

МЕТОДИКИ

КРЫСЫ ЛИНИИ BRATTLEBORO КАК МОДЕЛЬ СИНДРОМА ПОВЫШЕННОЙ ВЯЗКОСТИ КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СРЕДСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

М.Б.Плотников^{*,**}, А.С.Васильев^{*}, О.И.Алиев^{*,**}, Л.Н.Зибарева^{**}

**ФГБУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д.Гольдберга СО РАМН, Томск, РФ; **ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, РФ*

У крыс линии Brattleboro описан синдром повышенной вязкости крови. По сравнению с крысами Вистар гемореологический профиль крыс этой линии характеризовался достоверным и отчетливым повышением вязкости цельной крови, вязкости плазмы, гематокрита, содержания в плазме крови фибриногена, агрегации эритроцитов, а также снижением деформируемости эритроцитов. В условиях этой модели синдрома повышенной вязкости крови у крыс линии Brattleboro экстракт лихниса халцедонского при курсовом (10 сут) внутрижелудочном введении в дозе 150 мг/кг проявлял гемореологическую активность за счет воздействия на макрореологические (вязкость плазмы, концентрация фибриногена) и микрореологические (агрегация и деформируемость эритроцитов) параметры. Следовательно, крысы линии Brattleboro являются адекватной моделью синдрома повышенной вязкости крови, пригодной для поиска и исследования веществ, обладающих гемореологической активностью.

Ключевые слова: наследственный гипоталамический несахарный диабет, крысы линии Brattleboro, экстракт лихниса халцедонского, синдром повышенной вязкости крови, агрегация и деформируемость эритроцитов

Линия крыс Brattleboro воспроизводит основные патогенетические факторы наследственного гипоталамического несахарного диабета. По сравнению с крысами Вистар у животных линии Brattleboro выявлены достоверные и выраженные сдвиги всех макро- и микрореологических показателей: высокие значения вязкости цельной крови, вязкости плазмы, агрегации эритроцитов, концентрации фибриногена, гематокрита, низкие значения деформируемости эритроцитов [6]. Анализ гемореологического профиля свидетельствует о формировании у крыс линии Brattleboro патологического состояния — синдрома повышенной вязкости крови (СПВК).

Целью данной работы являлась оценка возможности использования крыс линии Brattleboro в качестве тест-системы для исследования средств, обладающих гемореологической активностью.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 16 крысах-самцах линии Brattleboro и 8 крысах-самцах Вистар в возрасте 2.5-3.0 мес массой 200-250 г. Крысы линии Brattleboro получены из НИИ цитологии и генетики СО РАН, крысы Вистар — из отдела экспериментальных биологических моделей НИИ фармакологии СО РАМН. Экспериментальные животные по микробиологическому статусу относятся к конвенциональным.

Крысы находились в стандартных пластиковых клетках ("Velaz") на подстилке из мелкой

древесной стружки по 5 особей в клетке в открытом режиме на стандартном рационе вивария. Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Температура воздуха в виварии составляла 20–23°C, влажность — не более 50%, объем воздухообмена (вытяжка:приток) — 8:10, световой режим (день:ночь) — 1:1.

Крыс линии Brattleboro после 14-дневного карантина разделяли на опытную и контрольную группы. Сухой экстракт лихниса халцедонского (ЭЛХ), обладающего отчетливой гемореологической активностью на разных моделях гипервязкости крови *in vitro* и *in vivo* [1–4], получали из надземной части *Lychnis chalcidonica* L. методом реперколяции 40% раствором этанола с последующей лиофилизацией. ЭЛХ стандартизовали по содержанию в нем экидистерона (0.74%). Животным опытной группы ЭЛХ вводили внутривенно в дозе 150 мг/кг в виде взвеси в 1% крахмальной слизи в течение 10 сут, контрольным крысам — эквивалентное количество 1% крахмальной слизи.

В конце эксперимента крыс наркотизировали эфирным наркозом, катетеризировали общую сонную артерию при помощи тефлонового катетера и брали пробы крови; в качестве стабилизатора использовали 3.8% раствор цитрата натрия в соотношении с кровью 1:9. В пробах крови измеряли вязкость цельной крови, вязкость плазмы, гематокрит, агрегацию эритроцитов, деформируемость эритроцитов. Вязкость цельной крови и плазмы регистрировали на ротационном вискозиметре АКР-2. Гематокрит определяли методом центрифугирования в стеклянных капиллярах на центрифуге МГЦ-8. Количество фибриногена в плазме определяли на коагулометре "KG-IV" ("Cormay") хронометрическим методом по Clausс с использованием диагностического набора "Тех-фибриноген-тест" (ООО "Технология-стандарт"). Агрегацию

и деформируемость эритроцитов измеряли на аппарате "RheoScan AnD-300" ("RheoMeditech Inc"). Критерием агрегационной активности эритроцитов служил полупериод агрегации; снижение этого параметра отражает повышение агрегационной способности эритроцитов. Деформируемость эритроцитов оценивали по индексу элонгации эритроцитов (ИЭЭ) при напряжении сдвига 20 Па. Доступность кислорода для тканей рассчитывали по соотношению гематокрит/вязкость крови при высоких скоростях сдвига 300 с⁻¹ [8]. Животных выводили из эксперимента в СО₂-камере.

Для статистической обработки данных использовали *t* критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

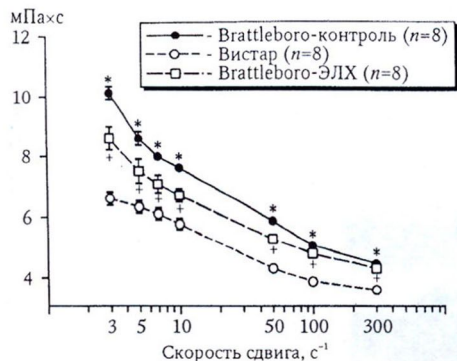
У крыс линии Brattleboro по сравнению с крысами Вистар вязкость цельной крови во всем исследованном диапазоне скоростей сдвига была повышена на 25–53% (рисунок), вязкость плазмы — на 20%, концентрация фибриногена — на 51%, показатель гематокрита — на 7%, агрегация эритроцитов — на 38%, деформируемость эритроцитов была ниже на 21% (таблица). Таким образом, гемореологический профиль у крыс линии Brattleboro существенно отличается от такового у крыс Вистар. На основании анализа отдельных реологических параметров и корреляции между ними сделан вывод о том, что состояние гипервязкости крови у животных этой линии является не их биологической особенностью, а патологическим состоянием — СПВК [6], формирующимся за счет сдвигов как макро-, так и микрореологических параметров крови.

После курсового введения ЭЛХ у крыс опытной группы существенно улучшались как макро-, так и микрореологические показатели крови: по сравнению с контролем улучшалась деформируемость эритроцитов, ИЭЭ увеличивался на 19% (таблица), что может быть связано с антирадикальной и антиоксидантной активностью ЭЛХ [1].

Влияние курсового введения ЭЛХ на макро- и микрореологические показатели у крыс Вистар и Brattleboro (*M±m*)

Показатель	Крысы Вистар (<i>n</i> =8)	Крысы Brattleboro	
		контроль (<i>n</i> =8)	ЭЛХ (<i>n</i> =8)
Вязкость плазмы, мПа·с	1.4±0.1	1.8±0.1*	1.6±0.1*
Гематокрит, %	45±1	49±1*	49±1
Концентрация фибриногена, г/л	2.15±0.12	3.25±0.26*	2.33±0.14*
Полупериод агрегации эритроцитов, с	10.1±0.5	5.9±0.2*	9.2±0.7*
ИЭЭ	0.535±0.019	0.420±0.014*	0.500±0.011*
Доступность О ₂ для тканей, усл. ед.	12.5±0.2	10.9±0.3*	11.6±0.3*

Примечание. *p* < 0.05 по сравнению *с крысами Вистар, *с контролем.



Влияние курсового внутривенного введения ЭЛХ на вязкость цельной крови при различных скоростях сдвига.

$p < 0.05$ по сравнению с крысами *Вистар, *Brattleboro (контроль).

Повышение деформируемости эритроцитов характерно и для других субстанций, обладающих антирадикальной и антиоксидантной активностью [5,7,9]. Агрегация эритроцитов — другой микро-реологический показатель, на который влиял ЭЛХ (таблица). У крыс линии Brattleboro опытной группы выявлено значимое (на 56%) повышение полупериода агрегации эритроцитов, что в определенной степени может быть вызвано снижением содержания в крови фибриногена (на 28%). Очевидно, за счет снижения уровня фибриногена также уменьшалась вязкость плазмы. Благодаря совокупному влиянию ЭЛХ на основные макро- и микро-реологические параметры вязкость цельной крови достоверно уменьшалась на 4-15% в широком диапазоне скоростей сдвига (рисунок), что при неизменном гематокрите приводило к

увеличению показателя доставки кислорода к тканям в исследованном диапазоне скоростей сдвига (3-300 с⁻¹) на 6-12%.

Таким образом, в условиях модели СПВК у крыс линии Brattleboro ЭЛХ при курсовом (10 сут) внутривенном введении в дозе 150 мг/кг продемонстрировал способность проявлять гемореологическую активность за счет воздействия как на макро-реологические (вязкость плазмы, концентрация фибриногена), так и на микро-реологические (агрегация и деформируемость эритроцитов) параметры. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что крысы линии Brattleboro являются удобной моделью СПВК и пригодны в качестве тест-системы для поиска и исследования веществ, обладающих гемореологической активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плотников М.Б., Зибарева Л.Н., Колтунов А.А. и др. // Раст. ресурсы. 1998. Т. 34, № 1. С. 87-91.
2. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С. и др. // Раст. ресурсы. 1999. Т. 35, № 1. С. 103-107.
3. Плотников М.Б., Алиев О.И., Маслов М.Ю. и др. // Экспер. и клин. фармакол. 2000. Т. 63, № 2. С. 54-56.
4. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С. и др. // Бюл. экспер. биол. 2005. Т. 139, № 1. С. 68-71.
5. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск, 2005.
6. Плотников М.Б., Васильев А.С., Алиев О.И. // Биомедицина. 2011. Т. 1, № 3. С. 57-62.
7. Kucukatay V., Bor-Kucukatay M., Gundogdu G. et al. // Folia Biol (Praha). 2012. Vol. 58, N 4. P. 157-165.
8. Stoltz J.F., Donner M. // Schweiz. Med. Wochenschr. Suppl. 1991. Vol. 43. P. 41-49.
9. Yapislar H., Taskin E. // Med. Sci. Monit. 2014. Vol. 20. P. 399-405.

Получено 17.06.14