

3. Каганский В.Л. Культурный ландшафт и советское обитаемое пространство: Сборник статей. М.: Новое литературное обозрение, 2001. 576 с.
4. The Oxford Russian-English dictionary by Marcus Wheelers. Oxford. At the Clarendon press. 1972. P. 456.
5. Ключевский В. О. Русская история. Полный курс лекций в 3-х книгах. Кн. 1. М., 1993. С. 20.
6. Любавский М. К. Обзор истории русской колонизации с древнейших времен и до XX века. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1996. 682 с.
7. Шунков В. И. Очерки по истории колонизации Сибири в XVII — начале XVIII века. М.-Л., 1946. 226 с.
8. Покшишевский В. В. Заселение Сибири (историко-географические очерки). Иркутск, 1951. 208 с.
9. Замятина Н. Ю. Зона освоения (фронтир) и ее образ в американской и русской культурах // *Общественные науки и современность*. 1998. № 5. С. 78.
10. Фронтир в истории Сибири и Северной Америки в 17-20 вв.: общее и особенное. Новосибирск: РИПЭЛ плюс, 2001. Вып. 1. 116 с.
11. Ганопольский М. Г., Литенкова С. П. Структура расселения в Тюменской области: особенности генезиса и перспективы развития // *Известия РАН. Серия географическая*. 2005. № 3. С. 56-62
12. Булатов В. Н. Русский Север. Архангельск: Изд-во Поморского университета, 1998. 352 с.
13. Добрыднев В. А. Поморье и колонизация Западной Сибири. Конец XVI — начало XVIII вв. // Автореф. дис. ... канд. ист. наук. Архангельск, 2003.
14. Бабиновская дорога — путь длиною в 400 лет. Под ред. Шилова В. В., Бординских Г. А. Березники, 1998. 68 с.

Алексей Васильевич БЕЛКИН —

*доцент кафедры анатомии
и физиологии человека и животных,
кандидат биологических наук*

Василий Владимирович МАРЬИНСКИХ —

*аспирант кафедры анатомии
и физиологии человека и животных*

Наталья Вячеславовна ТУРБАСОВА —

*доцент кафедры анатомии
и физиологии человека и животных,
кандидат биологических наук*

Александр Дмитриевич ШАЛАБОДОВ —

*профессор кафедры анатомии
и физиологии человека и животных,
доктор биологических наук*

УДК 591.111.1

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЯЗКОЭЛАСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ИХ РЕАКЦИЯ НА СТРЕССЫ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

АННОТАЦИЯ. Представлены результаты исследования вязкоэластических свойств мембран эритроцитов млекопитающих с различным уровнем двигательной активности в ответ на стрессы различной этиологии.

The authors submit the results of research viscosity properties of membranes erythrocyte mammals with a various level of impellent activity in reply to stresses various etiology are presented.

В последние годы оценка реологических свойств крови и ее компонентов приобретают все большее значение для научно-исследовательской и клинической практики. Существующие методы, позволяющие определить деформируемость эритроцитов, крайне сложны и требуют дорогостоящего оборудования, недостаточно точны и трудоемки по выполнению [1]. Наиболее адекватным методом является лазерная дифрактометрия, позволяющая получать наиболее объективную информацию о механических свойствах эритроцитов [2].

В настоящее время отсутствует отечественная серийная модель прибора, основанного на методе лазерной дифрактометрии, что в значительной мере ограничивает возможности проведения исследований по изучению деформируемости эритроцитов и ее влияния на реологические свойства крови в целом. Поэтому разработка и создание устройства, позволяющего оценивать реологические свойства крови, с возможностью компьютерной обработки полученной информации, внедрение его в практику научно-исследовательских и клинических лабораторий России является актуальной проблемой.

Целью исследования явилось изучение реологических характеристик крови крыс с различным уровнем двигательной активности при помощи созданного нами устройства для оценки деформируемости эритроцитов и при моделировании стрессов различной этиологии.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на половозрелых беспородных крысах самцах массой 160-180 г одного возраста (162 особи). Все животные содержались в стандартных условиях вивария на полноценной диете. Экспериментальных животных делили на группы активных и пассивных крыс, разделяя их методом «открытого поля» [3]. Изучение влияния физической нагрузки, охлаждения, перегревания, иммобилизации и вибрационного стресса на деформируемость эритроцитов крыс проводили по стандартным методикам.

В эксперименте по кратковременному охлаждению крыс помещали в холодильную камеру, в которой температуру воздуха поддерживали на уровне $+1-2^{\circ}\text{C}$. Время содержания животных в холодильной камере составляло 30 мин. В эксперименте для управляемого перегревания животных использовался термостат SPT-200 (Poland), позволяющий создавать и сохранять заданный тепловой режим. Экспериментальные животные подвергались воздействию температуры $+41^{\circ}\text{C}$ в течение 50 минут. В качестве физических нагрузок использовали методику «свободное плавание в клетке» [4]. Длительность эксперимента составляла 60 минут. Сорокаминутную иммобилизацию крыс проводили с использованием специального бокса, который ограничивал подвижность животных.

Оценку деформируемости эритроцитов проводили на устройстве собственной конструкции, по техническим характеристикам не уступающем зарубежным аналогам, а по некоторым показателям превосходящем их (патент на изобретение № 2236009). Полученные результаты по деформируемости эритроцитов в опытах *in vitro* свидетельствовали о высокой разрешающей способности установки и возможности ее использования в научно-исследовательской и клинической практике.

Принципиальным отличительным признаком созданного нами устройства является расположение всех базовых элементов прибора в вертикальной плоскости, что значительно уменьшило его габариты. Принципиально

изменен механизм деформирующего воздействия на исследуемый материал, проба крови помещается в зазор между вращающейся и неподвижной прозрачными соосными пластинами. Вращение нижней пластины обеспечивается шаговым двигателем. В качестве когерентного источника света используется гелий-неоновый лазер (ГИ-3-1 Р = $1,9 \cdot 10^{-3}$ Вт, $\lambda = 632,8$ нм) или его полупроводниковые аналоги, а в качестве регистрирующего устройства — цифровая видеокамера Canon. Полученное при помощи видеокамеры изображение передается на персональный компьютер и сохраняется в файл формата avi. Это позволяет анализировать и сравнивать изменения деформируемости эритроцитов в динамике.

Вся установка, кроме периферийных элементов, размещена внутри жесткого светонепроницаемого корпуса, что в значительной степени улучшает контрастность изображения дифракционной картины. Масса установки составляет 6,5 кг, высота 50 см, длина 30 см и ширина 20 см.

Для количественной оценки выявляемого среднечелочного удлинения при сдвиге использовался эктацитометрический показатель или индекс деформируемости $I_d = (A-B)/(A+B)$, где А и В — большая и малая оси дифракционного эллипса.

Формулы по вычислению индекса деформируемости и основных статистических показателей записаны в память программы Ecto-1. О достоверности различий судили по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Как показали результаты исследования, после кратковременного охлаждения экспериментальных животных деформируемость эритроцитов активных и пассивных крыс достоверно увеличивалась по сравнению с контролем (рис. 1).

На максимальном усилии сдвига (49 Н/м^2) индекс деформируемости клеток контрольных крыс составлял $0,24 \pm 0,01$, а после кратковременного охлаждения активных крыс данный показатель увеличивался на 52%. У пассивных крыс индекс деформируемости эритроцитов на максимальном усилии сдвига увеличивался на 19%.

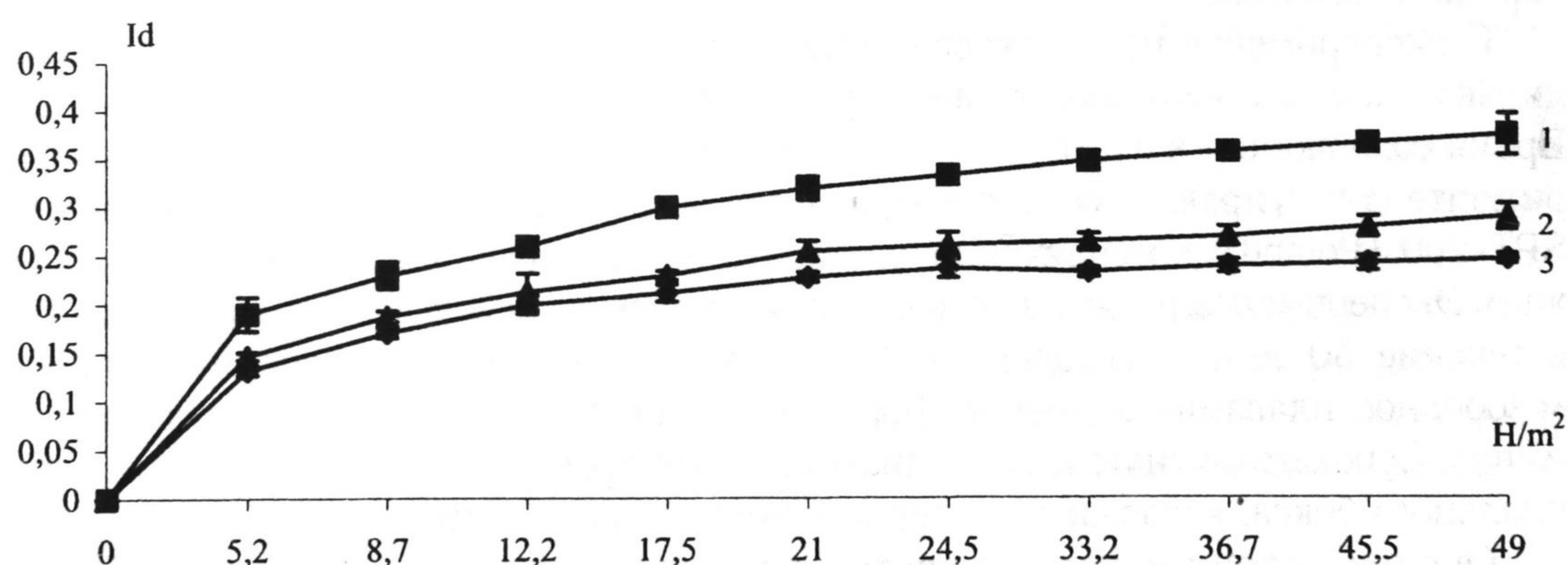


Рис. 1. График зависимости индекса деформируемости эритроцитов активных и пассивных крыс от усилия сдвига после кратковременного охлаждения.

1 — активные крысы; 2 — пассивные крысы; 3 — контроль ($n=30$).

У крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу, индекс деформируемости эритроцитов достоверно увеличивался на малых, средних и больших усилиях сдвига по сравнению с показателями контрольной группы (рис. 2). При усилии сдвига 49 Н/м^2 индекс деформируемости эритроцитов у активных крыс увеличивался на 67%, у пассивных животных данный показатель возрастал на 29%.

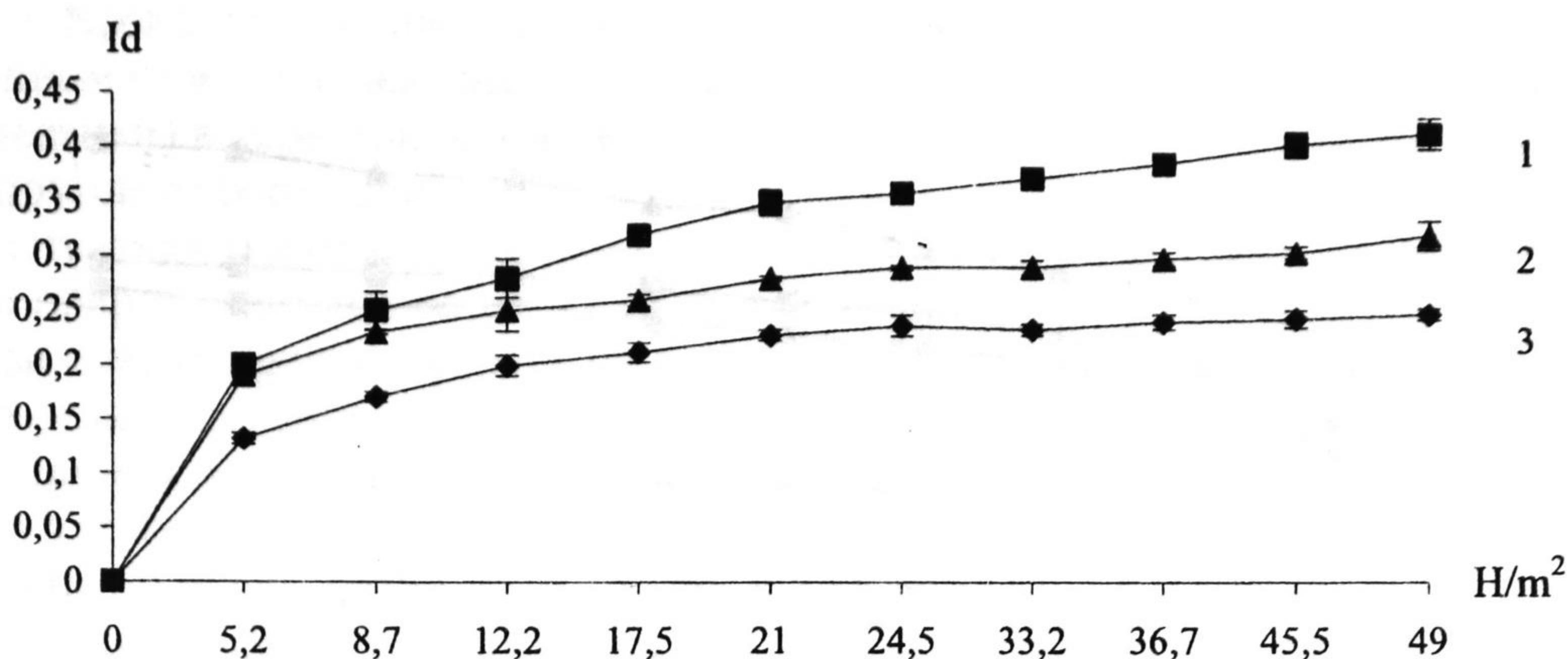


Рис. 2. График зависимости индекса деформируемости эритроцитов активных и пассивных крыс от усилия сдвига после иммобилизационного стресса. 1 — активные крысы; 2 — пассивные крысы; 3 — контроль (n=30).

Как видно из рис. 3, после кратковременного перегревания деформируемость эритроцитов у активных и пассивных крыс достоверно увеличивалась по сравнению с контрольной группой.

На усилии сдвига 49 Н/м² индекс деформируемости контрольной группы крыс был равен 0,25±0,01, у опытных животных достоверно увеличивался и составлял для активных — 0,38±0,02 (увеличение на 53%), для пассивных — 0,29±0,01 (увеличение на 17%).

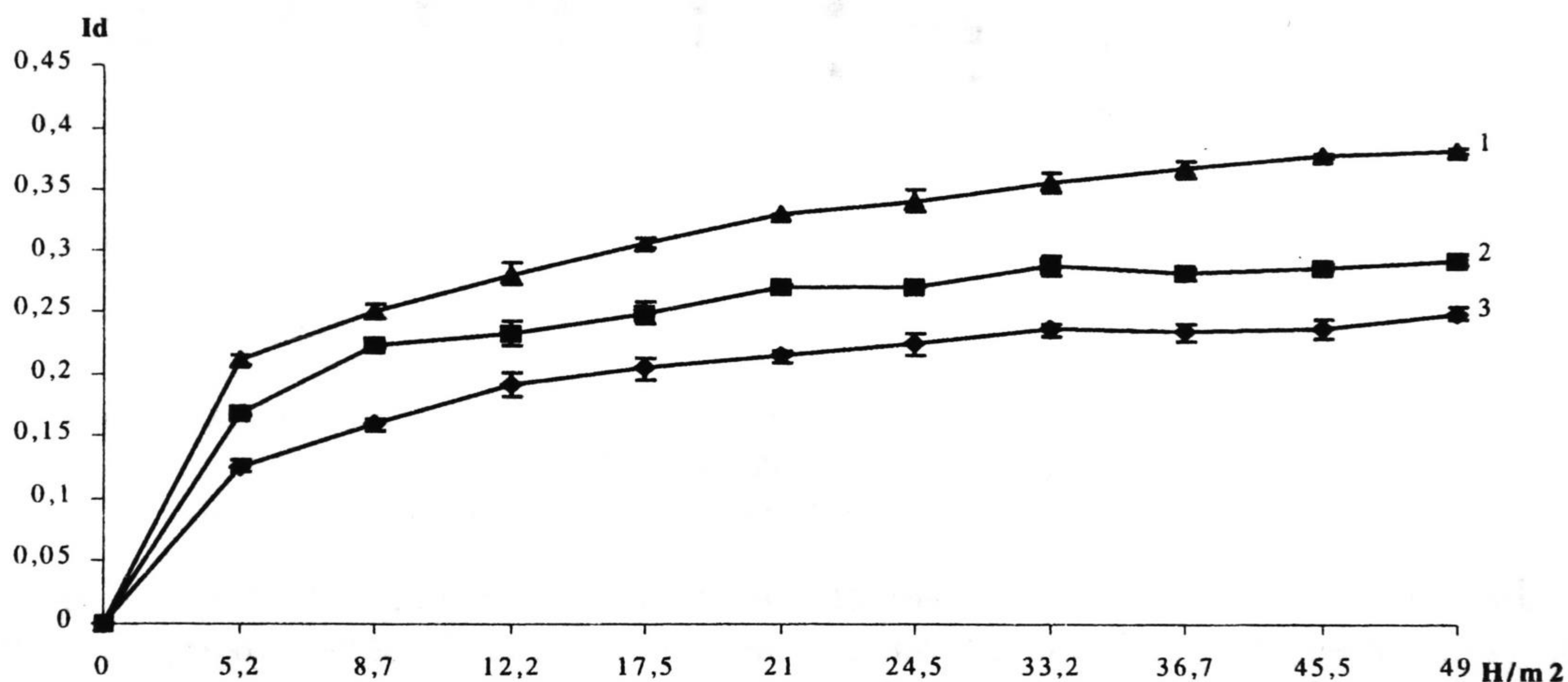


Рис. 3. График зависимости индекса деформируемости эритроцитов активных и пассивных крыс от усилия сдвига после кратковременного перегревания. 1 — активные крысы; 2 — пассивные крысы; 3 — контроль (n=30).

Представленные на рис. 4 данные указывают на то, что у крыс, подвергнутых принудительному плаванию, индекс деформируемости эритроцитов также достоверно увеличивался на 50% по сравнению с показателями контрольной группы животных как на малых, средних, так и на больших усилиях сдвига.

У крыс, подвергнутых вибрационному стрессу, индекс деформируемости эритроцитов достоверно снижался на различных усилиях сдвига по сравнению с показателями контрольной группы, как у активных, так и у пассивных животных: максимальное снижение деформируемости эритроцитов относительно контрольных величин на 48% и 46% соответственно, было зарегистрировано на усилии сдвига 49 Н/м² (рис. 5).

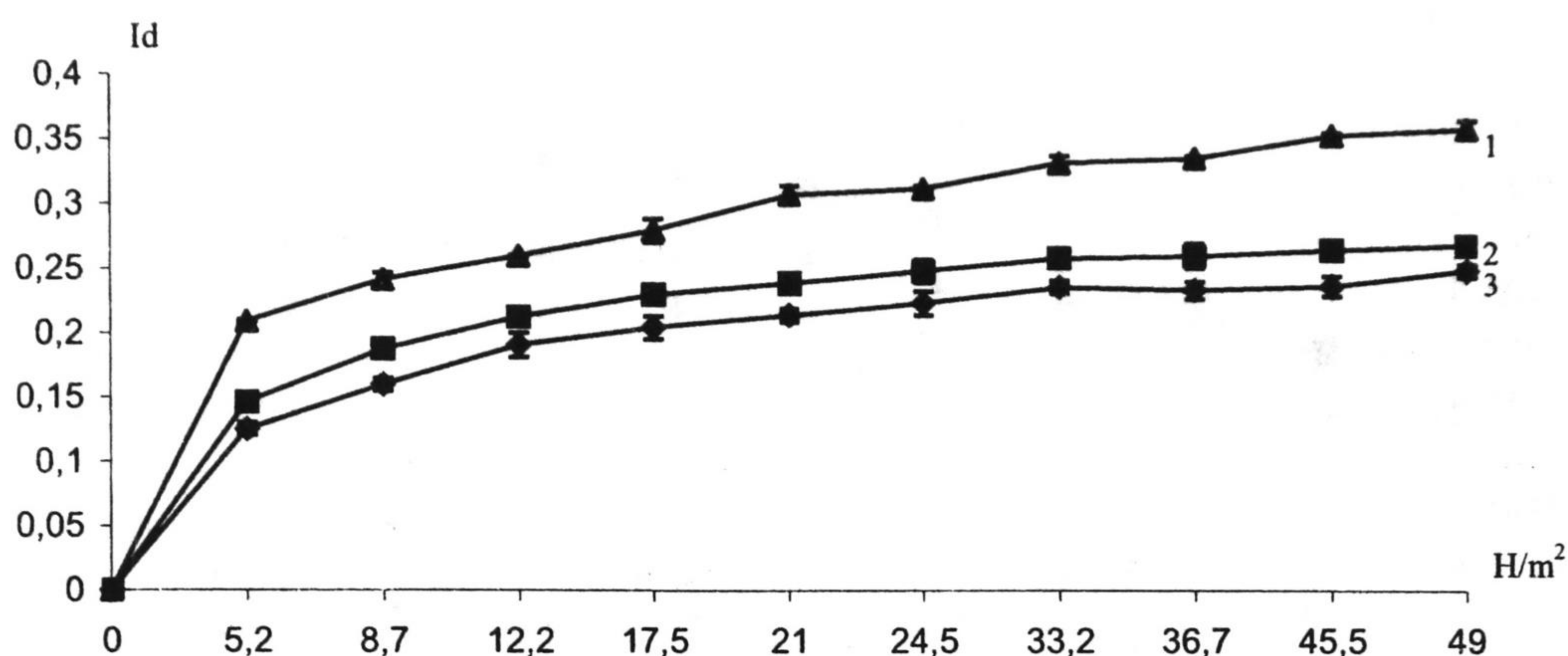


Рис. 4. График зависимости индекса деформируемости эритроцитов активных и пассивных крыс от усилия сдвига после принудительного плавания.
1 — активные крысы; 2 — пассивные крысы; 3 — контроль (n=30).

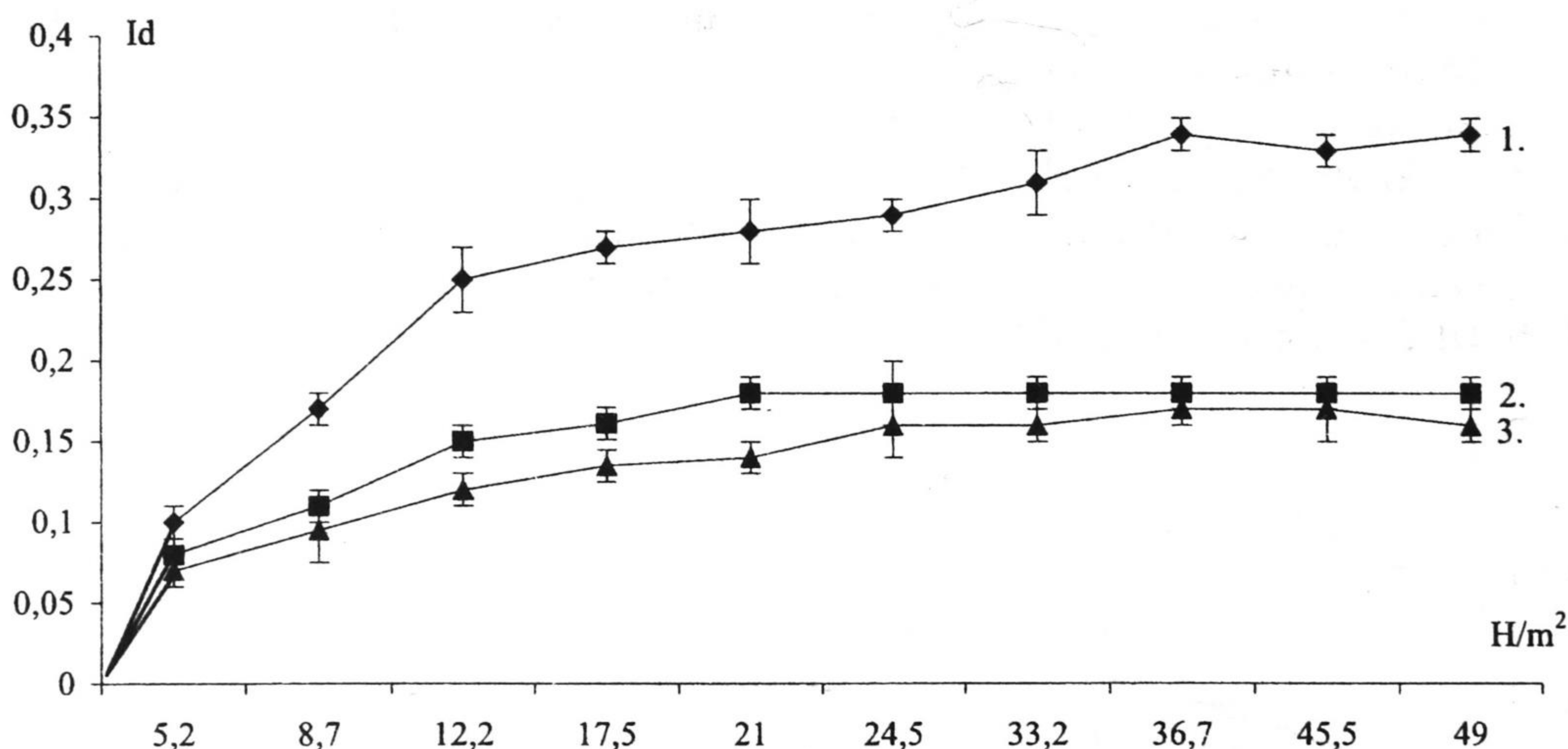


Рис. 5. График зависимости индекса деформируемости эритроцитов активных и пассивных крыс от усилия сдвига после вибрационного стресса.
1 — контроль; 2 — активные крысы; 3 — пассивные крысы (n=30).

Резюмируя вышесказанное, можно отметить, что в опытах *in vivo* стресс-воздействия на крыс в большинстве случаев приводили к увеличению деформируемости эритроцитов. Это может быть обусловлено выходом в кровяное русло молодых эритроцитов и ретикулоцитов, так как известно, что возросшие потребности организма в кислороде при стрессе приводят к активации эритропоэза и перераспределению крови [5]. Все это подтверждается и проведенными ранее нами исследованиями, свидетельствующими о том, что при стрессах различного генеза (иммобилизация, перегревание, холод, принудительное плавание,) эритроцитарные кривые Прайс-Джонса сдвинуты вправо и основание их расширено [6]. Данный факт является прямым доказательством появления в крови стрессированных крыс макроцитов, обладающих большей деформационной способностью.

Исключение составил острый вибрационный стресс, приводящий к снижению деформируемости эритроцитов. Вибрационные воздействия оказывают прямое негативное механическое воздействие, в том числе на костный мозг и другие органы системы крови. Поэтому не исключено, что снижение деформируемости эритроцитов при вибрационном стрессе может быть обусловлено изменением со стороны белков мембранного цитоскелета, что связано с повышением активности аденилатциклазы и протеинкиназы С, фосфорилирующей белки полос 4,1

и 4,9. Кроме того, снижение деформируемости эритроцитов при остром вибрационном стрессе может быть связано и с выбросом старых эритроцитов из депо (селезенки) в кровотоки, которые, как известно, обладают меньшей способностью к упругой деформации.

Ответная реакция организма на стресс-воздействия имеет нейрогуморальную природу, и в соответствии с этим изменения в реологических показателях крови следует рассматривать не отдельно, а в целом, как возникающую ответную реакцию одной из систем тканей и органов. Поэтому важным моментом в проведении исследований реологических свойств крови является оценка состояния активности нервной системы крыс и подвижности их нервных процессов.

Как показали результаты наших исследований, у экспериментальных животных, разделенных по уровню двигательной активности в тесте «открытое поле» на пассивных и активных, на фоне стрессорного воздействия наблюдаются достоверные различия в деформируемости эритроцитов. У группы активных крыс во всех сериях экспериментов *in vivo* деформируемость эритроцитов была выше по сравнению с группой пассивных животных, что может свидетельствовать о том, что активные крысы демонстрируют более успешный тип стресс-реакции со стороны системы крови.

Выводы

— Устройство для оценки деформируемости эритроцитов отличается от существующих аналогов портативностью, точностью измерений и возможностью обработки изображения дифракционных картин с использованием персонального компьютера и специального программного обеспечения.

— У животных с различным уровнем двигательной активности выявлены различия в деформируемости эритроцитов: деформируемость эритроцитов активных крыс была достоверно выше по сравнению с данным показателем у пассивных животных.

— Деформируемость эритроцитов экспериментальных животных как в группе пассивных, так и в группе активных крыс увеличивалась после воздействия стрессорных нагрузок относительно контроля. После воздействия вибрационного стресса в обеих группах экспериментальных животных отмечалось снижение деформируемости эритроцитов по сравнению с контролем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Evaluation of the contribution of red and white cells to the flow of suspensions of washed blood cells through 3 μm Nucleopore membranes / [J. G. Jones, B. M. Holland, J. Humphrys et. al.] // *British J. Hematology*. 1984. Vol. 57, P. 457-466.
2. Bessis, M. Deformability of normal, shape-altered and pathological red cells / M. Bessis, N. Mohandas // *Blood Cells*. 1975. Vol. 1, P. 315-321.
3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.
4. Бондаренко О. Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / О. Н. Бондаренко, Н.А. Бондаренко // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999. № 8. С. 157-161.
5. Detrick, R., Ruhling, R., Detrick, D. Retrogression and the red blood cell // *J. Sports. Med. & Physical Fitness*. 1980. Vol. 1. P. 67-76.
6. Оценка влияния механических вибраций на реологию эритроцитов крыс / [А. В. Белкин, А. В. Кольчева, В. В. Марьянских и др.] // *Югра-Гемо: м-лы междунар. науч. симпозиума. Ханты-Мансийск.*, 2003. С. 31-34.