHR более устойчивы к осмотическим нагрузкам в сравнении с эритроцитами группы SHR с хронической алкогольной интоксикацией, которые обладают повышенной осмотической хрупкостью.

Перспективной является разработка и научное обоснование методов антигипертензивной терапии, позволяющих корректировать не только показатели АД, но и влиять на процессы микроциркуляции и связанные с ними реологические показатели крови.

7. Gordiyenko O.I. Estimation of erythrocyte population state by the spherical index distribution / O.I. Gordiyenko, Yu.E. Gordiyenko, V.O. Makedonska // *Bioelectrochemistry*. – 2004. – Vol. 62, № 2. – P. 119–122.
8. Динамика артериального давления и количественных показателей эритроцитов у крыс SHR в ранние сроки формирования артериальной гипертензии / М.Б. Плотников, О.И. Алиев, А.М. Анищенко и др. // *Российский физиологический журнал*. – 2015. – № 7. – С. 822–828.
9. Briasoulis A. Alcohol consumption and the risk of hypertension in men and women: A systematic review and meta-analysis / A. Briasoulis, V. Agarwal, F.H. Messerli // *J. Clin. Hypertens (Greenwich)*. – 2012. – № 14. – P. 792–798.
10. Лелевич А.В. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантный статус эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации крыс / А.В. Лелевич // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2008. – Т. 24, № 4. – С. 46–49.
11. The effects of cigarette smoking and alcohol consumption on blood haemoglobin, erythrocytes and leucocytes: a dose related study on male subjects / T.P. Whitehead, D. Robinson, S.L. Allaway, A.C. Hale // *Clinical laboratory haematology*. – 1995. – Vol. 17, № 2. – P. 131–138.
12. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В.В. Зинчук // *Успехи физиологических наук*. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 66–78.
13. Нарушения реологических свойств эритроцитов у больных стенокардией напряжения III функционального класса в сочетании с гипертонической болезнью и их коррекция / А.В. Кодин, М.В. Березин, А.М. Березина и др. // *Вестник Ивановской мед. академии*. – 2008. – Т. 13, № 1–2. – С. 40–45.
14. Алиев О.И. Фармакологическая коррекция синдрома повышенной вязкости крови при сердечно-сосудистой патологии: автореф. дис. ... докт. мед. наук / О.И. Алиев. – Томск, 2004. – 43 с.

В.С. Айдарова, О.В. Кудокоцева, І.І. Ломакін, Г.О. Бабійчук

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЯКИХ ГЕМОРЕОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У НОРМО- ТА ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ

Гемореологічні показники двох груп гіпертензивних щурів лінії SHR (з хронічною алкогольною інтоксикацією та без такої) відрізняються від аналогічних показників нормотензивних тварин. Еритроцити спонтанно гіпертензивних щурів більш стійкі до осмотичних навантажень в порівнянні з еритроцитами щурів, які хронічно вживали алкоголь протягом трьох місяців.

Ключові слова: реологія крові, артеріальна гіпертензія, хронічна алкогольна інтоксикація, еритроцити, осмотична хрупкість.

V.S. Aidarova, O.V. Kudokotseva, I.I. Lomakin, G.A. Babiychuk

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SOME HEMORHEOLOGICAL INDICES IN NORMO- AND HYPERTENSIVE RATS

Hemorheological indices of two groups of hypertensive SHR rats (with chronic alcohol intoxication and without it) differ from those of normotensive animals. Red blood cells of spontaneously hypertensive rats are more resistant to osmotic stress as compared to red blood cells of the rats chronically drinking alcohol for 3 months.

Key words: blood rheology, arterial hypertension, chronic alcohol intoxication, erythrocytes, osmotic fragility.

Поступила 26.07.16