

помещений со строгой барьерной системой, позволяет производить качественных лабораторных животных, а также проводить эксперименты на стандартных контролируемых по микробному фактору животных и может быть использована в любом научном учреждении.

Список литературы

1. *Абдрашитова Э.Х., Березовская И.В., Болотских Л.А. и др.* Гнотобиология для содержания лабораторных животных и выполнения экспериментов / В кн.: Лабораторные животные. М.: Межакадемическое изд-во ВПК. 2003. С. 67-70. 138 с.
2. *Болотских Л.А., Лушникова З.С.* Усовершенствованный способ получения гнотобиотических животных // Биомедицина. 2005. № 1. С. 114-115.
3. *Болотских Л.А., Подопригора Г.И.* Разработка и использование гнотобиотических методов в лаборатор-

ном животноводстве / В сб.: Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований. М.: 1987. 23 с.

4. *Душкин В.А., Интизаров М.М. и др.* Теоретические и практические основы гнотобиологии. М.: Колос. 1983. С. 3-11.

5. *Каркищенко Н.Н.* Альтернативы биомедицины. Т.2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. М.: Изд-во ВПК. 2007. 448 с.

6. *Каркищенко Н.Н.* Основы биомоделирования. М.: Межакадемическое изд-во ВПК. 2004. 607с.

7. *Подопригора Г.И., Душкин В.А., Болотских Л.А. и др.* Оперативные методы получения безмикробных мышей, крыс и морских свинок. Вестник АМН. 1981. № 12. С. 54-58.

8. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н.Каркищенко, С.В.Грачева. М.: Профиль-2С. 2010. С. 88-101.

Gnotobiotic introduction for creation of laboratory SPF-animals

L.A. Bolotskykh, N.N. Karkischenko, I.Uj. Egorova

The technology of reception and cultivation of laboratory SPF-status animals in isolator system is introduced. Advanced methodical receptions can be successfully used in laboratory animal industries for clearing of conventional animals of pathogenic microflora and their transfer in the SPF-status.

Key words: isolator system, gnotobiotic approach, gnotobiotic animals, SPF-animals.

Особенности гемореологического статуса у крыс с наследственным гипоталамическим несахарным диабетом (линия Brattleboro)

М.Б. Плотников, А.С. Васильев, О.И. Алиев

НИИ фармакологии СО РАМН, Томск

Контактная информация: профессор Плотников Марк Борисович oal@pharm.tsu.ru

Исследованы гемореологические показатели у крыс с наследственным гипоталамическим несахарным диабетом (линия Brattleboro). В сравнении с крысами Вистар у крыс линии Brattleboro значения вязкости цельной крови, вязкости плазмы, агрегации эритроцитов, концентрации фибриногена, гематокрита были повышены, а деформируемость эритроцитов и показатель доставки кислорода к тканям снижены.

Ключевые слова: гемореологические показатели, несахарный диабет, крысы линии Brattleboro.

Несахарный диабет – сложное по патогенезу эндокринное заболевание, основным симптомом которого является полиурия [1]. Вне зависимости от этиологии, полиурия приводит к сгущению крови [1], что должно отражаться в нарушении реологических свойств крови. Однако вопрос о состоянии реологических свойств крови у больных несахарным диабетом остается полностью неизученным. Вместе с тем, существует линия крыс *Brattleboro*, воспроизводящая основные патогенетические факторы наследственного гипоталамического несахарного диабета (diabetes insipidus) [15, 19].

Целью нашей работы явилось исследование гемореологического статуса у крыс линии *Brattleboro* в сравнении с гемореологическими показателями крыс линии *Wistar*.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 8 крысах-самцах линии *Brattleboro* и 8 крысах-самцах линии *Wistar* массой

200–250 г. Крысы линии *Brattleboro* были получены из НИИ цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, крысы *Wistar* – из лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск. Экспериментальные животные по микробиологическому статусу относятся к конвенциональным, содержались по 8 особей в поликарбонатных клетках (Тип 825 см²) на стандартном рационе вивария. Кровь забирала под эфирным наркозом из общей сонной артерии. В качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор натрия цитрата в соотношении с кровью 1:9. Относительную вязкость цельной крови и плазмы определяли на ротационном вискозиметре АКР-2, гематокрит оценивали методом центрифугирования в стеклянных капиллярах (центрифуга РС-6, 2000 об/мин. 15 мин.), содержание фибриногена измеряли фотометрическим методом по Klausс на гемокоагулометре Соруау КG-4. Спонтанную агрегацию эритроцитов исследовали методом силлектометрии на модифицированном микроколориметре МКМФ-1 с графиче-

ской регистрацией на графопостроителе Н306 [9] и рассчитывали $T_{1/2}$ (полупериод агрегации эритроцитов) – время, за которое величина исходного фотометрического сигнала снижается в два раза. Деформируемость эритроцитов изучали методом эктацитометрии на скоростях сдвига 90, 180, 360 и 890 c^{-1} [10]; показатель оценивали по индексу деформируемости эритроцитов (ИДЭ), рассчитываемому как отношение $(L-H)/(L+H)$, где L и H – соответственно больший и меньший диаметры первого дифракционного максимума. Индекс доставки кислорода к тканям определяли как отношение гематокрита к вязкости крови [17]. Эксперимент на животных проводили передозировкой диэтилового эфира для наркоза.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ «Statistica for Windows 6.0».

Рассчитывали среднее значение, ошибку среднего значения. Межгрупповые различия оценивали с помощью t – критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна–Уитни (U тест). Для определения взаимосвязи между исследуемыми показателями использовали метод ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение

У крыс линии *Brattleboro* в сравнении с крысами линии *Wistar* вязкость крови во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига (3–300 c^{-1}) была повышена на 25–53%, вязкость плазмы – на 20%, агрегация эритроцитов – на 38%, концентрация фибриногена – на 51%, показатель гематокрита – на 7%, деформируемость эритроцитов при скоростях сдвига 90–890 c^{-1} была ниже на 5–21% (табл. 1, 2).

Таблица 1

Вязкость крови (мПа•с) при различных скоростях сдвига (3–300 c^{-1}) у крыс линии *Wistar* и крыс линии *Brattleboro*

Серии опытов	3 c^{-1}	5 c^{-1}	7 c^{-1}	10 c^{-1}	100 c^{-1}	300 c^{-1}
Крысы <i>Wistar</i> (n=8)	6,6±0,2	6,3±0,2	6,1±0,2	5,8±0,2	3,9±0,1	3,6±0,1
Крысы <i>Brattleboro</i> (n=8)	10,1±0,2*	8,6±0,2*	8,0±0,1*	7,6±0,1*	5,1±0,1*	4,5±0,1*

Примечание (здесь и в табл. 2 и 3): * - $p < 0,05$ в сравнении с крысами линии *Wistar*

Таблица 2

Вязкость плазмы (ВП, мПа•с), полупериод агрегации эритроцитов ($T_{1/2}$, с), гематокрит (Hct, %), концентрация фибриногена (Fb, г/л), индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ, усл. ед.) при различных скоростях сдвига у крыс линии *Wistar* и крыс линии *Brattleboro*

Серии опытов	ВП	$T_{1/2}$	Hct	Fb	ИДЭ			
					90 c^{-1}	180 c^{-1}	350 c^{-1}	890 c^{-1}
Крысы <i>Wistar</i> (n=8)	1,4±0,1	10,1±0,5	45±1	2,15±12	0,128±0,010	0,250±0,016	0,384±0,018	0,535±0,019
Крысы <i>Brattleboro</i> (n=8)	1,7±0,1*	5,9±0,3*	49±1*	3,25±26*	0,122±0,010	0,209±0,0012	0,309±0,026*	0,420±0,014*

У крыс линии *Brattleboro* индекс доставки кислорода к тканям во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига

был ниже на 13–28% в сравнении со значениями этого показателя у крыс линии *Wistar* (табл. 3).

Таблица 3

Индекс доставки кислорода к тканям при различных скоростях сдвига (3–300 c^{-1}) у крыс линии *Wistar* и крыс линии *Brattleboro*

Серии опытов	3 c^{-1}	5 c^{-1}	7 c^{-1}	10 c^{-1}	100 c^{-1}	300 c^{-1}
Крысы <i>Wistar</i> (n=8)	6,8±0,1	7,1±0,1	7,4±0,2	7,8±0,2	11,5±0,2	12,5±0,2
Крысы <i>Brattleboro</i> (n=8)	4,9±0,1*	5,7±0,1*	6,1±0,1*	6,4±0,1*	9,6±0,2*	10,9±0,2*

Гемореологический профиль у крыс линии *Brattleboro* значительно отличается от такового у крыс линии *Wistar*. У крыс линии *Brattleboro* выявлены высокие значения вязкости крови в широком диапазоне скоростей сдвига, даже превосходящие аналогичные показатели у спонтанно гипертензивных крыс (линия *SHR*) и крыс линии *Wistar* с моделями сердечно-сосудистых расстройств – острая ишемия головного мозга и инфаркт миокарда [7, 8, 14].

Вязкость крови – интегральный показатель, который определяется как макрореологическими параметрами (гематокрит, вязкость плазмы), так и микрореологическими параметрами (агрегация и деформируемость эритроцитов) [5]. При анализе макрореологических показателей у крыс линии *Brattleboro* обращает на себя внимание значительное повышение гематокрита, что обусловлено гемоконцентрацией и является следствием полиурии [1]. Возрастание гематокрита закономерно приводит к повышению вязкости крови, причем зависимость эта носит не прямопропорциональный, а экспоненциальный характер [4]. С точки зрения гемодинамики, оптимальными считаются значения гематокрита 43–45%, при которых происходит максимальная доставка кислорода к органам (судя по pO_2 в тканях). Дальнейшее возрастание гематокрита сопровождается снижением доставки кислорода к тканям и уменьшением pO_2 ,

то есть состоянием тканевой гипоксии [5]. Очевидно, этот феномен может проявляться у крыс линии *Brattleboro*, у которых при значении гематокрита 49% настолько повышается вязкость крови, что это приводит к резкому снижению индекса доставки кислорода к тканям.

У крыс линии *Brattleboro* выявлены отчетливые нарушения микрореологических показателей – агрегации и деформируемости эритроцитов. Значения этих показателей во многом определяются состоянием мембран эритроцитов и активностью мембраносвязанных ферментов, ответственных за поддержание ионного гомеостаза клеток [2, 6, 11, 13]. В основе патогенеза НГНД лежит нарушение выработки антидиуретического гормона – вазопрессина [1]. При недостатке вазопрессина нарушается обмен воды и электролитов, что может играть существенную роль в формировании нарушений ионного гомеостаза эритроцитов. При дефиците вазопрессина наблюдается гипернатриемия, гиперосмолярность плазмы, гипокалиемия [16] и нарушение обмена ионов натрия и калия в эритроцитах [12, 18]. Известно, что нарушения ионного гомеостаза эритроцитов может приводить к изменению морфо-функционального состояния красных клеток крови с появлением в сосудистом русле эритроцитов с патологически измененными формами, склонных к повышенной агрегационной активности и, одновременно, снижен-

ной деформируемости [4, 5, 6]. Повышенной агрегации эритроцитов может также способствовать возрастание в плазме крови содержания фибриногена, концентрация которого у крыс линии *Brattleboro* в 1,5 раза превосходит таковую у крыс линии *Wistar*. Фибриноген обладает большой молекулярной массой, выраженной асимметричностью молекулы и играет активную роль в процессе агрегации эритроцитов по мостиковому механизму [4, 5].

При сравнительном анализе гемореологических показателей у крыс линии *Brattleboro* и крыс линии *Wistar* возникает вопрос: являются ли особенности гемореологического статуса крыс *Brattleboro* отражением специфических биологических характеристик животных этой линии, или же у крыс линии *Brattleboro* формируется синдром повышенной вязкости крови (СПВК) как патологическое состояние? На этот вопрос позволяет ответить анализ корреляционных взаимосвязей гемореологических параметров.

Корреляционный анализ обнаружил у крыс линии *Wistar* наличие множественных взаимосвязей: отрицательная корреляция выявлена между вязкостью крови на высоких скоростях сдвига (100–300 с⁻¹) и деформируемостью эритроцитов ($r = -0,856$; $p < 0,05$), полупериодом агрегации эритроцитов и гематокритом ($r = -0,789$; $p < 0,05$), полупериодом агрегации эритроцитов и уровнем фибриногена в плазме крови ($r = -0,937$; $p < 0,05$); отрицательная корреляция средней степени выявлена между вязкостью крови при низких скоростях сдвига (3–10 с⁻¹) с полупериодом агрегации эритроцитов ($r = -0,656$; $p < 0,05$) (рис. 1). Кроме этого, установлена положительная корреляция вязкости крови с концентрацией фибри-

ногена в плазме ($r = 0,856$; $p < 0,05$) и гематокритом ($r = 0,726$; $p < 0,05$). У крыс линии *Brattleboro* утрачивалась взаимосвязь вязкости крови с гемореологическими параметрами (гематокритом, вязкостью плазмы и концентрацией фибриногена), однако сохранялась лишь взаимосвязь между вязкостью крови на скорости сдвига 300 с⁻¹ и деформируемостью эритроцитов на высоких скоростях сдвига ($r = -0,81-0,88$; $p < 0,05$).

Следовательно, у крыс линии *Brattleboro* при генетически детерминированном НГНД отсутствует взаимосвязь процессов регуляции и согласованности элементов функциональных систем реологии крови. Очевидно, отсутствие корреляционных взаимосвязей между гемореологическими параметрами у крыс линии *Brattleboro* свидетельствует о предельном случае состояния дисрегуляции, при котором адаптация невозможна, и ведущими становятся деструктивные процессы [3].

На основании полученных данных и выявленных корреляций можно сделать вывод, что наличие синдрома повышенной вязкости крови у крыс линии *Brattleboro* является не биологической особенностью данной линии животных, а именно патологическим состоянием, формирующимся за счет изменения макрореологических и микрореологических параметров.

Выводы

1. Гемореологические параметры у крыс линии *Brattleboro* значительно отличаются от таковых показателей у крыс линии *Wistar*, что выражается в повышенных значениях вязкости крови и плазмы, агрегации эритроцитов, гематокрита, концентрации фибрино-

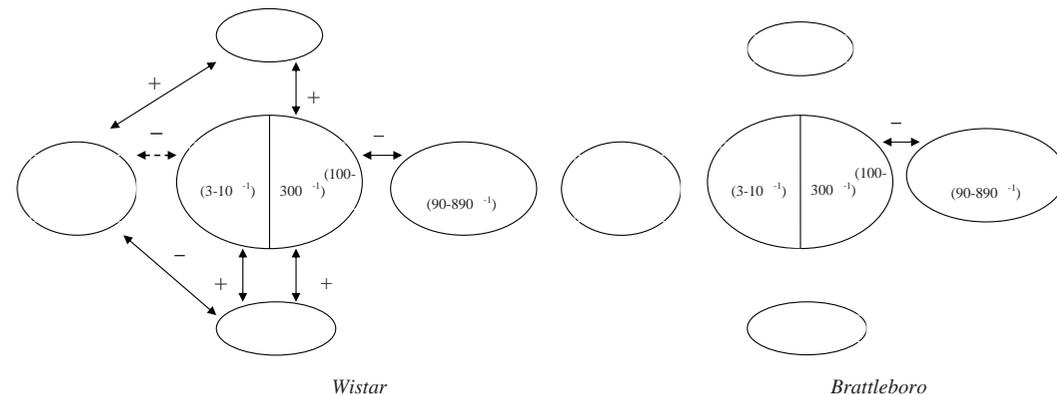


Рис. Корреляционные связи между гемореологическими параметрами у крыс линии *Wistar* и у крыс линии *Brattleboro*.

↔ – высокая степень корреляционной связи, – средняя степень корреляционной связи.

гена и характеризуется сниженным индексом деформируемости эритроцитов и уменьшением индекса доставки кислорода к тканям.

2. У крыс линии *Brattleboro* нарушены корреляции между основными гемореологическими параметрами, что характеризует формирование у крыс этой линии синдрома повышенной вязкости крови.

Список литературы

1. Алёшин Б.В., Генес И.Г., Возгралик В.Г. Руководство по эндокринологии. М.: Медицина. 1973. 512 с.
2. Габриэлян Э.С., Акопов С.Э. Клетки крови и кровообращение. Ереван. 1985. 399 с.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Удут В.В. и др. Структурная организация систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса. Томск. 1997. 304 с.
4. Левтов В.А., Рязанцев С.А., Шадрин И.Х. Реология крови, М.: Медицина. 1982. 272 с.
5. Муравьев А.В., Чопоров С.В. Гемореология (экспериментальные и

клинические аспекты реологии крови). Ярославль: Изд-во ЯГПУ. 2009. 178 с.

6. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Изд-во ТГУ. 2004. 202 с.

7. Плотников М.Б., Алиев О.И., Колтунов А.А., Маслов М.Ю. Синдром повышенной вязкости крови у крыс линии SHR: анализ адекватной модели // Бюл. экспер. биол. и медицины. 1998. № 8. С. 150-152.

8. Плотников М.Б., Колтунов А.А., Алиев О.И. Моделирование синдрома повышенной вязкости крови у крыс: оценка взаимосвязи гемореологических показателей и их информативности при ишемии мозга // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1996. № 9. С. 274-275.

9. Плотников М.Б., Алиев О.И., Попель Ф.В. Модификация микроколориметра МКМФ-1 для регистрации агрегации эритроцитов // Клини. лаб. диагностика. 1995. № 3. С. 457-458.

10. Bessis M., Mohandas N. A diffractometric method for the measurement of cellular de-formability // Blood Cells. 1975. Vol. 1. P. 307-313.

11. De Franceschi L., Villa-Moruz-

zi E., Fumagalli L., Brugnara C., Tur-rini F. et al. K-Cl cotransport modulation by intracellular Mg in erythrocytes from mice bred for low and high Mg levels. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2001. Vol. 281. P. 1385-1395.

12. *Doczi T., Joo F., Szerdahelyi P., Bodosi M.* Regulation of brain water and electrolyte con-tents: the opposite actions of central vasopressin and atrial natriuretic factor (ANF) // Acta Neurochir Suppl (Wien). 1988. Vol. 43. P. 186-188.

13. *Liu F., Mizukami H., Sarnaik S.* Calciumdependent human erythrocyte cytoskeleton stability analysis through atomic force microscopy // J. Struct. Biol. 2005. Vol. 150. P. 200-210.

14. *Plotnikov M.B., Aliev O.I., Maslov M.Ju., Vasiliev A.S.* and Tjukavkina N.A. Correction of Haemorheological Disturbances in Myocardial Infarction by Diquertin and Ascorbic Acid // Phytother. Res. 2003. Vol. 17. P. 86-88.

15. *Schmale H., Richter D.* Single

base deletion in the vasopressin gene is the cause of diabetes insipidus in Brattleboro rats. // Nature. 1984. Vol. 308(5961). P. 705-709.

16. *Somova L.; Ivanova E.; Zaharieva S.; Kirilov G.; Popov P* Water-electrolyte balance and hypothalamopituitary-adrenocortical function in rats with inherited diabetes insipidus (Brattleboro strain) // Acta Physiol. Pharmacol. Bulg. 1985. Vol. 11(4) P. 63-68.

17. *Stoltz J.E., Donner M.* New trends in clinical hemorheology: an introduction to the concept of the hemorheological profile // Schweiz. Med. Wochenschr. 1991. Vol. 43, Suppl. P. 41-49.

18. *Talib H.K., Zicha J.* Red cell sodium in DOCA-salt hypertension: a Brattleboro study. // Life Sci. 1992. Vol. 50(14). P. 1021-1030.

19. *Valtin H., Schroeder H.A.* Familial hypothalamic diabetes insipidus in rats (Brattleboro strain) // Am. J. Physiol. 1964. Vol. 206. P. 425-430.

The hemorheological status in rats with familial hypothalamic diabetes insipidus (brattleboro strain)

M.B. Plotnikov, A.S. Vasil'ev, O.I. Aliev

The hemorheological indices in rats with familial hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain) were investigated. The whole blood viscosity, plasma viscosity, aggregation of erythrocytes, fibrinogen concentration, hematocrit rate were increased and deformability of erythrocytes and blood's overall oxygen transport capacity were decreased in Brattleboro rats in comparison with Wistar rats.

Key words: hemorheology, diabetes insipidus, Brattleboro rats.



Иммуномодулирующие свойства композиции фенотропила и глутаминовой кислоты

И.Н. Тюренков¹, М.А. Самотруева², Н.Н. Гражданцева², Е.Б. Хлебцова², В.М. Берестовицкая³, О.С. Васильева³

¹ – Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград

² – Астраханская государственная медицинская академия, Астрахань

³ – Российский государственный педагогический университет, Санкт-Петербург

Контактная информация: Самотруева Марина Александровна ms1506@mail.ru

В данной работе проводили экспериментальное изучение иммунокорректирующих свойств композиции «фенотропил + L-глутаминовая кислота» (РГПУ-158) на моделях циклофосфамидной иммунодепрессии и ЛПС-индуцированного иммунного стресса. Установлено, что РГПУ-158 восстанавливает клеточное (индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа) и гуморальное (титр антиэритроцитарных антител) звенья иммунитета, а также лимфопролиферативные процессы в иммунокомпетентных органах.

Ключевые слова: фенотропил, L-глутаминовая кислота, композиция, иммунный стресс, иммунодепрессия, иммунокоррекция.

В связи с широким использованием нейротропных лекарственных средств в неврологической и психиатрической практике и подтверждением теории «вовлеченности» иммунных механизмов в развитие нейropsychической патологии (синдром хронической усталости, болезнь Альцгеймера, депрессия, эпилепсия и др.), стали актуальными фармакологические разработки, направленные на создание препаратов из группы аналогов нейромедиаторов, способных наряду с положительным влиянием на психоэмоциональный статус устранять еще и нарушения в иммунной системе [1, 2, 4].

В последние годы получены данные о влиянии ГАМК, ГОМК, глутаминовой кислоты на различные звенья иммуногенеза [3]. Так, нами ранее показано, что известные производные ГАМК – фенибут и фенотропил – проявляют иммунокорректирующие свойства, восстанавливая показатели клеточной, гуморальной иммунореактивности, а также фагоцитарного звена иммунного ответа в условиях экспериментальной иммунопатологии [5, 6]. В исследованиях А. Sali (1997) и С. Schubert (2009) установлено, что глутаминовая кислота также оказывает стимулирующее влияние на активность иммунной системы, увеличивая количе-