

И. И. Дигурова, А. Г. Гушин

Влияние стрессоустойчивости на гемореологические показатели в норме и при ортостатическом стрессе

На экспериментальной модели ортостатического стресса у крыс с различной стрессоустойчивостью изучены микрогемореологические показатели. У животных с низкой стрессоустойчивостью наблюдаются невысокие исходные значения индекса деформируемости эритроцитов, снижающиеся под действием стрессового фактора.

Ключевые слова: ортостатический стресс, крысы, стрессоустойчивость, стрессонеустойчивость, микрогемореологические показатели крови, агрегация эритроцитов, деформируемость эритроцитов.

I. I. Digurova, A. G. Gushchin

Influence of Stress-Resistance on Hemorheological Indices in Norm and under Orthostatic Stress

On the experimental model of orthostatic stress microhemorheological indices of stress-resistant and stress-irresistant rats were studied. The obtained data demonstrate that stress-irresistant rats have a low level of erythrocyte deformability in norm. This index has been decreased under stress influence.

Keywords: an orthostatic stress, a rat, stress-resistance, stress-irresistance, microrheological indices of blood, aggregation of erythrocytes, deformability of erythrocytes.

Введение

Изучение процессов адаптации организма к действию экстремальных факторов различного генеза является одной из актуальных задач физиологии и практической медицины. При вынужденном ограничении подвижности, мышечных нагрузках, гипо- и гипертермии, переводе тела в антиортостатическое положение наблюдается изменение гемореологического статуса [1, 6, 8, 9, 16, 17, 18, 19, 20, 23]. Это снижает эффективность кровотока на уровне сосудов микроциркуляции [10, 12, 22, 24]. Несмотря на большое количество работ, посвященных исследованию действия на организм экстремальных факторов, гемореологические механизмы его адаптационных и компенсаторных реакций недостаточно изучены. Литературные данные об изменениях реологических показателей крови порой противоречивы. Это затрудняет разработку методов контроля над состоянием организма и коррекции возможных негативных последствий стресса.

В катастрофы природного или техногенного характера, ситуации, приводящие к иммобилизации, предельной физической нагрузке и другим стрессам, могут попасть люди или животные, разные по стрессоустойчивости. Однако в литературе мало освещены особенности изменений

микрогемореологического статуса под влиянием экстремальных воздействий у индивидуумов с различной чувствительностью к действию стрессовых факторов.

В связи с вышесказанным **целью работы** явилось исследование влияния стрессоустойчивости на микрогемореологические показатели в норме и при ортостатическом стрессе.

Материалы и методы

Экспериментальный материал получен в острых опытах на белых беспородных половозрелых крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария и не имевших видимых признаков заболеваний [5, 11]. Все крысы были не адаптированы к стрессу и не наркотизированы. Разброс по массе в каждой серии не превышал $\pm 10\%$. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» (1985) и требованиями Женевской конвенции “International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals” (Geneva, 1990). В каждой серии исследования были синхронизированы по времени суток.

Стрессоустойчивость оценивали по времени плавания до полного утомления с грузом, составляющим 10 % от массы тела [13]. Животных помещали в сосуд объемом $15 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$ по одному. Критерием наступления полного утомления служило погружение головы крысы под воду в течение 5 секунд. Крысы, длительность плавания у которых при рандомизации была больше или меньше среднего времени плавания на 35 %, отбирались для эксперимента. Время плавания было определено у 50 крыс, доставленных одновременно из одного питомника. В среднем по группе время плавания с грузом до полного утомления составило 11,6 мин. Следовательно, после рандомизации были отобраны крысы, у которых время плавания составило более 15,7 мин (2 % животных), и крысы, у которых время плавания было менее 7,5 мин (1 % животных). Затем эти крысы подвергались 45-минутному ортостатическому стрессу.

Ортостатический стресс у крыс вызывали помещением их на 45 минут вниз головой под углом 90° к горизонтальной поверхности в пластиковых клетках-футлярах, закрепленных на подставке. Их объем составлял $(0,4-0,6) \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$. В съемной хвостовой части было сделано отверстие для хвоста. Такая клетка ограничивала естественную свободу движения. В носовой ее части имелось отверстие диаметром около 2,5 см, через которое крыса могла дышать. Для исключения перегрева животного в футляре были сделаны 12–15 отверстий диаметром 2–4 мм.

Изучение гемореологических показателей проводилось с помощью микрометодов, что позволило изучать гемореологические изменения в

динамике на одних и тех же животных. Забор крови из хвостовой вены производился у каждой крысы до воздействия стрессового фактора и сразу после его окончания. Для расширения вен перед взятием крови хвост подогревался теплым воздухом [5]. Деформируемость эритроцитов определяли фильтрационным методом, что позволило создать модель, близкую к естественным условиям микроциркуляции [21].

Фильтрация осуществлялась через фильтры с диаметром пор 2–4,5 мкм [7,15]. Индекс деформируемости дважды отмытых эритроцитов (ИДЭ) рассчитывали по отношению времени фильтрации физиологического раствора ко времени фильтрации суспензии с гематокритным показателем 0,02. Коэффициент вариации при десятикратном исследовании одной пробы составил 5,4 %.

Индекс агрегации эритроцитов (ИАЭ) определяли методом оптической микроскопии в камере Горяева с визуальным анализом и рассчитывали по отношению числа агрегатов к числу не агрегированных эритроцитов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета "Open Office.org". Статистическая обработка включала оценку достоверности различий средних с использованием t-критерия Стьюдента или непараметрических критериев. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Данные представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1.

Таблица 1

Изменение индексов агрегации и деформируемости эритроцитов при ортостатическом стрессе у крыс с высокой стрессоустойчивостью

Показатели	До стресса	После стресса
ИАЭ, отн. ед.	$0,27 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$
ИДЭ, отн. ед.	$0,49 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,02^*$

Примечание: * – $p < 0,001$.

Таблица 2

Изменение индексов агрегации и деформируемости эритроцитов при ортостатическом стрессе у крыс с низкой стрессоустойчивостью

Показатели	До стресса	После стресса
ИАЭ, отн. ед.	$0,27 \pm 0,06$	$0,34 \pm 0,04^*$
ИДЭ, отн. ед.	$0,35 \pm 0,06$	$0,28 \pm 0,04^{**}$

Примечание: * – $p < 0,02$; ** $p < 0,05$.

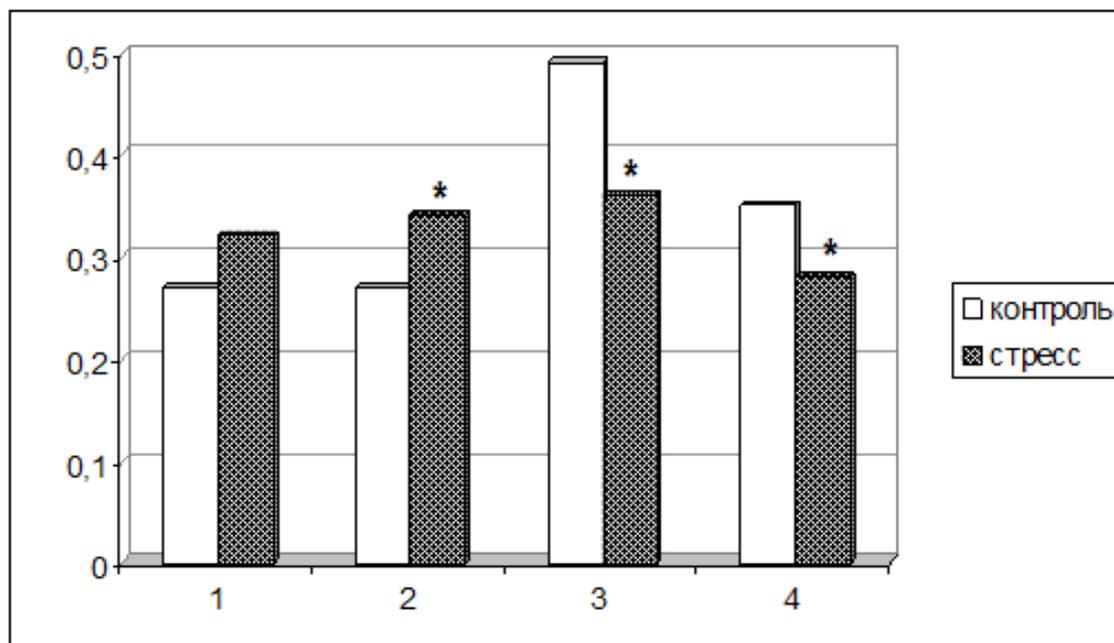


Рис. 1. Микрореологические показатели при ортостатическом стрессе у крыс с высокой и низкой стрессоустойчивостью

1 – ИАЭ у крыс с высокой стрессоустойчивостью; 2 – ИАЭ у крыс с низкой стрессоустойчивостью; 3 – ИДЭ у крыс с высокой стрессоустойчивостью; 4 – ИДЭ у крыс с низкой стрессоустойчивостью.

По вертикальной оси индексы агрегации и деформируемости эритроцитов в относительных единицах.

* – достоверный результат.

Средние по группам контрольные значения индекса агрегации эритроцитов у стрессоустойчивых и стрессонеустойчивых животных были одинаковы (0,27 отн. ед.). Исходное значение индекса деформируемости эритроцитов у крыс с высокой стрессоустойчивостью в среднем по группе составляло 0,49 отн. ед., а у крыс с низкой стрессоустойчивостью – 0,35 отн. ед.

Ранее в наших исследованиях были установлены медианы для микрореологических показателей у крыс, не разделенных по стрессоустойчивости ($n=150$), доставленных из того же питомника [4]. Для индекса агрегации эритроцитов это значение было равно 0,31 отн. ед., а для индекса деформируемости эритроцитов – 0,43 отн. ед. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о влиянии стрессоустойчивости на исходный уровень индекса деформируемости эритроцитов. Это согласуется с данными литературы о том, что деформируемость эритроцитов активных крыс достоверно выше по сравнению с данным показателем у пассивных животных [8].

В результате стрессорного воздействия у крыс с высокой стрессоустойчивостью не отмечено статистически значимых изменений индекса агрегации эритроцитов. В группе крыс с низкой стрессоустойчивостью отмечено статистически значимое повы-

шение исследуемого показателя на 26 % ($p<0,02$) по сравнению с соответствующим контролем.

После стресса в обеих группах отмечено снижение индекса деформируемости эритроцитов. У животных с высокой стрессоустойчивостью произошло уменьшение этого показателя в среднем по группе на 27 % ($p<0,001$) по сравнению с соответствующим контролем. Такой характер изменений согласуется с установленными нами ранее закономерностями о зависимости микрогемореологических сдвигов от исходных значений при разных видах экстремальных воздействий: индекс деформируемости эритроцитов снижался при высоких контрольных цифрах и увеличивался при низком исходном уровне [2, 3]. Также эти результаты соответствуют данным, полученным другими авторами, о повышении индекса деформируемости после плавания, 40-минутной иммобилизации, перегревании при разных скоростях сдвига и низких исходных значениях этого показателя [8, 14].

В группе крыс с низкой стрессоустойчивостью после стрессового воздействия, несмотря на невысокие контрольные цифры, индекс деформируемости также уменьшился. Снижение составило 20 % ($p<0,05$) по сравнению с соответствующим контролем.

Таким образом, у стрессонеустойчивых животных более выражены негативные последствия ортостатического стресса.

Заключение

У животных с низкой стрессоустойчивостью наблюдаются невысокие исходные значения индекса

деформируемости эритроцитов, и под воздействием ортостатического 45-минутного стресса происходит дальнейшее снижение этого показателя. Полученные закономерности могут быть использованы в качестве критериев стрессоустойчивости.

Библиографический список

1. Викулов, А. Д. Реологические свойства крови у спортсменов разной квалификации [Текст] / А. Д. Викулов // Нижегородский медицинский журнал. – 1998. – № 3. – С. 26–29.
2. Дигурова, И. И. Анализ гемореологического статуса и функции крови при ортостатическом стрессе у крыс [Текст] / И. И. Дигурова, А. Г. Гушин // Ярославский педагогический вестник. – 2011. – № 1. – Т. 3 (Естественные науки). – С. 98–100.
3. Дигурова, И. И. Анализ гемореологического статуса при 12-часовой иммобилизации у крыс [Текст] / И. И. Дигурова // Вестник КрасГАУ. – 2011. – № 4. – С. 115–117.
4. Дигурова, И. И. Применение кластерного анализа для оценки микрогемореологических показателей у крыс в норме [Текст] / И. И. Дигурова, А. Г. Гушин, А. А. Шипов // Ярославский педагогический вестник. – 2011. – № 3. – Т. 3. Естественные науки. – С. 71–73.
5. Западнюк, И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте [Текст] / И. П. Западнюк [и др.]. – Киев : Наукова думка, 1983. – С. 3–23.
6. Зубарева, Е. В. Функциональные и микрогемореологические свойства лейкоцитов при экзогенном перегревании в опытах *in vivo* и *in vitro* [Текст] : дис. ... канд. биол. н. / Е. В. Зубарева. – Ярославль, 2011. – 156 с.
7. Козинец, Г. И. Оценка деформабельности эритроцитов методом фильтрации [Текст] / Г. И. Козинец [и др.] // Лаб. дело. – № 11. – С. 15–17.
8. Марьянских, В. В. Исследование вязкоэластичных свойств мембран эритроцитов беспородных белых крыс с различным уровнем двигательной активности в ответ на стрессы различной этиологии и оценка деформируемости эритроцитов людей с гипертонией [Текст] : дис. ... канд. биол. н. / В. В. Марьянских. – Тюмень, 2007. – 121 с.
9. Мельников, А. А. Комплексный анализ факторов, взаимосвязанных с реологическими свойствами крови у спортсменов [Текст] : дис. ... докт. биол. н. / А. А. Мельников. – Ярославль, 2004. – 324 с.
10. Муравьев, А. В. Гемореология : перспективы развития / А. В. Муравьев [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – № 2(22). – С. 4–17.
11. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы : лабораторные животные [Текст] / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков. – СПб. : Изд-во «Лань», 2001. – 464 с.
12. Плотников, М. Б. Лекарственные препараты на основе диквертина / М. Б. Плотников, Н. А. Тюкавина, Т. М. Плотникова. – Томск : Изд-во Том. ун-та, 2005. – 228 с.
13. Пошивалов, В. П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах [Текст] / В. П. Пошивалов. – М. : Деп. В ВИНТИ, 1978. – №3164 – 78.
14. Сайфиев, Р. Р. Исследование деформируемости эритроцитов млекопитающих с использованием усовершенствованного эктацитометра [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. н. / Р. Р. Сайфиев. – Тюмень, 2002. – 19 с.
15. Сигал, В. Л. Фильтрационные методы определения деформационных (вязко-упругих) свойств мембран биологических клеток (обзор литературы) [Текст] / В. Л. Сигал // Лаб. дело. – 1989. – № 5. – С. 4–9.
16. Федоров, Б. М. Стресс и система кровообращения [Текст] / Б. М. Федоров. – М. : Медицина, 1991. – 320 с.
17. Федорова, М. З. Функциональные свойства и реактивность лейкоцитов крови при измененных состояниях организма, вызванных факторами различной природы [Текст] : дис. ... докт. биол. н. / М. З. Федорова. – Ярославль, 2002. – 296 с.
18. Чирикова, О. А. Факторы, определяющие процесс адсорбции высокомолекулярных белков плазмы крови на мембранах эритроцитов при мышечных нагрузках [Текст] : дис. ... канд. биол. н. / О. А. Чирикова. – Ярославль, 2006.
19. Brun I.F. The triphasis effects of exercise on blood rheology: Which relevance to physiology and pathophysiology? // Clin. Hemorheol. and Microcirc., 1998. – v. 19 – P. 89.
20. Hart, R. Experimental antileukocyte interventions in cerebral ischemia / R. Hart [et al] // J. Cerebral Blood Flow Metabolism. – 1996. – Vol. 16. – № 6. – P. 1108–1119.
21. Leblond P. F., Coulombe L. The measurement of erythrocyte deformability using micropore membranes. F sensitive technique with clinical applications // J. Lab. and clin. med. – 1979. – Vol. 94, № 1. – P. 133–143.
22. Pries A. R. Rheology of microcirculation / A. R. Pries, T. Secomb // Clin. Hemorheol. and Microcirc.-2003. – Vol. 29. – P. 143–148.
23. Ritter, L. S. Leukocyte accumulation and hemodynamic changes after stroke / L.S. Ritter [et al] // Stroke. – 2000. – Vol. 31. – P. 1153–1161.

24. Stoltz J. F. Hemorheology in practice: an introduction to the concept of a hemorheological profile / J. F. Stoltz, M. Donner, S. Muller // Rev. Port. Hemorreol. – 1991. – Vol. 5. – P. 175–188.

Библиографический список

1. Vikulov, A. D. Reologicheskiye svoystva krovi u sportsmenov raznoy kvalifikatsii [Tekst] / A. D. Vikulov // Nizhegorodskiy meditsinskiy zhurnal. – 1998. – № 3. – S. 26–29.
2. Digurova, I. I. Analiz gemoreologicheskogo statusa i funktsii krovi pri ortostaticheskom stresse u kry's [Tekst] / I. I. Digurova, A. G. Gushchin // Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik. – 2011. – № 1. – Т. 3 (Yestestvenny'ye nauki). – S. 98–100.
3. Digurova, I. I. Analiz gemoreologicheskogo statusa pri 12-chasovoy immobilizatsii u kry's [Tekst] / I. I. Digurova // Vestnik KrasGAU. – 2011. – № 4. – S. 115–117.
4. Digurova, I. I. Primeneniye klasternogo analiza dlya otsenki mikrogemoreologicheskikh pokazateley u kry's v norme [Tekst] / I. I. Digurova, A. G. Gushchin, A. A. Shipov // Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik. – 2011. – № 3. – Т. 3 (Yestestvenny'ye nauki). – S. 71–73.
5. Zapadnyuk, I. P. Laboratorny'ye zhitovny'ye. Razvedeniye, sodержaniye, ispol'zovaniye v eksperimente [Tekst] / I. P. Zapadnyuk [i dr.]. – Kiyev : Naukova dumka, 1983. – S. 3–23.
6. Zubareva, Ye. V. Funktsional'ny'ye i mikreologicheskiye svoystva leykotsitov pri ekzogennom peregrevaniy v opytah in vivo i in vitro [Tekst] : dis. ... kand. biol. n. / Ye. V. Zubareva. – Yaroslavl', 2011. – 156 s.
7. Kozinets, G. I. Otsenka deformabel'nosti eritrotsitov metodom fil'tratsii [Tekst] / G. I. Kozinets [i dr.] // Lab. delo. – № 11. – S. 15–17.
8. Mar'inskih, V. V. Issledovaniye vyazkoelastichny'kh svoystv membran eritrotsitov besporodny'kh bely'kh kry's s razlichny'm urovnem dvigatel'noy aktivnosti v otvet na stressy razlichnoy etiologii i otsenka deformiruyemosti eritrotsitov lyudey s gipertoniyei [Tekst] : dis. ... kand. biol. n. / V. V. Mar'inskih. – Tyumen', 2007. – 121 s.
9. Mel'nikov, A. A. Kompleksny'y analiz faktorov, vzaimosvyazanny'kh s reologicheskimi svoystvami krovi u sportsmenov [Tekst] : dis. ... dokt. biol. n. / A. A. Mel'nikov. – Yaroslavl', 2004. – 324 s.
10. Murav'yev, A. V. Gemoreologiya : perspektivy razvitiya / A. V. Murav'yev [i dr.] // Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya. – 2007. – № 2(22). – S. 4–17.
11. Nozdrachev, A. D. Anatomiya kry'sy : laboratorny'ye zhitovny'ye [Tekst] / A. D. Nozdrachev, Ye. L. Polyakov. – SPb. : Izd-vo «Lan», 2001. – 464 s.
12. Plotnikov, M. B. Lekarstvenny'ye preparaty na osnove dikvertina / M. B. Plotnikov, N. A. Tyukavina, T. M. Plotnikova. – Tomsk : Izd-vo Tom. un-ta, 2005. – 228 s.
13. Poshivalov, V. P. Etologicheskiy atlas dlya farmakologicheskikh issledovaniy na laboratorny'kh gryzunakh [Tekst] / V. P. Poshivalov. – M. : Dep. V VINITI, 1978. – № 3164 – 78.
14. Sayfuyev, R. R. Issledovaniye deformiruyemosti eritrotsitov mlekopitayushchih s ispol'zovaniyem usovershenstvovannogo ektatsitometra [Tekst] : avtoref. dis. ... kand. biol. n. / R. R. Sayfuyev. – Tyumen', 2002. – 19 s.
15. Sigal, V. L. Fil'tratsionny'ye metody' opredeleniya deformatsionny'kh (vyazko-uprugih) svoystv membran biologicheskikh kletok (obzor literatury) [Tekst] / V. L. Sigal // Lab. delo. – 1989. – № 5. – S. 4–9.
16. Fedorov, B. M. Stress i sistema krovoobrashcheniya [Tekst] / B. M. Fedorov. – M. : Meditsina, 1991. – 320 s.
17. Fedorova, M. Z. Funktsional'ny'ye svoystva i reaktivnost' leykotsitov krovi pri izmenenny'kh sostoyaniyakh organizma, vyzvanny'kh faktorami razlichnoy prirody [Tekst] : dis. ... dokt. biol. n. / M. Z. Fedorova. – Yaroslavl', 2002. – 296 s.
18. Chirikova, O. A. Faktory, opredelyayushchiye protsess adsorbtsii vysokomolekulyarny'kh belkov plazmy krovi na membranah eritrotsitov pri myshechny'kh nagruzkah [Tekst] : dis. ... kand. biol. n. / O. A. Chirikova. – Yaroslavl', 2006.
19. Brun I. F. The triphasic effects of exercise on blood rheology: Which relevance to physiology and pathophysiology? // Clin. Hemorreol. and Microcircul., 1998. – V. 19 – R. 89.
20. Hart, R. Experimental antileukocyte interventions in cerebral ischemia / R. Hart [et al] // J. Cerebral Blood Flow Metabolism. – 1996. – Vol. 16. – № 6. – P. 1108–1119.
21. Leblond P. F., Coulombe L. The measurement of erythrocyte deformability using micropore membranes. F sensitive technique with clinical applications // J. Lab. and clin. med. – 1979. – Vol. 94, № 1. – P. 133–143.
22. Pries A. R. Rheology of microcirculation / A. R. Pries, T. Secomb // Clin. Hemorreol. and Microcirc. – 2003. – Vol. 29. – P. 143–148.
23. Ritter, L. S. Leukocyte accumulation and hemodynamic changes after stroke / LS Ritter [et al] // Stroke. – 2000. – Vol. 31. – P. 1153–1161.
24. Stoltz J. F. Hemorheology in practice: an introduction to the concept of a hemorheological profile / J. F. Stoltz, M. Donner, S. Muller // Rev. Port. Hemorreol. – 1991. – Vol. 5. – P. 175–188.