

УДК 612.421-423+612.014.4

И. С. КОЛБАЙ, У. Н. КАПЫШЕВА, Ш. К. БАХТИЯРОВА, А. БАЙМБЕТОВА

СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ВНД ПРИ НЕВРОТИЗАЦИИ И ДЕЙСТВИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

(Представлена академиком НАН РК К. Т. Ташеновым)

В экспериментах на крысах установлено, что резистентность мембран эритроцитов у крыс зависит от индивидуально-типологических особенностей ВНД: эритроцитарные мембранны у животных сильного типа были более устойчивы в гипо- и гипертонических растворах. 21-дневная невротизация крыс разных типов приводит к снижению резистентности мембран эритроцитов, причем более выраженному у крыс слабого типа. Биосластилин, витамин С, а-токоферол, поступающие в организм *per os*, снижают негативный эффект хронической невротизации, повышая резистентность эритроцитарных мембран.

Воздействие стресс-факторов на организм может вызвать развитие общего адаптационного синдрома у одних особей в виде эустресса, являющегося защитной реакцией организма, запускающей компенсаторный механизм быстрого восстановления нарушенных функций, а у других переходящего в со-

стояние дистресса с развитием устойчивой, длительно сохраняющейся дезинтеграции психических, двигательных и висцеральных функций и восстановлением функций на новом уровне, что характерно для неврозов [1-3]. При этом существенным фактором, определяющим степень развития неврозов,

является устойчивость к стрессу, вытекающая из индивидуально-типологических особенностей (ИТО) высшей нервной деятельности (ВНД) субъектов [4].

В последнее время при исследовании механизмов патогенеза неврозов большое значение придается роли церебральной циркуляторной гипоксии [5-7]. При нарушениях мозгового кровообращения развивается окислительный стресс и происходит нарушение структурно-функциональной целостности клеточных мембран [8].

В настоящее время для профилактики стресса широко применяются биологически активные вещества (БАВ), обладающие антигипоксическим действием [9, 10]. Так, М. Г. Айрапетянц с сотр. [11] подчеркивают высокий лечебно-профилактический эффект комплекса витамина Е (б-токоферол) и димексида, каждый из которых сохраняет положительные свойства и дает ряд новых качеств, обусловленных их взаимодействием [11].

Учитывая, что ранее нами был выявлен положительный эффект БАВ биосластилин для коррекции сдвигов, вызываемых действием на состояние клеточных мембран различных экстремальных факторов [12, 13], в настоящем исследовании мы попытались определить возможность его использования наряду с известными антиоксидантами – витаминами С и Е для коррекции сдвигов резистентности мембран эритроцитов как модельного объекта при развитии экспериментального невроза у животных сильного, слабого и промежуточного типов ВНД.

Материалы и методы

В экспериментах использовали 190 взрослых лабораторных белых крыс обоего пола массой 200–290 г, 40 из которых служили контролем.

Проведены 4 серии экспериментов, в которых у крыс в тестах «открытое поле» (ОП) [14] и «эмоциональный резонанс» (ЭР) [15] определяли ИТО ВНД. В 1-й серии опытов животных подвергли 21-дневной невротизации без применения БАВ. Во 2–4-й сериях животным на протяжении 3-х недель во время невротизации рег ос давали соответственно биосластилин (БС, 0,25 мг на крысу), витамин С (0,25 мг) и витамин Е (1,5 МЕ).

21-дневная невротизация включала совместное, взаимно усиливающее воздействие астенизирующих и невротизирующих факторов истощения компенсаторных реакций организма крыс. Невротизацию мы проводили по ранее разработанному методу [16] с

некоторыми модификациями [17=6]. Время невротизации составляло 4–5 ч ежедневного воздействия.

У контрольных крыс и животных, подвергнутых стрессированию, в острых опытах под нембуталовым наркозом (4 мг/100 г массы тела, внутримышечно) канюлировали наружную сонную артерию для взятия проб крови. Для предотвращения свертывания крови в качестве антикоагуланта вводили гепарин (500 ЕД/кг внутривенно).

После центрифугирования крови в течение 10 мин при 1000g эритроциты дважды промывали средой инкубации, содержащей 150 mM NaCl, 5 mM Na₂HPO₄ (pH 7,4).

Оsmотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ), о которой судили по степени гемолиза, определяли, помещая эритроциты в 0,40 г/100 мл раствор хлористого натрия. Изучали также гиперосмотическое сахарозное сжатие и тепловой шок эритроцитов [18]. При расчетах за 100% брали максимальный уровень гемолиза, вызываемый 0,1 г/100 мл раствора Na₂CO₃, и относительно него рассчитывали полученные величины.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel, и изменения параметров с учетом непарного критерия Фишера–Стьюдента считали достоверными при р φ 0,05.

Результаты и их обсуждение

У контрольных крыс резистентность мембран эритроцитов в определенной мере была связана с ИТОП. Так, осмотический гемолиз эритроцитов был наименьшим у животных сильного типа и равнялся 73,34±3,7%, у промежуточного – 73,95±4,2%, а наибольшим – у слабого типа, составляя в среднем 78,03±3,5%.

На рис. 1 приведены данные о влиянии невротизации, проведенной как изолированно, так и в сочетании с применением БАВ, у крыс трех типов ВНД на ОРЭ при действии 0,4 г/100 мл раствора хлористого натрия.

Как видно из рис. 1, невротизация приводила к повышению осмотического гемолиза в среднем на 3,6, 14,3 (р<0,05) и 11,0% (р<0,05) соответственно у крыс сильного, промежуточного и слабого типов. Стressирование крыс на фоне применения БАВ приводило к менее выраженному повышению гемолиза или даже снижению этого показателя. При этом у крыс сильного типа положительный эффект БАВ был более выражен.

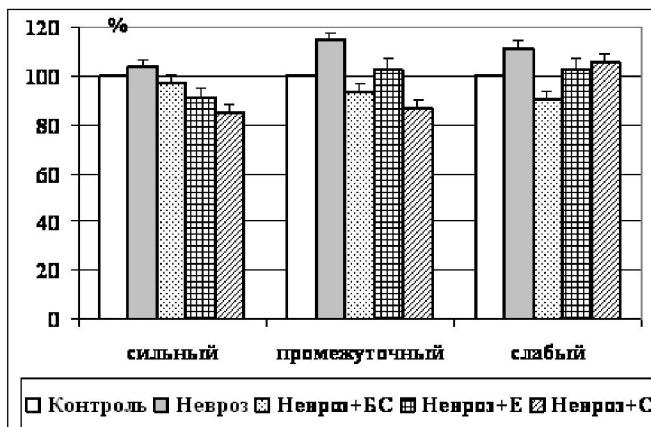


Рис. 1. Влияние невротизации и БАВ на ОРЭ (%)

у крыс при действии 0,4 г/100 мл NaCl.

БС – биосластилин, Е – витамин Е, С – витамин С

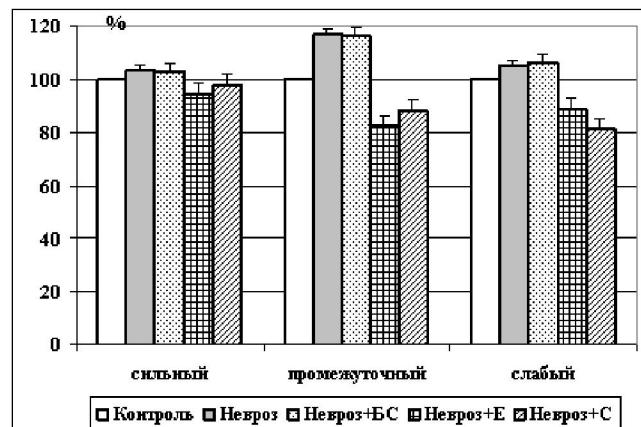


Рис. 2. Влияние невротизации и БАВ на ОРЭ (%)

у крыс при действии 4 М раствора сахарозы.

БС – биосластилин, Е – витамин Е, С – витамин С

Более выраженное снижение ОРЭ у крыс слабого типа было также выявлено при сахарозном сжатии эритроцитов. В контрольных условиях уровень гемолиза при действии 4 М раствора сахарозы у крыс сильного, промежуточного и слабого типов равнялся соответственно $17,34 \pm 8,12$, $19,66 \pm 9,41$ и $20,13 \pm 9,56\%$. При 21-дневной невротизации у животных сильного, промежуточного и слабого типов гемолиз эритроцитов возрастал на $3,1$, $16,5$ ($p < 0,001$) и $11,0\%$ ($p < 0,001$), соответственно (рис. 2). Использование БАВ сопровождалось меньшими по выраженности сдвигами резистентности мембран эритроцитов в ответ на невротизацию, причем при действии витаминов С и Е уровень гемолиза эритроцитов был даже меньше, чем в контроле, что особенно наглядно проявилось у крыс промежуточного и слабого типов (см. рис. 2).

При гиперосмотическом шоке, вызываемом 4М раствором NaCl, в условиях предварительного прогревания эритроцитов в контрольных условиях уровень гемолиза у крыс сильного, промежуточного и слабого типов равнялся соответственно $39,26 \pm 9,24$, $42,44 \pm 10,34$ и $42,93 \pm 10,00\%$. При 21-дневной невротизации у животных сильного, промежуточного и слабого типов гемолиз эритроцитов возрастал на $9,2$ ($p < 0,01$), $6,3$ ($p < 0,05$) и $5,2\%$ ($p < 0,05$) соответственно, т.е. у крыс сильного типа в большей степени, чем у животных слабого типа (рис. 3). Использование БАВ на фоне невротизации приводило к неоднозначным сдвигам уровня гемолиза эритроцитов. Так, при использовании БС снижение гемолиза отмечалось только у крыс сильного типа, а при действии витаминов С и Е – только у живот-

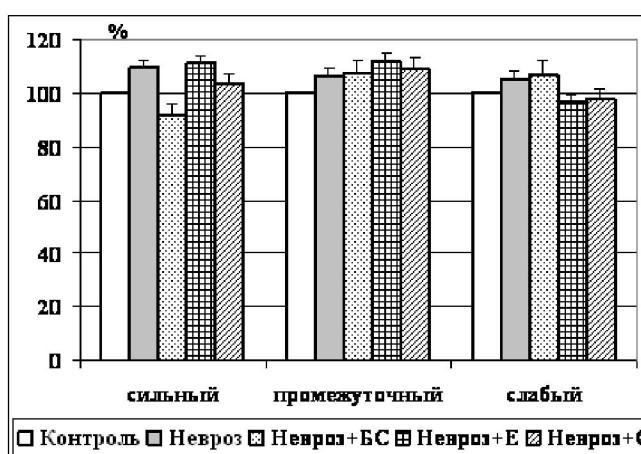


Рис. 3. Влияние невротизирующего стрессирования и БАВ на осмотическую резистентность прогретых эритроцитов (%)

у крыс при действии 4 М раствора NaCl у крыс.

БС – биосластилин, Е – витамин Е, С – витамин С

ных слабого типа, тогда как у крыс промежуточного типа уровень гемолиза прогретых эритроцитов даже возрастал (см. рис. 3).

Переходя к обсуждению полученных результатов, следует отметить, что согласно литературным данным у животных, подвергнутых острому эмоциональному стрессу, наблюдается избирательная устойчивость различных вегетативных функций. Отсутствие нарушений в одном органе может сочетаться с повреждением других, поэтому об устойчивости субъекта к эмоциальному стрессу следует судить комплексно, на основании системного анализа многих физиологических функций в их взаимосвязи, в том числе и в связи с типологическими особенностями ВНД [19]. При этом сама по себе

стабильность вегетативных параметров не является абсолютным признаком отсутствия вегетативных реакций и изменений в конфликтных стрессорных ситуациях. Согласованная реакция на стресс, выраженная через изменение значений вегетативных показателей, свидетельствует о процессе адаптации данных животных к воздействию, вызывающему целостную интегрированную реакцию [20].

Проведенные нами эксперименты показали, что длительное стрессирование крыс приводит к нарушению резистентности мембран, в частности мембран эритроцитов, причем этот процесс в определенной мере определяется нарушениями структурно-функциональной организации белкового компонента мембранны. Так, при исследовании структурно-метаболических свойств и функционального статуса красных кровяных клеток у пациентов с невротическими расстройствами в ранние сроки после действия психогенных факторов (до 3 мес.) выявлены дезорганизация липидного и белкового составов мембранны эритроцитов, увеличение микровязкости ее липидной фазы, нарушение поверхностной архитектоники и ультраструктуры клеток красной крови, снижение деформируемости и возрастание агрегационной способности эритроцитов. Стабильность молекулярной организации эритроцитарной мембранны и функциональных свойств красных кровяных клеток при продолжительном действии психогенных факторов расценивается авторами с точки зрения адаптивной перестройки организма в условиях действия невротизирующих факторов [21].

Результаты, свидетельствующие о снижении у стрессированных крыс резистентности эритроцитов при гиперосмотическом сжатии сахарозой, молекулы которой не проникают через плазматическую мембрану, позволяют предполагать что при этом уменьшается объем эритроцитов, меняются системы транспорта ионов, в том числе и за счет ингибиции Na^+/K^+ -АТФазы [22]. Известно, что у больных гипертонической болезнью наблюдается повышенная проницаемость плазматической мембранны для одновалентных катионов и уменьшен объем эритроцитов [23]. При этом следует отметить, что скорость переноса одновалентных катионов через плазматическую мембрану, осуществляется посредством Na^+/K^+ -АТФазы и другими системами переноса, также контролируется факторами, регулирующими активность протеинкиназ и объем клетки [24].

Полученные нами данные свидетельствуют о

том, что при длительном невротизирующем воздействии у животных меняются свойства мембранных белка спектрина, что и выявляется при действии 4 М раствора хлористого натрия в условиях прогревания эритроцитов [18].

Ишемия мозга — процесс, вырастающий из локальных нарушений кровообращения как комбинация гипоксии (понижения уровня снабжения клеток кислородом), гипогликемии (снижения притока глюкозы к клеткам) и ацидоза (закисления от накопления в клетках продуктов гликолиза, которые не могут быть унесены с током крови). Чем быстрее будут устранены эти факторы, тем менее болезненны последствия для будущего функционирования мозга. Для их устранения следует восстановить нормальное кровоснабжение. Однако тут нас подстерегают последствия кислородного парадокса — восстановление снабжения тканей кислородом чревато ростом активных форм кислорода. Естественным выводом из анализа этих событий явилась концепция антирадикальной терапии — использование антиоксидантных соединений и ферментов, способных понижать уровень свободных радикалов в тканях [25].

Сопоставление действия трех биологически активных веществ показывает, что использованные нами БАВ в основном оказывали защитный эффект в отношении мембран эритроцитов, повышая их резистентность к действию невротизации, причем этот эффект зависел от ИТО ВНД животных.

Таким образом, исследования показали, что резистентность мембран эритроцитов у крыс зависит от индивидуально-типологических особенностей ВНД: эритроцитарные мембранны у животных сильного типа были более устойчивы в гипо- и гипертонических растворах. 21-дневная невротизация крыс разных типов приводит к снижению резистентности мембран эритроцитов, причем более выраженному у крыс слабого типа. Биосластилин, витамин С, б-токоферол, поступающие в организм регос, снижают негативный эффект хронической невротизации, повышая резистентность эритроцитарных мембранны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баевский Р.М. Концепция физиологической нормы и критерии здоровья // Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. 2003. Т. 89, № 4. С. 473-487.
2. Карвасарский Б.Д. Неврозы. М.: Медицина, 1990. 573 с.
3. Симонов П.В. Корково-подкорковые взаимодействия в процессе формирования эмоций // Журнал ВНД. 1991. Т. 41, вып. 2. С. 111-220.
4. Айрапетянц М.Г., Вайн А.М. Неврозы в эксперименте и

- клинике. М.: Наука, 1982. 272 с.
5. Айрапетянц М.Г. Участие церебральной гипоксии в патогенезе неврозов (новая концепция) // Журн. ВНД. 1997. Т. 47, вып. 2. С. 412-419.
 6. Действие нейротоксина AF64A на реакции невротизированных крыс // Журн.ВНД. 1998. Т.48, вып.3. С.534-539.
 7. Gulyaeva N.V., Onufriev M.V., Stepanichev M.Yu. NO-synthase and free radical generation in brain regions of old rats: correlations with individual behaviour // NeuroReport. 1994. V. 6. P. 94.
 8. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге // Нейрохимия. 1996. № 13. С. 271-278.
 9. Айрапетянц М.Г., Левшина И.П., Ноздрачева Л.В., Шуйкин Н.Н. Коррекция поведенческих и физиологических показателей неврозоподобного состояния белых крыс введением янтарной кислоты // Журн. ВНД. 2001. Т. 51, № 3. С. 360-366.
 10. Бурлакова Е.В., Александровский Ю.А., Евсеенко Л.С. и др. Изменения перекисного окисления липидов под влиянием транквилизаторов и вопросы патогенетической терапии невротических расстройств // Современные проблемы нейропсихо-фармакологии, принципы патогенетического лечения больных нервными и психическими заболеваниями. М., 1984. Ч. 2. С. 1.
 11. Айрапетянц М.Г., Левшина И.П., Шуйкин Н.Н. Коррекция проявлений неврозоподобного состояния белых крыс с помощью витаминного комплекса аекол // Журн. ВНД. 2000. Т. 50, вып. 2. С. 274-280.
 12. Колбай И.С., Мурзахметова М.К. Оценка эффективности защиты клеточных мембран биологически активными веществами при действии экстремальных факторов // Изв. МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. 2001. № 4. С. 62-67.
 13. Колбай И.С., Сейткулова Л.М. Кадмий иондары мен биосластилиннің бір катар тканьдердің протеолиздік белендейділгіне және канның ақуызы мен жасушаның құрамына жағдайлайындағы әсері // КРБГМ, ҰҒА Хабарлары. Биол. және мед. сериясы. 2001. № 3. Б. 46-50.
 14. Hall C.S. Original methods // J. Comp. Psychol. 1934. V. 18. P. 385.
 15. Симонов П.В. Условные реакции эмоционального резонанса у крыс // Нейрофизиологический подход к анализу внутривидового поведения. М., 1976. С. 6.
 16. Заркешев Э.Г., Плесцов О.Л. Методика получения экспериментальных неврозов у морских свинок и крыс // Изв. АН КазССР. Сер. биол. 1989. № 5. С. 88-90.
 17. Капышева У.Н. Сравнительная характеристика методов невротизации крыс // Вестн. КазНУ. Сер. биол. 2004. № 2(23). С. 102-104.
 18. Абдрасилов Б.С. Молекулярные механизмы действия тритерпеновых гликозидов даммаранового ряда на структурно-функциональное состояние мембран и клеток: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1977. 44 с.
 19. Юматов Е.А., Мещерякова О.А. Прогнозирование устойчивости к эмоциональному стрессу на основе индивидуального тестирования поведения // Журнал ВНД. 1990. Т. 40, вып. 3. С. 575-579.
 20. Баевский Р.М. Концепция физиологической нормы и критерии здоровья // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2003. Т. 89, № 4. С. 473-487.
 21. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Взгляд на закономерности изменений молекулярной организации мембранны и функциональных свойств эритроцитов при невротических расстройствах // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2003. Т. 89, № 2. С. 129-138.
 22. Орлов С.Н., Покудин Н.И., Постнов Ю.В. Транспорт одновалентных катионов в эритроцитах человека и крысы: регуляция активаторами протеинкиназ и сжатием // Кардиология. 1988. Т. 28, № 3. С. 91-96.
 23. Postnov Y.V., Orlov S.N., Shevchenko A., Adler A.M. Altered sodium permeability, calcium binding and Na^+/K^+ -ATPase activity in the red blood cell membrane in essential hypertension // Pflugers Arch. 1977. Bd. 371, N 3. S. 263-269.
 24. Орлов С.Н., Покудин Н.И., Ряжский Г.Г., Котелевцев Ю.В. О механизме регуляции транспорта ионов через плазматическую мембрану при изменении объема клетки // Биол. мембранны. 1988. Т. 5, № 10. С. 1030-1040.
 25. Болдырев А.А. Оксидативный стресс и мозг // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7, № 4. С. 21-28.

Резюме

Егеркүйріктарда жүргізілген тәжірибелер бойынша эритроцит мембранның тұрақтылығы жоғары нерв әрекетініңжеке типті ерекшеліктеріне байланысы көрсетілген: күшті типті жануарлардың эритроцит мембраналары гипо- және гипертониялық ерітінділерде тұрақты болған. 21 күндік невротизация егеркүйріктардың эритроцит мембраналарының тұрақтылығын темендегеді және де әлсіз типті жануарларда көрсетілген. Биосластилин, С және Е витаминдер эритроцит мембраналарының тұрақтылығын жоғарылатып, невротизацийның негатив әсерін темендегеді.

Summary

In experiments on rats it was established that the resistance of erythrocyte membranes in rats were depended on the individual typological peculiarities of the higher nervous activity: the erythrocyte membranes of the strong type animals were more resistant in hypo- and hyper-osmotic solutions. 21-days neurotization of the animals decreased the erythrocyte membranes resistance, and the animals of the weak type had more expressed parameters' shifts. Bioslastilin, C, and E vitamins administer per os, decreased the negative effect of the chronic neurotization, increasing erythrocyte membranes resistance.

*Институт физиологии человека
и животных ЦБИ МОН РК,
г. Алматы*

Поступила 3.06.06г.