

*Андрей Петрович ВОХМИНЦЕВ —  
аспирант кафедры анатомии  
и физиологии человека и животных*

*Владимир Сергеевич СОЛОВЬЕВ —  
зав. кафедрой анатомии и физиологии  
человека и животных,  
доктор медицинских наук, профессор*

*Тюменский государственный университет*

УДК 612.05-111;117

## **ВЛИЯНИЕ ЦЕОЛИТОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У БЕСПОРОДНЫХ КРЫС**

*АННОТАЦИЯ. Исследовалось влияние диеты, включающей порошкообразный цеолит Шивуртуйского месторождения на деформационную лабильность эритроцитов крыс. Способность эритроцитов к упругой деформации исследовалась с помощью метода лазерной дифрактометрии, заключающегося в получении дифракционной картины от тонкого слоя суспензии эритроцитов, находящейся в сдвиговом потоке, и последующей цифровой обработки распределения интенсивности дифрагированного поля. В результате исследования выявлено значительное снижение деформации эритроцитов опытных животных в ответ на цеолитсодержащую диету.*

*The influence of the diet including Shivyurtuiskoe deposit's powder-like zeolite on the deformative lability of rat's erythrocytes was studied. Erythrocytes' deformability was studied with the using of method of the laser diffractometry, consisted in obtaining of the diffraction pattern of the erythrocytes suspension's thin layer which was placed into shift flood; and subsequent digital processing of the intensity allocation of the diffracted field. As a result of research considerable decrease of erythrocytes' deformation of the test animals was shown in answer to zeolite-containing diet.*

Одним из важнейших свойств эритроцитов человека и животных, включая крыс, является их способность деформироваться. С этой способностью эритроцитов связаны способность эритроцитов к спонтанной агрегации и сдвиговой дезагрегации и особенности микроциркуляции крови, процессы диффузии газов и обеспечения тканей кислородом. Деформация эритроцитов ведет к усилению внутриклеточной конвекции кислорода, дезокси- и оксигемоглобина, что обуславливает высокий коэффициент переноса кислорода внутри эритроцита при его относительно низком коэффициенте диффузии. Ухудшение деформируемости эритроцитов влечет за собой ухудшение адекватного снабжения тканей кислородом, снижение продолжительности жизни эритроцитов и усиление их разрушения [1].

В состав пищевых добавок, применяемых для очищения организма от шлаков и чужеродных веществ, наряду с различными видами пищевых волокон, включают цеолиты — минералы, обогащенные микроэлементами. Цеолиты — хорошие сорбенты и выводят из организма низкомолекулярные вредные соединения (метан, сероводород, аммиак, токсины и другие), а также ионы металлов, находящиеся в избытке. С другой стороны, из цеолитов выделяются микроэлементы, в которых организм испытывает недостаток.

Настоящее исследование выполнено с целью изучения влияния природных цеолитов, используемых в качестве пищевой добавки, на оценку гемостатических



показателей и деформационных свойств эритроцитов периферической крови крыс. Эти свойства характеризуются индексом деформируемости эритроцитов (ИДЭ). Зависимость ИДЭ от сдвигового напряжения характеризует способность эритроцитов к деформируемости при разных сдвиговых скоростях, эластичность их мембраны и внутреннюю вязкость.

### Материалы и методы исследования

Исследование было выполнено на половозрелых беспородных крысах самцах, массой  $160 \pm 20$  грамм. Количество используемых в эксперименте особей равнялось 26. Животные были разделены на две группы: опытная — 16 крыс и контрольная — 10 крыс.

Все животные содержались в стандартных условиях вивария на полноценной диете (овес, рис, овощи и т. п.) и были одного возраста (3-х месяцев).

В корм исследуемых животных добавляли порошкообразный цеолит Шивуртуйского месторождения (95% клиноптиолит и его геохимические разновидности; фракция 0-1 мм), из расчета 5% от массы сухого корма.

После экспериментального воздействия у животных забиралась кровь из надреза кончика хвоста в гепаринизированные капилляры. Параллельно делался мазок крови для анализа лейкограммы.

Проба крови экспериментальных животных в объеме 100 мкл помещалась в 3 мл 20%-ного раствора полисахарида Ficoll-400, растворенного в фосфатном буфере (0,3 М NaCl, 0,02 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,005 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH=7,4, при температуре 37°C). Перемешивание эритроцитов в растворе Ficoll-400 проводили в конической пробирке до появления однородно окрашенного раствора без включений и клеточных агрегатов. Деформируемость эритроцитов определяли на эктацитометре — приборе для оценки деформационных свойств эритроцитов, разработанном и сконструированном на кафедре анатомии и физиологии человека и животных Тюменского государственного университета [2].

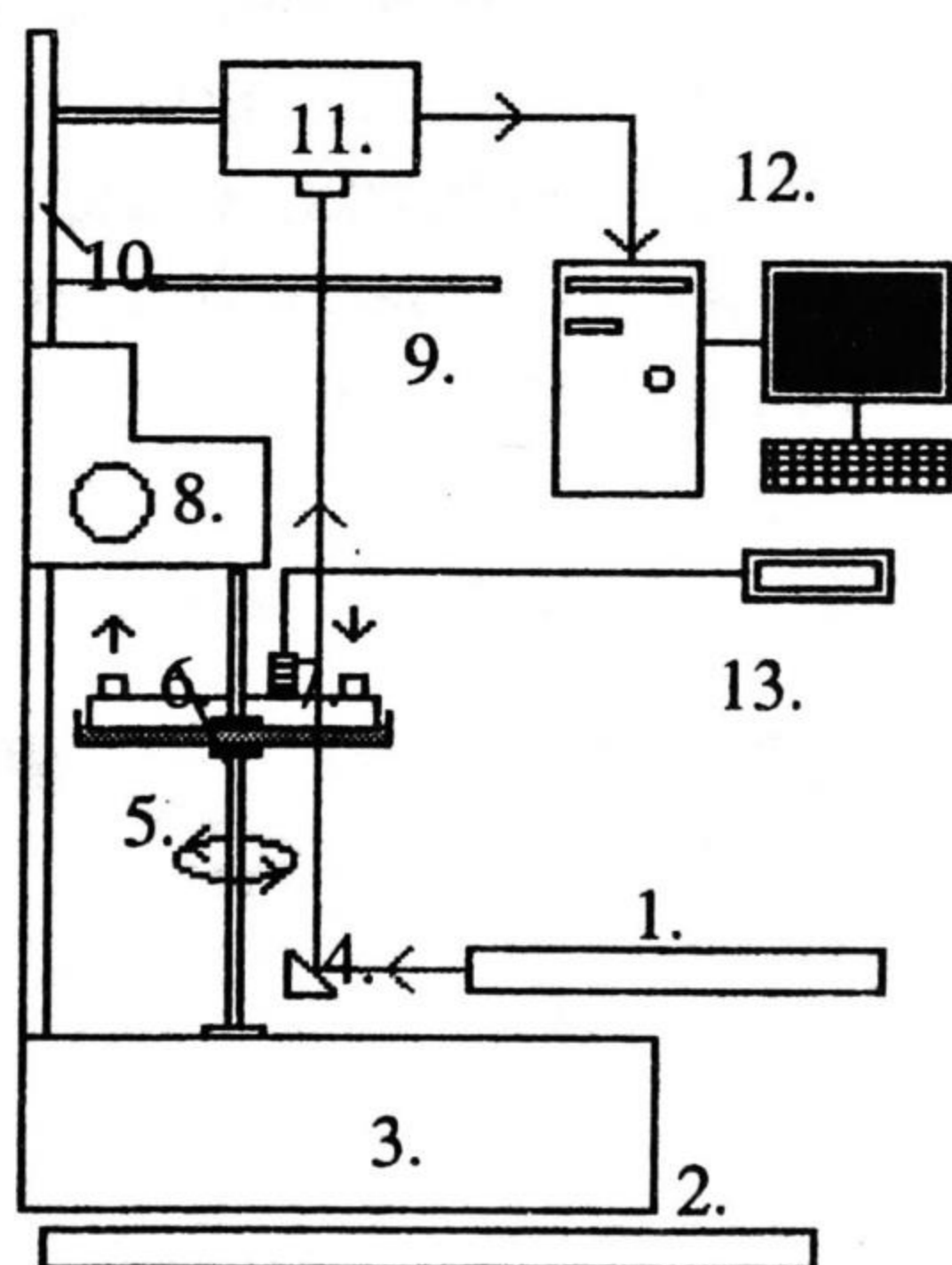


Рис. 1. Блок-схема портативного эктацитометра

- 1 — лазер; 2 — металлическая опора; 3 — модуль серводвигателя;
- 4 — поворотное зеркало; 5 — нижняя вращающаяся пластина с пробой крови;
- 6 — верхняя термостатируемая пластина с «рубашкой» для циркуляции воды;
- 7 — термодатчик; 8 — механизм регулирования ширины зазора между пластинами;
- 9 — экран; 10 — вертикальный крепежный стержень; 11 — цифровая видеокамера;
- 12 — персональный компьютер; 13 — цифровое табло термодатчика



В данной работе проводился анализ лейкограммы опытной и контрольной группы животных, оценивалась деформируемость мембран эритроцитов эктацитометрическим методом на эктацитометре.

В качестве основания установки служит небольшая металлическая опора с вертикальным стержнем, на котором крепятся все технические элементы эктацитометра. Для проведения исследования деформируемости эритроцитов используются две пластины, выполненные из прозрачного для видимого света материала (оргстекло). Усилие сдвига, вызывающее деформацию эритроцитов, создается за счет вращения нижней пластины относительно верхней — неподвижной. Термостабилизация пластин обеспечивается наличием специальной «рубашки», размещенной на верхней пластине. Для контроля температурного режима к верхней пластине крепится термодатчик, цифровое табло которого размещается снаружи установки. Привод нижней пластины обеспечивает серводвигатель, оснащенный переключателем, позволяющим дискретно менять скорость вращения, которая варьирует в пределах от 0 до 28 об./мин. Ширина зазора между пластинами регулируется и в нижней отметке составляет 0.5 мм. Минимально допустимая величина зазора, при которой проводились экспериментальные исследования, достигается при помощи специального «блокатора», который механически препятствует полному опусканию верхней пластины на нижнюю, что препятствует перетиранию исследуемого материала — эритроцитов. В качестве когерентного источника света использовался лазер ГИ-3-1 ( $P=1,9 \cdot 10^{-3}$  Вт,  $\lambda=632,8$  нм). Изображение дифракционной картины проецировалось на полупроницаемый экран и регистрировалось при помощи цифровой видеокамеры Canon.

Воспроизведенная при помощи видеокамеры динамика деформируемости эритроцитов при разных усилиях сдвига на персональном компьютере записывалась в видеофайл формата avi посредством программы Movie Maker. Для вычисления индекса деформируемости эритроцитов при разных усилиях сдвига и построения соответствующих графиков использовалась программа, написанная по специальному заказу в среде программирования Delphi 5 и получившая название Ecto-1 [3].

На рис. 2 приведены типичные получаемые дифракционные картины для различных скоростей сдвига. При нулевой сдвиговой скорости дифракция происходит на хаотически ориентированных эритроцитах, и дифракционная картина представляет собой концентрические окружности равной интенсивности [4]. При измерениях в сдвиговом потоке уровни одинаковой интенсивности представляют собой концентрические эллипсы, повернутые на 90 градусов относительно большой оси эритроцита, ориентированного и вытянутого вдоль вектора скорости потока [5].

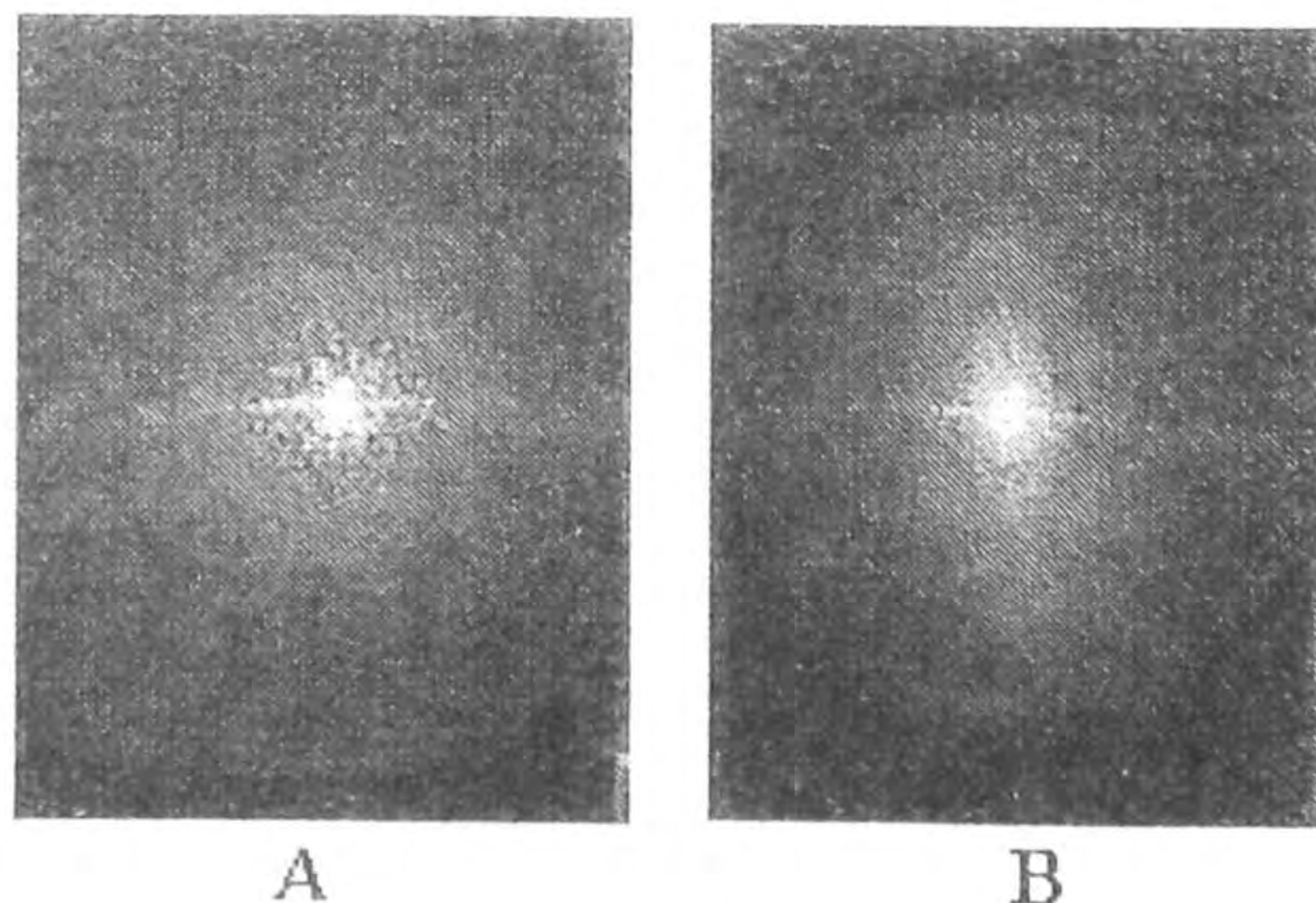


Рис. 2. Реальное изображение дифракционной картины, получаемое при прохождении луча лазера через слой эритроцитов и выводимое на монитор для программного анализа. А — дифракционная картина для покоящихся эритроцитов; В — дифракционная картина для эритроцитов, находящихся в сдвиговом потоке



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

Формулы по вычислению индекса деформируемости и основных статистических показателей также были записаны в память программы Ecto-1.

### Результаты исследований и их обсуждение

В первые два дня животные опытной группы принимали пищу, содержащую цеолиты, в качестве пищевых добавок явно неохотно. Такое поведение животных, по внешним признакам, можно было ассоциировать с состоянием, близким к стрессу. Неудивительно, что весьма информативным приемом оценки состояния реакции периферической крови на особое состояние организма, каковым было изменение привычного рациона питания, является расчет показателя лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов [6], так как они являются основными клетками-маркерами, реагирующими на различные внешние изменения.

Зарегистрированное увеличение числа лейкоцитов при воздействиях, связанных с изменениями в привычном характере существования организма, изменении рациона питания в опытах с цеолитом причинно обусловлено. Увеличение числа лейкоцитов при стрессах различного генеза возникает в результате выброса зрелых гранулоцитов из различных депо, главным образом из костного мозга. Нельзя исключить возникновение лейкоцитоза за счет мобилизации клеток из пристеночного пула в циркуляторный.

В опытах с цеолитом нами зарегистрировано увеличение количества лейкоцитов  $5,97 \pm 0,16 \cdot 10^9 / л$  по сравнению с контрольными показателями  $4,36 \pm 0,13 \cdot 10^9 / л$  (табл. 1).

Таблица 1

Показатель	Лейкоциты, $10^9 / л$	Палочкояд. нейтр, %	Сегмент. нейтр., %	Эозинофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %
Контроль (n=10)	$4,36 \pm 0,13$	$0,73 \pm 0,25$	$17,15 \pm 1,97$	$1,37 \pm 0,32$	$1,78 \pm 0,29$	$84,30 \pm 2,56$
Опытная группа (n=16)	$5,97 \pm 0,16$ ***	$1,57 \pm 0,19$ *	$23,73 \pm 1,76$ *	$0,19 \pm 0,22$ *	$2,06 \pm 0,34$	$71,63 \pm 2,06$ **

Примечание: достоверность различий по сравнению с контролем:

\* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$

Полученные результаты хорошо согласуются с литературными источниками. Во-первых, ионнообменные свойства цеолитов меняют рН и ионный состав гастроинтестинальных жидкостей, а также влияют на активность секретируемых ферментов ЖКТ. Во-вторых, цеолиты могут абсорбировать некоторое количество низкомолекулярных соединений, образующихся в процессе пищеварения (глюкоза, аминокислоты). Кроме того, часть цеолитов в гастроинтестинальном тракте могут полностью гидратироваться, причем низкомолекулярные вещества могут адсорбироваться только на поверхности минералов, но не внутри полостей. В-третьих, из цеолитов высвобождаются активные полисиликатные анионы, но их возможности ограничены низкой растворимостью в физиологических условиях организма. В результате этих реакций возникают значительные перестройки баланса электролитов в печени, почках и в организме в целом. Помимо вышперечисленных эффектов наблюдаются и гематологические изменения. В перечне подтвержденных значимых эффектов клиноптилолита есть его анти-



неопластическая активность. Так, у опытных крыс наблюдалось достоверное увеличение сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов  $23,73 \pm 1,76$  ( $p < 0,01$ ) и  $1,57 \pm 0,19$  в опыте, в сравнении с контрольными показателями ( $17,15 \pm 1,97$  и  $0,73 \pm 0,25$ ). Сегментоядерные нейтрофилы являются одним из факторов неспецифической резистентности, так как обеспечивают фагоцитоз в тканях и на поверхности слизистых [7].

Что касается лимфоцитов (клеток, ответственных за специфический иммунитет), то нами было отмечено достоверное уменьшение количества лимфоцитов в опыте с цеолитом  $71,63 \pm 2,06$  ( $p < 0,01$ ) в отличие от контроля  $84,30 \pm 2,56$ . Возможно, лимфоцитопения развивалась в результате возросшего выхода клеток из кровотока [8].

У крыс опытной группы прослеживалось незначительное увеличение числа моноцитов по сравнению с контрольной группой. Моноциты способны трансформироваться в различные виды макрофагов, поэтому их роль в адаптационных реакциях велика. Одной из важных причин увеличения моноцитов является снижение экспрессии интегринов на моноцитах, что препятствует адгезии этих клеток к сосудистому руслу [9].

На основании всего вышесказанного мы можем сделать вывод, что опыт с цеолитом вызвал в организме животных сложную перестройку количественных показателей белой крови.

Ниже на рисунке приводится график, отражающий форму кривых Прайс-Джонса у крыс контрольной и опытной групп.

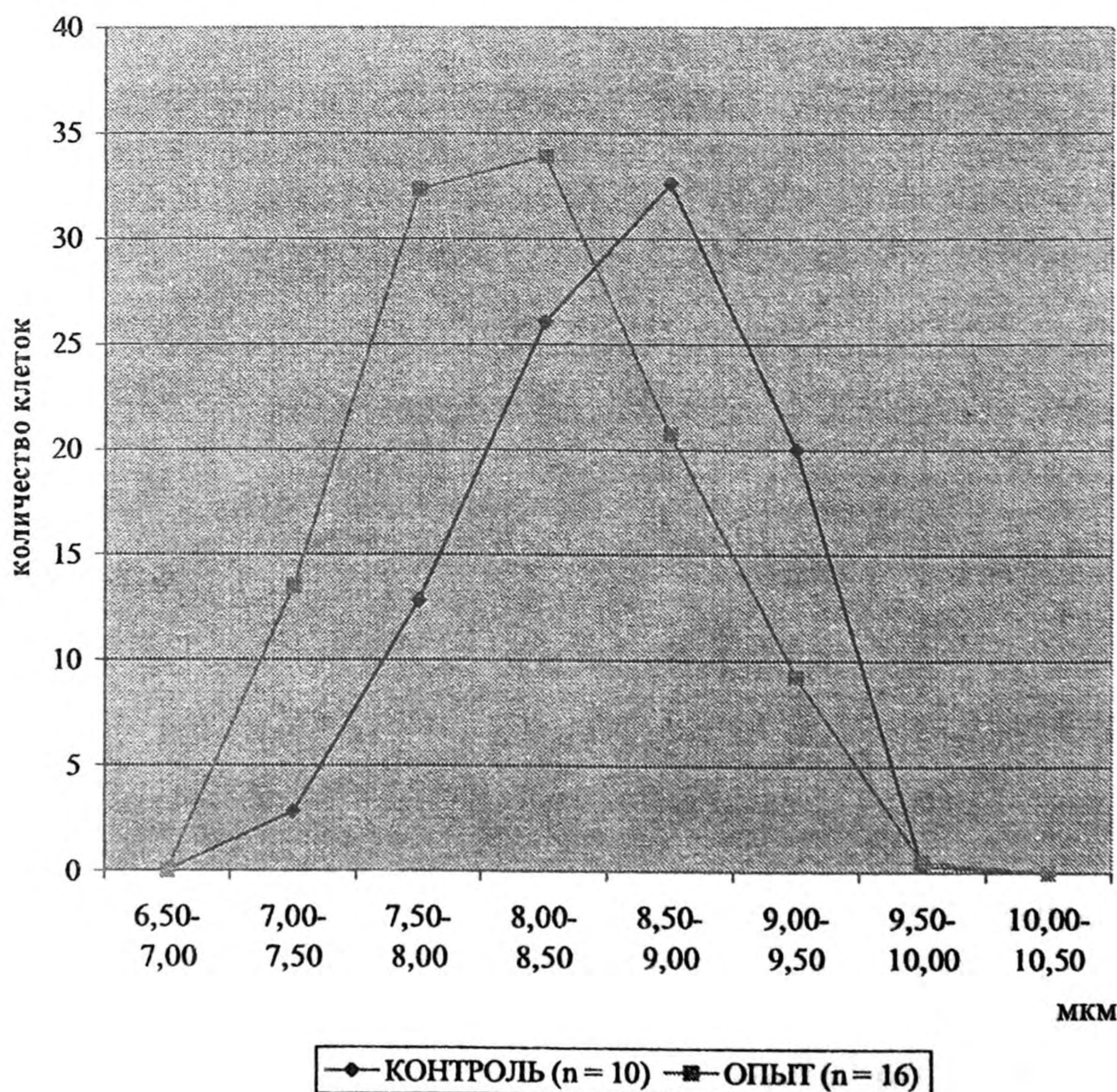


Рис. 3. Распределение диаметров эритроцитов крыс контрольной и опытной групп животных, подвергнутых цеолитсодержащей диете (кривая Прайс-Джонса)

Примечание: n — объем выборки

Форма кривой Прайс-Джонса у опытной группы животных характеризовалась расширением вершины кривой и смещением основания кривой влево, что свидетельствует об увеличении в крови числа старых эритроцитов меньшего диаметра, очевидно, выброшенных из кровяного депо и обладающих меньшей способностью



к деформации. Расширение основания кривой также указывает на значительную степень анизоцитоза, что отражает состояние красного ростка кроветворения.

Левое уклонение кривой Прайс-Джонса, возможно, указывает на последствия адсорбции цеолитом воды, вследствие чего увеличивается вязкость плазмы крови, происходит сжатие эритроцита.

Таким образом, анализ построенных кривых Прайс-Джонса выявил, что влияние биологически активных добавок на рацион питания крыс приводило к полиморфности эритроцитов. В крови одновременно циркулировали как более старые эритроциты с меньшим диаметром, так и молодые с большим диаметром. Сдвиг вершины кривой влево мы связывали с появлением более зрелых форм, вышедших из клеточных депо.

Показатель изменения деформации эритроцитов является одной из наиболее лабильных характеристик крови, который чувствительно реагирует на изменение практически любого метаболического процесса в эритроцитах и в целом всего организма. Способность эритроцитов к деформации определяется внутренней вязкостью, вязко-эластичными свойствами мембраны и отношением объема клетки к ее площади. Упругие свойства мембраны определяют ее сопротивление к деформации, а вязкостные качества характеризуют резистентность скорости деформации.

Деформируемость эритроцитов, наряду с агрегацией, гематокритом и вязкостью плазмы определяют вязкость крови. Снижение текучести (величина, обратная вязкости) крови и снижение деформируемости уменьшают оксигенацию тканей [10].

В нашем исследовании для каждой взятой пробы крови были проведены измерения индекса деформируемости эритроцитов в зависимости от сдвиговой скорости дифрактометрическим методом. Затем значения параметров деформируемости были усреднены по каждой группе крыс. В результате проведенных измерений и последующей обработки полученных значений были получены следующие результаты.

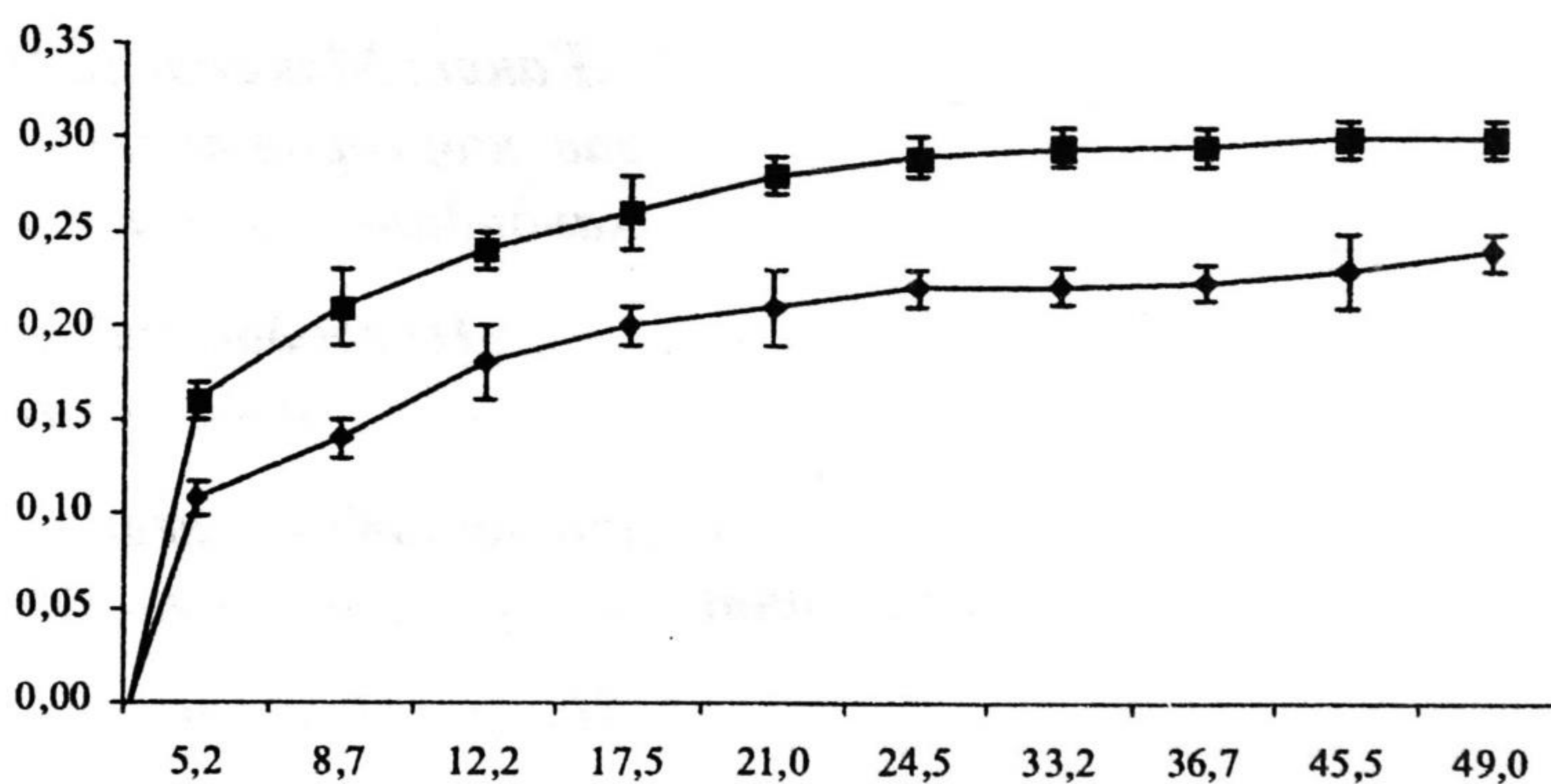


Рис. 4. Зависимость индекса деформируемости эритроцитов крыс от усилия сдвига  
Примечание: 1 — контрольная группа животных (n=10); 2 — опытная группа животных (n=16).

В результате проведенного опыта было обнаружено достоверное снижение деформируемости эритроцитов; вероятней всего, это связано с тем, что старые эритроциты в сравнении с молодыми обладают пониженной деформацией, что обусловлено ухудшением эластичности мембран в результате роста внутриклеточного содержания гемоглобина и снижением концентрации АТФ, а также изменением величины отношения площади поверхности эритроцита к его объему. Низкая деформабильность эритроцитов крыс опытной группы может быть и следствием увеличения концентрации гемоглобина и роста вязкости внутриклеточного содержимого в результате потери эритроцитами воды.

Таким образом, после недельного рациона, включавшего в качестве пищевой добавки одну из разновидностей цеолита — клиноптиолит, деформируемость



эритроцитов крыс достоверно снижалась. Данные морфометрических показателей указывают на преобладание в кровяном русле эритроцитов с меньшим диаметром, по сравнению с кровью крыс контрольной группы, что указывает на активность адаптационных процессов в организме экспериментальных животных, направленных на адекватное приспособление к изменившимся под влиянием цеолитов показателям гомеостаза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зинчук В. В. // Успехи физиол. наук. 2001. Т. 32. № 3. С. 66-78.
2. А.с. 2002106955/14(007161), МПК 7 G01N 33/483, 33/49. Устройство для оценки деформабильности эритроцитов / А. В. Белкин, В. В. Марьянских, Р. Р. Сайфиев. № 2236009; заявлено 18.03.2002; опублик. 10.09.2004.
3. Сайфиев Р. Р. Исследование деформируемости эритроцитов млекопитающих с использованием усовершенствованного эктацитометра: Дис. ... канд. биол. наук. Тюмень, 2003. 113 с.
4. Bayer, R. / R. Bayer, M.Greweling, T. Wimmer e.a. // Proc. SPIE. 1998. Vol. 3252. P. 62-69.
5. Born, M., Wolf, E. Principles of Optics. NY.: Pergamon Press, 1968. P. 267
6. Гаркави Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. А. Уколова. Р.н/Д.: Издательство Ростовского университета, 1977.
7. Ройт Р. Основы иммунологии. М.: Мир, 1991. С. 21-28.
8. Васильев Н. В. О некоторых иммунологических аспектах адаптационного процесса // Бюллетень СоАМН СССР. 1986. С. 21-28.
9. Jordan, J. Moderate exercise leads to decreased expression of betal and beta integrins on leucocytes / J. Jordan, R. Beneke, e.a. // Eur. J. Appl. Phisiol., 1997. Vol. 76. P. 192-194.
10. Викулов А. Д. Деформируемость эритроцитов у спортсменов / А. Д. Викулов, А. А. Мельников, И. А. Осетров // Физиол. человека. 1999. Т. 25. № 4. С. 136-139.

**Жанат Макановна МУКАТАЕВА** —  
зав. кафедрой анатомии и физиологии  
кандидат биологических наук, доцент

*Павлодарский государственный  
педагогический институт*

**Салтанат Жумабаевна ДАИРБАЕВА** —  
аспирант кафедры анатомии, физиологии и БЖД

**Айсара Айткалиевна МУХАНОВА** —  
аспирант кафедры анатомии, физиологии и БЖД

**Роман Иделевич АЙЗМАН** —  
зав. кафедрой анатомии, физиологии и БЖД,  
доктор биологических наук, профессор

*Новосибирский государственный  
педагогический университет*

УДК 612. 821

## **ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ 7-15 ЛЕТ Г. ПАВЛОДАРА**

**АННОТАЦИЯ.** В статье представлены результаты изучения психофизиологических особенностей развития детей 7-15 лет г. Павлодара..