

УДК 619:616-085:616.15:636.4-053.31
DOI 10.23648/UMBJ.2017.27.7090

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ В МОДЕЛИ СОЗДАНИЯ ДИСЛИПИДЕМИИ У КРЫС НА ПОЗДНИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

С.Ю. Завалишина

ФГБНУ «Всероссийский НИИ физиологии, биохимии и питания животных», г. Борзовск, Россия

e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Состояние спонтанной агрегации и цитоархитектоники эритроцитов на самых ранних этапах развития дислипидемии остается недостаточно изученным. Представляют большой практический интерес экспериментальные исследования по изучению раннего влияния дислипидемии на эритроциты.

Цель – проследить на крысах старших возрастов особенности динамики микрореологических свойств эритроцитов в модели дислипидемии.

Материалы и методы. Исследование выполнено на здоровых крысах линии «Вистар». Опытная группа представлена 105 крысами-самцами (12-месячного возраста – 34 крысы, 18-месячного возраста – 32 крысы и 24-месячного возраста – 39 крыс), у которых алиментарным путем формировали дислипидемию. Группу контроля составила 91 крыса-самец, в т.ч. 30 животных 12-месячного возраста, 32 крысы 18-месячного и 29 животных 24-месячного возраста. Применены биохимические, гематологические и статистические методы исследований.

Результаты. У наблюдаемых опытных животных при увеличении возраста отмечено нарастание активности свободнорадикального окисления липидов в жидкой части крови за счет понижения ее антиоксидантной активности. В эритроцитах также отмечено более выраженное с возрастом усиление перекисного окисления липидов при большем ослаблении эритроцитарных каталазы и супероксиддисмутазы. У опытных крыс по мере увеличения возраста в крови установлено более выраженное, чем в контроле, снижение количества дискоидных эритроцитов и более значительное повышение количества обратимо и необратимо измененных их форм. Это сопровождалось более выраженным усилением агрегационной активности эритроцитов у опытных крыс по сравнению с группой контроля.

Заключение. Экспериментальное создание дислипидемии у крыс на поздних этапах онтогенеза показало возможность развития все более глубоких нарушений биохимических и гематологических показателей по мере увеличения возраста животных. Развивающиеся нарушения микрореологических свойств эритроцитов у экспериментальных крыс превышали возрастные изменения в контроле. Полученные данные позволяют обратить внимание клиницистов на необходимость более строгого контроля уровня липидов крови у пациентов предпенсионного и пенсионного возраста, так как с годами дислипидемия становится все более опасной в плане ухудшения агрегации и цитоархитектоники эритроцитов и повышения риска развития тромбофилии.

Ключевые слова: старение, крысы, эритроциты, агрегация, цитоархитектоника, экспериментальная дислипидемия.

Введение. До сих пор в медицине и биологии сохраняется насущная потребность в продолжении изучения возрастных аспектов функционального состояния организма млекопитающих и человека. Было установлено, что реализация их имеет в своей основе генетическую [1, 2] и средовую составляющие, которые позволяют процессу старения затронуть все системы организма [3], прогрессив-

но ухудшая их функционирование и делая его гибель все более вероятной [4]. Большое внимание при этом уделяется различным аспектам реологических особенностей крови и ее форменных элементов, в т.ч. связанным с возрастом [5, 6], в норме и в условиях различной патологии [7, 8], а также на фоне многих вариантов коррекционных воздействий на организм [9, 10].

Будучи одним из важнейших элементов микроциркуляции, эритроциты в значительной мере определяют гемодинамический и метаболический гомеостаз тканей [11] и влияют на реализацию многих адаптивных реакций организма [12, 13]. Замечено, что реологические свойства эритроцитов могут меняться при физиологических, пограничных и патологических состояниях [14, 15]. Достаточно уязвимы в этом плане зрелые и начинающие стареть организмы: при возникновении патологии у них развиваются изменения реологических свойств форменных элементов крови, что весьма отрицательно сказывается на микроциркуляции в целом и усугубляет общее состояние [3, 16].

При этом при получении новой научной информации о различных патологических состояниях у человека [4] невозможно обойтись без применения экспериментальных моделей, воспроизводящихся в т.ч. на крысах [17]. Ввиду важности роли эритроцитарных микрореологических свойств в развитии нарушений в организме [18], в т.ч. тромбофилии, связанной с возрастом, и необходимости разработки подходов по ее устранению у современных исследователей сохраняется высокий интерес к изучению агрегации и цитоархитектоники красных кровяных телец у стареющих крыс. Полученные сведения способны послужить основой для последующего экспериментального поиска подходов к оптимизации микрореологических свойств эритроцитов в поздних возрастах с последующим осторожным переносом данных в геронтологические исследования на человеке [19].

Современные физиология и медицина уделяют большое внимание изучению ранних этапов развития различной патологии и начальных механизмов ее реализации [20]. Весьма большой интерес проявляется исследователями к функциональным и реологическим особенностям форменных элементов крови [21, 22]. Установлено, что они играют большую роль в функционировании системы гемостаза при патологии, в т.ч. при весьма распространенных в настоящее время сердечно-сосудистых нарушениях и ведущих к ним обменных заболеваниях [8, 9]. Среди них во всем цивилизованном мире одну из лиди-

рующих позиций занимает атеросклероз, приводящий к широкой инвалидизации населения и вносящий существенный вклад в цифры смертности у лиц трудоспособного возраста [2, 4]. Было замечено, что при развернутой клинической картине обменных нарушений, ведущих к прогрессированию атеросклероза, отмечается ухудшение микрореологических свойств эритроцитов [14, 18] и ослабление дезагрегационных свойств сосудов [16]. Данная ситуация существенно активирует гемостаз, снижает эффективность микроциркуляции и интенсивность обмена веществ во всех тканях [23]. Вместе с тем состояние спонтанной агрегации и цитоархитектоники эритроцитов на самых ранних этапах развития дислипидемии, способной вести к атеросклерозу, остается изучено весьма недостаточно.

Учитывая, что микрореологические свойства эритроцитов могут легко нарушаться, а в условиях ослабления с возрастом многих адаптационных механизмов [2] это способно привести к созданию условий для окклюзии различных сосудов [4], представляет большой практический интерес проведение экспериментальных работ по подробному изучению влияния дислипидемии на эритроциты. Большой интерес для клиницистов и патофизиологов имеет выявление наиболее ранних нарушений микрореологических свойств эритроцитов. Это диктует потребность проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных с моделированием у них дислипидемии в ходе их старения.

Цель исследования. Проследить на крысах старших возрастов особенности динамики микрореологических свойств эритроцитов в модели дислипидемии.

Материалы и методы. Проведенная работа выполнена в строгом соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006), и одобрена локальным этическим комитетом Всероссийского НИИ физиологии, биохимии и питания животных (протокол № 11 от 04.12.2015).

Исследование выполнено на крысах линии «Вистар», которые были получены в 2-месячном возрасте из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (Московская область, г. Пущино). Все животные были здоровы на протяжении всего времени, предшествовавшего взятию под наблюдение, и ранее не участвовали ни в каких экспериментах. Опытная группа представлена 105 здоровыми крысами-самцами (12-месячного возраста – 34 крысы, 18-месячного возраста – 32 крысы и 24-месячного возраста – 39 крысы), у которых алиментарным путем формировали дислипидемию. Крысы помещались в тесные клетки по 1 особи на 30 сут и начинали получать высококалорийную диету, состоящую из комбикорма (47 %), сладкого сгущенного молока (44 %), растительного масла (8 %) и растительного крахмала (1 %), что обеспечило следующий состав их рациона: жиры – 29,6 %, протеины – 14,8 %, углеводы – 55,6 % [24]. Группу контроля составила 91 здоровая крыса-самец, в т.ч. 30 животных 12-месячного возраста, 32 крысы 18-месячного и 29 животных 24-месячного возраста. Они получали комбикорм ПК-120 производства «Лабораторкорм» (Россия) в полном объеме и не подвергались воздействиям.

Формирование возрастных групп наблюдения и группы контроля для данного исследования производилось путем случайного вылавливания крыс из клеток, в которых содержались животные одного возраста, после затемнения клеток для устранения субъективного фактора исследователя.

Концентрации общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) в крови животных выявлялись при помощи энзиматического колориметрического метода с использованием набора производства «Витал Диагностикум» (Россия). Содержание в плазме ХС липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) определялось при помощи набора производства «Ольвекс Диагностикум» (Россия) энзиматическим колориметрическим методом. Концентрацию ХС липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) устанавливалась расчетным путем по формуле W. Friedwaldetal (1972). Концентрация ХС липопротеидов

очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) вычислялась по формуле

$$\text{ХС ЛПОНП} = \text{концентрация ТГ} / 2,2.$$

В плазме оценивалось количество продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) по концентрациям тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» (Россия) и ацилгидроперекисей (АГП) [25]. Устанавливалась антиоксидантная активность (АОА) плазмы [26]. В эритроцитах после их отмывки и ресуспендирования определялось количество продуктов ПОЛ – малонового диальдегида и ацилгидроперекисей, а также активность эритроцитарных антиоксидантных ферментов – каталазы и супероксиддисмутазы [25].

Состояние агрегационной активности отмывтых и ресуспендированных эритроцитов выяснялось в ходе световой микроскопии в камере Горяева путем регистрации количества агрегатов эритроцитов, числа агрегированных и неагрегированных эритроцитов [27]. Цитоархитектоника эритроцитов оценивалась путем фазово-контрастной микроскопии на световом микроскопе «Люмам-Р1» («ЛЮМО», Россия) под иммерсией с типированием красных кровяных телец на дискоциты, обратимо измененные и необратимо измененные формы [27].

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась при помощи t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. У наблюдаемых крыс по мере увеличения возраста выявлено усиление характерных внешних признаков старения: потускнение шерсти, ее поредение, снижение активности и аппетита, отсутствие интереса к окружающему, бледность видимых слизистых.

С увеличением возраста достоверных изменений в липидном составе плазмы крови у контрольных крыс не обнаружено. У опытных крыс выраженность дислипидемии усиливалась по мере увеличения возраста ее создания и была максимальной у 24-месячных животных (табл. 1). Так, у этих опытных крыс содержание в крови общего ХС оказалось повышено в наибольшей степени по сравнению с контролем (в 1,4 раза). Атерогенные фракции холестерина (ХС ЛПНП, ХС

ЛПОНП и ТГ) в их крови также оказались увеличены максимально при наиболее глубоком понижении ХС ЛПВП (на 19,7 %).

У контрольных животных на фоне увеличения возраста отмечено некоторое повышение активности свободнорадикального окисления липидов в жидкой части крови (в 12 мес.: ацилгидроперекиси – $1,520 \pm 0,018$ Д₂₃₃/1 мл, ТБК-активные продукты – $3,610 \pm 0,022$ мкмоль/л, в 24 мес.: $1,950 \pm 0,033$ Д₂₃₃/1 мл и $4,220 \pm 0,042$ мкмоль/л соответственно). Это сопровождалось понижением антиоксидантной активности плазмы с $32,60 \pm 0,24$ % в 12 мес. до $26,20 \pm 0,27$ % в 24 мес.

У наблюдаемых опытных животных на фоне увеличения возраста отмечено более выраженное нарастание активности свободнорадикального окисления липидов в жидкой части крови (в 24 мес.: ацилгидроперекиси – $2,460 \pm 0,018$ Д₂₃₃/1 мл, ТБК-активные продукты – $5,38 \pm 0,026$ мкмоль/л) при более глубоком понижении антиоксидантной активности (до $20,10 \pm 0,32$ % в 24 мес.).

У контрольных животных по мере повышения возраста в эритроцитах отмечено небольшое увеличение уровней ацилгидроперекисей и малонового диальдегида, которые постепенно нарастали с 12 до 24 мес. жизни на 21,5 и 29,3 % соответственно. При этом активность эритроцитарной каталазы у контрольных крыс по мере старения достигла $8300,00 \pm 28,39$ МЕ/10¹² эр., супероксиддисмутазы эритроцитов – $1660,00 \pm 10,86$ МЕ/10¹² эр. (табл. 1).

У опытных животных отмечено более выраженное усиление ПОЛ в эритроцитах: уровни ацилгидроперекисей и малонового диальдегида нарастали, превалируя у 24-месячных опытных животных на 37,4 и 25,2 % соответственно над показателями контрольных крыс аналогичного возраста. При этом активность эритроцитарной каталазы у опытных крыс в возрасте 24 мес. достигла $7250,0 \pm 22,5$ МЕ/10¹² эр., супероксиддисмутазы эритроцитов – $1400,00 \pm 9,62$ МЕ/10¹² эр., уступая значениям контрольных крыс этого возраста на 15,7 и 18,6 % соответственно (табл. 1).

По мере увеличения хронологического возраста в крови контрольных животных от-

мечено понижение количества дискоцитов до $80,20 \pm 0,29$ % у 24-месячных крыс, что сопровождалось постепенным небольшим повышением у них количества обратимо и необратимо измененных их форм (табл. 1).

По мере нарастания календарного возраста более выраженное снижение количества дискоцитов в крови (до $69,30 \pm 0,15$ %) отмечено у опытных 24-месячных животных (табл. 1). Это сопровождалось у них более выраженным увеличением числа обратимо и необратимо измененных их форм (различия по сравнению с контролем составили 39,2 и 73,6 % соответственно).

У крыс, составивших группу контроля, между 12 и 24 мес. жизни выявлено небольшое усиление агрегационной активности эритроцитов с небольшим нарастанием их суммарного включения в агрегаты и понижением числа свободных эритроцитов до $279,30 \pm 0,31$ (табл. 1).

У опытных животных более выраженное усиление агрегационной активности эритроцитов, нарастание их суммарного включения в агрегаты и понижение числа свободных эритроцитов (до $217,30 \pm 0,29$) выявлено у 24-месячных крыс (табл. 1).

В ходе экспериментального создания у крыс дислипидемии в настоящей работе отмечены весьма свойственные для человека [15, 28] гиперхолестеринемия и гипертриглицеридемия, ослабление антиоксидантного потенциала плазмы, сопровождающиеся быстрым повышением в ней количества АГП и ТБК-активных соединений и неизбежным ухудшением метаболизма в тканях. Кроме того, активация процессов ПОЛ в плазме вызывала альтерацию поверхностных структур форменных элементов крови [22], в т.ч. наиболее многочисленной их популяции – эритроцитов.

Наступающие в эксперименте изменения в липидном составе плазмы нарушали соотношение между фракциями липидов мембран эритроцитов, способствуя активации в них ПОЛ. Это быстро изменяло у модельных крыс активность рецепторных и пострецепторных механизмов функционирования эритроцитов. Возникающий липидный дисбаланс в организме приводил также к отрицательной динамике в регуляции в эритроцитах ионного

и антиоксидантного статуса, что, несомненно, во многом обеспечивало негативные изменения метаболизма и структурно-функциональных свойств сосудов [29, 30].

На фоне формирования дислипидемии происходило ускоренное повышение числа эритроцитов, потерявших свою двояковогнутую форму, что затрудняло процесс их прохождения через капилляры [20]. Наступающие изменения в эритроцитах вели к нарастанию в крови обратимо и необратимо измененных их форм [31]. Так, в крови экспериментальных крыс 24-месячного возраста оказалось наибольшее количество красных кровяных телец, трансформированных через эхиноцитоз в сферы с появлением на их мембранах шипов различной формы и через стомацитоз до односторонне выгнутого диска. Эти эритроциты были способны к ускоренной трансформации до сферозхиноцита, сферостоматоцита, что в конечном итоге приводило к формированию сфероцита, который вскоре лизировался [27]. Вместе с тем повышение в крови экспериментальных крыс уровня обратимо и необратимо трансформированных эритроцитов вело к усугубляющемуся с возрастом усилению контактов между ними, что проявлялось повышением их агрегационной способности.

Выявленное у экспериментальных крыс по мере старения усиление агрегации эритроцитов во многом обеспечивалось более выраженными, чем в контроле, наступающими изменениями заряда их мембран вследствие более активной деградации на них части гликопротеинов под влиянием интенсивного ПОЛ. Усиление генерации активных форм кислорода в данных условиях обеспечивало у экспериментальных крыс с возрастом оксидативную альтерацию структур мембраны. Это сопровождалось повреждением у них глобулярных протеинов плазмы, обладающих способностью соединяться в виде «мостиков» между эритроцитами и осуществлять их агрегацию, максимально выраженную у наиболее старых животных. При этом продукты ПОЛ увеличивали порог дезагрегации эритроцитов вследствие стимуляции их сцепления в агрегатах, повышения скорости данного процесса в результате оксидативных по-

вреждений протеинов и липидов их мембраны [18].

Становится ясно, что выявленное в условиях дислипидемии усиление с возрастом агрегации эритроцитов у крыс в значительной мере было обеспечено воздействием избытка катехоламинов, концентрация которых при различных неблагоприятных в организме может значительно нарастать [14]. На фоне активации α_1 -рецепторов основным посредником выступают система Ca^{2+} -кальмодулина и каскад внутриклеточных реакций фосфатидилинозитола. Активация α_2 -адренорецепторов приводит к подавлению аденилатциклазы в ходе физиологического влияния рецепторов на Gi-белки. Это вызывало у экспериментальных животных понижение количества циклического аденозинмонофосфата в эритроцитах и стимулировало вход Ca^{2+} в них, обеспечивая усиление их агрегации [2].

Выраженное увеличение количества свободно циркулирующих в крови экспериментальных крыс эритроцитарных агрегатов вело к повреждению эндотелиальной выстилки сосудов, способствуя обнажению субэндотелиальных структур, негативно влияющих на процессы гемостаза и реологию крови, что ухудшало трофику тканей и состояние внутренних органов животных [32]. Нарастающее количество свободно циркулирующих агрегатов способно перекрывать часть мелких сосудов, играя большую роль в ослаблении тканевого метаболизма и ускорении процесса старения [10].

Заключение. Экспериментальное создание у крыс разного возраста дислипидемии показало быстрое ослабление антиоксидантной защиты плазмы и раннее усиление в ней ПОЛ, что углублялось по мере увеличения возраста животных. Развивающиеся нарушения у экспериментальных крыс превышали возрастные изменения микрореологических свойств эритроцитов в контроле. Становится ясно, что по мере увеличения возраста необходимо все более строго контролировать уровень липидов крови и избегать создания в организме дислипидемической ситуации, с годами становящейся все более опасной в плане ухудшения агрегации и цитоархитектоники эритроцитов и повышения риска развития тромбофилии.

Литература

1. *Амелина И.В., Медведев И.Н.* Взаимосвязь активности ядрышкообразующих районов хромосом и соматометрических показателей у человека. Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 2009; 147 (1): 82–85.
2. *Симоненко В.Б. (ред.), Медведев И.Н., Брюховецкий А.Г.* Артериальная гипертония и сосудистые дисфункции: моногр. М.: Эко-Пресс; 2012. 288.
3. *Медведев И.Н., Громнацкий Н.И.* Коррекция тромбоцитарного гемостаза и снижение биологического возраста при метаболическом синдроме. Клиническая медицина. 2005; 83 (8): 54–57.
4. *Кишкун А.А.* Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. 976.
5. *Громнацкий Н.И., Медведев И.Н., Кондратов И.В.* Изменения внутрисосудистой активности тромбоцитов больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом и его коррекция ловастатином (медостатином R). Русский медицинский журн. 2003; 5: 258.
6. *Кутафина Н.В., Медведев И.Н.* Тромбоцитарная агрегация у клинически здоровых лиц второго зрелого возраста, проживающих в Курском регионе. Успехи геронтологии. 2015; 28 (2): 321–325.
7. *Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Кумова Т.А.* Патогенетические аспекты артериальной гипертонии при метаболическом синдроме. Военно-медицинский журн. 2010; 331 (9): 41–44.
8. *Носова Т.Ю., Медведев И.Н.* Современные взгляды на механизмы нарушения функций тромбоцитов при артериальной гипертонии с абдоминальным ожирением. Успехи современного естествознания. 2007; 12: 371.
9. *Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Толмачев В.В.* Динамика активности первичного гемостаза у больных артериальной гипертонией при метаболическом синдроме на фоне лечения. Клиническая медицина. 2011; 89 (3): 35–38.
10. *Медведев И.Н., Скорятина И.А.* Правастатин в коррекции антиагрегационного контроля сосудистой стенки над клетками крови у больных артериальной гипертонией с дислипидемией. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2014; 13 (6): 18–22.
11. *Морозова В.Т., Луговская С.А., Почтарь М.Е.* Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значение. Клиническая лабораторная диагностика. 2007; 10: 21–35.
12. *Глаголева Т.И.* Физиологические особенности спонтанной агрегации эритроцитов у телят молозивного питания. Международный вестник ветеринарии. 2016; 4: 75–78.
13. *Глаголева Т.И.* Способность к агрегации эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов у новорожденных телят. Ветеринарный врач. 2015; 3: 49–53.
14. *Медведев И.Н., Скорятина И.А.* Динамика микрореологических свойств эритроцитов у больных артериальной гипертонией с дислипидемией, получавших аторвастатин. Клиническая медицина. 2012; 90 (6): 42–45.
15. *Медведев И.Н., Скорятина И.А.* Способность к агрегации у больных артериальной гипертонией с дислипидемией, получавших правастатин. Клиническая медицина. 2014; 92 (11): 34–38.
16. *Медведев И.Н., Скорятина И.А.* Агрегационные свойства форменных элементов крови и сосудистый контроль над ними у больных артериальной гипертонией с дислипидемией. Российский кардиологический журнал. 2015; 4 (120): 18–22.
17. *Медведев И.Н.* Динамика нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов у крыс в ходе формирования метаболического синдрома с помощью фруктозной модели. Вопросы питания. 2016; 85 (1): 42–46.
18. *Скорятина И.А., Медведев И.Н.* Микрореологические свойства эритроцитов у больных артериальной гипертонией и дислипидемией, получавших розувастатин. Ульяновский медико-биологический журнал. 2013; 4: 19–23.
19. *Медведев И.Н., Кутафина Н.В.* Агрегационная активность тромбоцитов у здоровых лиц второго зрелого возраста. Фундаментальные исследования. 2012; 8–2: 362–366.
20. *Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Толмачев В.В.* Патогенетические аспекты АГ при метаболическом синдроме. Клиническая медицина. 2011; 89 (1): 49–51.
21. *Медведев И.П., Громнацкий Н.И., Волобуев И.В., Осипова В.М., Стороженко М.В.* Коррекция тромбоцитарно-сосудистого гемостаза при метаболическом синдроме. Клиническая медицина. 2006; 84 (1): 46–49.

22. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Гамolina О.В. Активность первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией с нарушением толерантности к глюкозе на фоне приема трандолаприла. Клиническая медицина. 2011; 89 (2): 29–31.
23. Медведев И.Н., Беспарточный Б.Д. Способ профилактики тромбозов у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом: патент на изобретение RU 2322972.
24. Жукова О.Б., Зайцев К.В., Гостюхина А.А., Абдулкина Н.Г., Радзивил Т.Т. Экспериментальное обоснование методологических подходов к коррекции дислипидемии депривацией света. Медицина и образование в Сибири. 2014; 3. URL: <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/pdf.php?id=1393> (дата обращения: 26.11.2016).
25. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте. Лабораторное дело. 1991; 10: 9–13.
26. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск; 2000. 167.
27. Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Белова Т.А., Медведев И.Н. Методические вопросы исследования функциональной активности тромбоцитов при различных состояниях. В мире научных открытий. 2012; 2: 145–147.
28. Рузов В.И., Алтынбаева Э.Н., Комарова Л.Г., Низамова Л.Т., Кулакова Ж.В., Васильева И.В. Генетический маркер коллагена ITGA2 в оценке эффективности антиагрегационного эффекта препаратов ацетилсалициловой кислоты. Ульяновский медико-биологический журнал. 2016; 1: 57–64.
29. Скорятин И.А. Современные взгляды на терапию дислипидемии, сочетающейся с артериальной гипертензией. Ульяновский медико-биологический журнал. 2016; 2: 8–19.
30. Ganguly K., Murciano J.C., Westrick R. The glycoalyx protects erythrocyte-bound tissue-type plasminogen activator from enzymatic inhibition. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2007; 321: 158–164.
31. Wandersee N.J., Punzalan R.C., Rettig M.P. Erythrocyte adhesion is modified by alterations in cellular tonicity and volume. Brit. J. Haematol. 2005; 3: 366–377.
32. Dale J. Marino. Age-Specific Absolute and Relative Organ Weight Distributions for Fischer 344 Rats. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A: Current Issues. 2012; 75 (24): 1484–1516. Doi: 10.1080/15287394.2012.722520.

PHYSIOLOGICAL CHANGES OF MICROREOLOGICAL ERYTHROCYTE PROPERTIES IN CREATING DISLIPIDEMIA IN RATS AT LATE STAGES OF ONTOGENESIS

S.Yu. Zavalishina

All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals, Borovsk, Russia

e-mail: ilmedv1@yandex.ru

The state of spontaneous aggregation and erythrocyte cytoarchitectonics at the earliest stages of dyslipidemia development has not sufficiently been studied. Experimental studies on the early dyslipidemia influence on erythrocytes are of great practical interest. The objective is to trace the dynamics of erythrocyte microrheological properties in the model of dyslipidemia in older rats.

Materials and Methods. The study was conducted on healthy Wistar rats. The experimental group enrolled 105 male rats (34 rats aged 12 months, 32 rats aged 18 months and 39 rats aged 24 months). All the rats had alimentary modelled dyslipidemia. The control group enrolled 91 male rats (30 rats aged 12 months, 32 rats aged 18 months and 29 rats aged 24 months). Biochemical, hematological and statistical methods were applied.

Results. With aging the activity of free radical lipid oxidation in blood plasma increased in experimental animals due to a decrease in its antioxidant activity. Lipid peroxidation was also more obvious with aging in erythrocytes of experimental rats, while the activity of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes decreased. The experimental rats also demonstrated a decrease in the number of discoid red blood cells and a significant increase in the number of their reversibly and irreversibly changed forms as compared with the controls. This was accompanied by a more pronounced increase in the aggregation activity of erythrocytes in experimental rats in comparison with the controls.

Conclusion. Experimental modelled dyslipidemia in rats in the late ontogenesis has shown the possibility of developing more severe changes in biochemical and hematological indicators with aging. Developing disorders of erythrocyte microrheological properties in experimental rats exceeded the age-related changes in controls. The data obtained should draw the clinician's attention to a stricter control of blood lipid levels in patients of pre-retirement and retirement age, since with aging dyslipidemia becomes more dangerous due to a decrease in aggregation activity and cytoarchitectonics of red blood cells and high risk of thrombophilia.

Keywords: aging, rat, erythrocytes, aggregation, cytoarchitectonics, experimental dyslipidemia.

References

1. Amelina I.V., Medvedev I.N. Vzaimosvyaz' aktivnosti yadryshkoobrazuyushchikh rayonov khromosom i somatometricheskikh pokazateley u cheloveka [Correlation between the chromosome nucleoli-forming regions and somatometric parameters in humans]. *Byul. eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2009; 147 (1): 82–85 (in Russian).
2. Simonenko V.B. (red.), Medvedev I.N., Bryukhovetskiy A.G. *Arterial'naya gipertoniya i sosudistye disfunktsii: monogr.* [Arterial hypertension and vascular dysfunction: monogr.]. Moscow: Eko-Press; 2012. 288 (in Russian).
3. Medvedev I.N., Gromnatskiy N.I. Korrektsiya trombotsitarnogo gemostaza i snizhenie biologicheskogo vozrasta pri metabolicheskom syndrome [Correction of thrombocyte hemostasis and biological age reduction in metabolic syndrome]. *Klinicheskaya meditsina*. 2005; 83 (8): 54–57 (in Russian).
4. Kishkun A.A. *Biologicheskiy vozrast i starenie: vozmozhnosti opredeleniya i puti korrektsii: rukovodstvo dlya vrachey* [Biological age and aging: ways of identification and correction: physician's guide]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. 976 (in Russian).
5. Gromnatskiy N.I., Medvedev I.N., Kondratov I.V. Izmeneniya vnutrisudistoy aktivnosti trombotsitov bol'nykh arterial'noy gipertoniey s metabolicheskim sindromom i ego korrektsiya lovastatinom (medostatinom R) [Changes in intravascular platelet activity in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome and its treatment with lovastatin (medostatinom R)]. *Russkiy meditsinskiy zhurn.* 2003; 5: 258 (in Russian).
6. Kutafina N.V., Medvedev I.N. Trombotsitarnaya agregatsiya u klinicheski zdorovykh lits vtorogo zrelogo vozrasta, prozhivayushchikh v Kurskom regione [Platelet aggregation in clinically healthy persons of the second coming-of-age living in Kursk region]. *Uspekhi gerontologii*. 2015; 28 (2): 321–325 (in Russian).
7. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Kumova T.A. Patogeneticheskie aspekty arterial'noy gipertonii pri metabolicheskom syndrome [Pathogenetic aspects of hypertension in metabolic syndrome]. *Voennomeditsinskiy zhurn.* 2010; 331 (9): 41–44 (in Russian).
8. Nosova T.Yu., Medvedev I.N. Sovremennye vzglyady na mekhanizmy narusheniya funktsiy trombotsitov pri arterial'noy gipertonii s abdominal'nym ozhireniem [Modern views on platelet functional disorders in patients with arterial hypertension and abdominal obesity]. *Uspekhi sovremennoy estestvoznaniya*. 2007; 12: 371 (in Russian).
9. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Tolmachev V.V. Dinamika aktivnosti pervichnogo gemostaza u bol'nykh arterial'noy gipertoniey pri metabolicheskom syndrome na fone lecheniya [Primary hemostasis activity in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome in the course of treatment]. *Klinicheskaya meditsina*. 2011; 89 (3): 35–38 (in Russian).
10. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Pravastatin v korrektsii antiagregatsionnogo kontrolya sosudistoy stenki nad kletkami krovi u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s displidemiey [Pravastatin in correction of vessel wall antiplatelet control over blood cells in patients with arterial hypertension and dyslipidemia]. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2014; 13 (6): 18–22 (in Russian).
11. Morozova V.T., Lugovskaya S.A., Pochtar' M.E. Eritrotsity: struktura, funktsii, kliniko-diagnosticheskoe znachenie [Red blood cells: structure, function, clinical and diagnostic value]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2007; 10: 21–35 (in Russian).
12. Glagoleva T.I. Fiziologicheskie osobennosti spontannoy agregatsii eritrotsitov u telyat molozivnogo pitaniya [Physiological characteristics of spontaneous aggregation of red blood cells in calves during the colostric period]. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2016; 4: 75–78 (in Russian).

13. Glagoleva T.I. Sposobnost' k agregatsii eritrotsitov, trombositov i leykotsitov u novorozhdennykh telyat [Ability to aggregate erythrocytes, platelets and white blood cells in newborn calves]. *Veterinarnyy vrach*. 2015; 3: 49–53 (in Russian).
14. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Dinamika mikroreologicheskikh svoystv eritrotsitov u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s dislipidemiey, poluchavshikh atorvastatin [Dynamics of erythrocyte micro-rheological properties in patients with arterial hypertension and dyslipidemia treated with atorvastatin]. *Klinicheskaya meditsina*. 2012; 90 (6): 42–45 (in Russian).
15. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Sposobnost' k agregatsii u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s dislipidemiey, poluchavshikh pravastatin [Erythrocyte aggregation in patients with arterial hypertension and dyslipidemia treated with pravastatin]. *Klinicheskaya meditsina*. 2014; 92 (11): 34–38 (in Russian).
16. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Agregatsionnye svoystva formennykh elementov krovi i sosudisty kontrol' nad nimi u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s dislipidemiey [Aggregation properties of blood cells and vascular control over them in patients with arterial hypertension and dyslipidemia]. *Rossiyskiy kardiologicheskyy zhurnal*. 2015; 4 (120): 18–22 (in Russian).
17. Medvedev I.N. Dinamika narusheniy vnutrisosudistoy aktivnosti trombositov u krysov v khode formirovaniya metabolicheskogo sindroma s pomoshch'yu fruktoznoy modeli [Dynamics of violations of intravascular platelet activity in rats during the formation of metabolic syndrome using fructose models]. *Voprosy pitaniya*. 2016; 85 (1): 42–46 (in Russian).
18. Skoryatina I.A., Medvedev I.N. Mikroreologicheskie svoystva eritrotsitov u bol'nykh arterial'noy gipertoniey i dislipidemiey, poluchavshikh rozuvastatin [Micro-rheological characteristics of red blood cells in patients with arterial hypertension and dyslipidemia treated with rosuvastatin]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskyy zhurnal*. 2013; 4: 19–23 (in Russian).
19. Medvedev I.N., Kutafina N.V. Agregatsionnaya aktivnost' trombositov u zdorovykh lits vtorogo zrelogo vozrasta [Platelet aggregation in healthy individuals of the second coming-of-age]. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012; 8–2: 362–366 (in Russian).
20. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Tolmachev V.V. Patogeneticheskie aspekty AG pri metabolicheskom syndrome [Pathogenetic aspects of arterial hypertension in metabolic syndrome]. *Klinicheskaya meditsina*. 2011; 89 (1): 49–51 (in Russian).
21. Medvedev I.P., Gromnatskiy N.I., Volobuev I.V., Osipova V.M., Storozhenko M.V. Korrektsiya trombositarno-sosudistogo gemostaza pri metabolicheskom syndrome [Correction of thrombocyte-vascular hemostasis in metabolic syndrome]. *Klinicheskaya meditsina*. 2006; 84 (1): 46–49 (in Russian).
22. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Gamolina O.V. Aktivnost' pervichnogo gemostaza u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s narusheniem tolerantnosti k glyukoze na fone priema trandolapрила [Primary hemostasis activity in patients with arterial hypertension and impaired glucose tolerance treated with trandolapril]. *Klinicheskaya meditsina*. 2011; 89 (2): 29–31 (in Russian).
23. Medvedev I.N., Bespartochnyy B.D. *Sposob profilaktiki trombozov u bol'nykh arterial'noy gipertoniey s metabolicheskim sindromom: patent na izobretenie RUS 2322972* [Thromboprophylaxis in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome: patent na izobretenie RUS 2322972] (in Russian).
24. Zhukova O.B., Zaytsev K.V., Gostyukhina A.A., Abdulkina N.G., Radzivil T.T. Eksperimental'noe obosnovanie metodologicheskikh podkhodov k korrektsii dislipidemii deprivatsiey sveta [Experimental validation of methodological approaches to dyslipidemia correction using light deprivation method]. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri*. 2014; 3. Available at: <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/pdf.php?id> (accessed: 26.11.2016) (in Russian).
25. Chevare S., Andyal T., Shtrenger Ya. Opredelenie antioksidantnykh parametrov krovi i ikh diagnosticheskoe znachenie v pozhilom vozraste [Determination of antioxidant blood parameters and their diagnostic value at elderly age]. *Laboratornoe delo*. 1991; 10: 9–13 (in Russian).
26. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.E. *Eksperimental'noe modelirovaniye i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma* [Experimental modeling and laboratory assessment of adaptive reactions in the organism]. Chelyabinsk; 2000. 167 (in Russian).
27. Zavalishina S.Yu., Krasnova E.G., Belova T.A., Medvedev I.N. Metodicheskie voprosy issledovaniya funktsional'noy aktivnosti trombositov pri razlichnykh sostoyaniyakh [Methodological aspects of platelet functional activity under different states]. *V mire nauchnykh otkrytiy*. 2012; 2: 145–147 (in Russian).

28. Ruzov V.I., Altynbaeva E.N., Komarova L.G., Nizamova L.T., Kulakova Zh.V., Vasil'eva I.V. Geneticheskiy marker kollagena ITGA2 v otsenke effektivnosti antiagregatsionnogo effekta preparatov atsetilsalitsilovoy kisloty [Genetic ITGA2 collagen marker in the evaluation of efficacy of acetylsalicylic acid antiplatelet effect]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskyy zhurnal*. 2016; 1: 57–64 (in Russian).
29. Skoryatina I.A. Sovremennyye vzglyady na terapiyu dislipidemii, sochetayushcheysya s arterial'noy gipertoniey [Current views on treatment of dyslipidemia associated with arterial hypertension]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskyy zhurnal*. 2016; 2: 8–19 (in Russian)
30. Ganguly K., Murciano J.C., Westrick R. The glycocalyx protects erythrocyte-bound tissue-type plasminogen activator from enzymatic inhibition. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007; 321: 158–164.
31. Wandersee N.J., Punzalan R.C., Rettig M.P. Erythrocyte adhesion is modified by alterations in cellular tonicity and volume. *Brit. J. Haematol.* 2005; 3: 366–377.
32. Dale J. Marino. Age-Specific Absolute and Relative Organ Weight Distributions for Fischer 344 Rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A: Current Issues*. 2012; 75 (24): 1484–1516. Doi: 10.1080/15287394.2012.722520.