УДК 612.128:117.2:12-008.318 DOI: 10.15372/SSMJ20190405

АДРЕНО-, ХОЛИНОРЕАКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ОЦЕНКА ИХ СОПРЯЖЕННОСТИ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО БАЛАНСА КРОВИ У НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС

Евгения Владимировна КУРЬЯНОВА, Андрей Валерьевич ТРЯСУЧЕВ, Давид Львович ТЁПЛЫЙ

Астраханский государственный университет
414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1

У самцов нелинейных крыс определяли величины β-адренореактивности эритроцитов (β-АРЭ, 40,6 ± 2,3 отн. ед.) и М-холинореактивности эритроцитов (М-ХРЭ, 7,9 ± 0,3 отн. ед.), концентрацию гемоглобина, показатели свободнорадикального баланса: уровень ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) и активность каталазы в эритроцитах и плазме крови. Группировка выборки методом кластеризации по величине β-АРЭ выявила, что крысы с высокой β-АРЭ (>50 отн.ед.) имеют бóльшую концентрацию гемоглобина, ТБК-РП и активность каталазы в эритроцитах, чем крысы со средней (от 30 до 50 отн. ед.) и низкой (<30 отн. ед.) β-АРЭ. Согласно результатам корреляционного и факторного анализа, М-ХРЭ преимущественно сопряжена с эритроцитарными (Фактор 1), а β-АРЭ – с плазменными характеристиками свободнорадикального баланса крови (Фактор 3). Введение блокатора β-адренорецепторов анаприлина (2 мг/кг массы тела) уменьшает β-АРЭ и потенцирует накопление ТБК-РП в эритроцитах и плазме крови, введение блокатора М-холинорецепторов атропина (1 мг/кг массы тела) снижает не только М-ХРЭ, но и β-АРЭ, способствует росту активности каталазы эритроцитов. Таким образом, в интактном состоянии и в условиях блокады адрено- и холинорецепторов выявлены зависимости, позволяющие рассматривать β-АРЭ и М-ХРЭ как связующее звено между регуляторными влияниями на эритроциты и биохимическими, в том числе свободнорадикальными, процессами в системе «эритроциты – плазма крови».

Ключевые слова: адрено- и холинореактивность эритроцитов, свободнорадикальный баланс крови, анаприлин, атропин, нелинейные крысы.

Автор для переписки: Курьянова Е.В., e-mail: fyzevk@rambler.ru

Для цитирования: Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Тёплый Д.Л. Адрено-, холинореактивность эритроцитов и оценка их сопряженности с показателями свободнорадикального баланса крови у нелинейных крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (4): 37–45. doi: 10.15372/SSMJ20190405.

ADRENO- AND CHOLINOREACTIVITY OF ERYTHROCYTES AND ESTIMATION OF THEIR CONJUGATION WITH PARAMETERS OF FREE RADICAL BALANCE OF BLOOD IN NON-LINEAR RATS

Evgeniya Vladimirovna KURYANOVA, Andrey Valerievich TRYASUCHEV, David Lvovich TEPLY

The Astrakhan State University
414000, Astrakhan, Shaumyana sq., 1

The values of the β-adrenoreactivity of erythrocytes (β-ARE, 40.6 ± 2.3 rel. units) and the M-cholinoreactivity of erythrocytes (M-ChRE, 7.9 ± 0.3 rel. units), concentration of hemoglobin, the parameters of free radical balance: the level of TBA-reactive products (TBA-RP) and catalase activity in erythrocytes and plasma were determined in male non-linear rats. Sample grouping by clustering largest β-ARE showed that rats with a high β-ARE (>50 rel. units) have a greater concentration of hemoglobin, TBA-RP and CAT in erythrocytes, than rats with an average (30 to 50 rel. units) and low (<30 rel. units) β-ARE. According to the results of the correlation and factor analysis, M-ChRE is predominantly conjugated with erythrocyte (Factor 1), and β-ARE – with plasma characteristics of free radical balance in blood (Factor 3). The introduction of β-adrenergic blocker anapriline (2 mg/kg bw) decreases β-ARE and potentiates the accumulation of TBA-RP in the erythrocytes and plasma, the administration of the blocker of M-cholinergic receptors atropine (1 mg/kg bw) reduces not only M-ChRE, but also β-ARE and promotes the growth of erythrocyte catalase

activity. Thus, in the intact state, under the conditions of blockade of adrenergic receptor and cholinergic receptors, dependences have been revealed that make it possible to treat β-ARE and M-ChRE as a link between regulatory influences on erythrocytes and biochemical, including free radical processes in the «erythrocyte – blood plasma».

Key words: adreno- and cholinoreactivity of erythrocytes, free radical balance of blood, anapriline, atropine, non-linear rats.

Correspondence author: Kuryanova E.V., e-mail: fyzevk@rambler.ru

Citation: Kuryanova E.V., Tryasuchev A.V., Teply D.L. Adreno- and cholinoreactivity of erythrocytes and estimation of their conjugation with parameters of free radical balance of blood in non-linear rats. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (4): 37–45. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190405.

Настоящая работа является продолжением исследований [5, 6, 18] физиологической роли адрено- и холинореактивности эритроцитов (β-АРЭ и М-ХРЭ). Эти относительно новые для экспериментальной физиологии показатели используются в клинике (преимущественно β-АРЭ) [12, 16, 17, 19], однако их значимость для организма и связь с другими параметрами еще не в полной мере ясны. Ранее на модели нелинейных крыс нами показана сопряженность и специфичность связей β-АРЭ и М-ХРЭ с вариабельностью сердечного ритма, подтверждающие значимость показателей реактивности эритроцитов в оценке регуляторных влияний на уровне клеточных мембран [6]. При этом важно помнить, что функционирование адрено- и холинорецепторов зависит от физико-химических свойств билипидного слоя, которые могут изменяться в результате перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2, 10, 11, 14], а проявлением реакции на катехоламины или холиноподобные вещества является изменение интенсивности свободнорадикальных процессов в мембране [10, 12, 14]. В этой области научных исследований основное внимание ученых обычно концентрируется на роли регуляторных факторов (гормонов, медиаторов и др.) в интенсификации процессов пероксидации [10, 14], в то время как их возможное участие в модуляции механизмов антиоксидантной защиты изучено мало [11]. Одной из вероятных причин этого является недостаток показателей, которые могли бы рассматриваться как связующее звено между регуляторными влияниями и процессами ПОЛ, ферментативным звеном антиоксидантной защиты на клеточном уровне. В этой связи показатели реактивности эритроцитов представляют интерес и могут быть перспективными при изучении регуляторных и модулирующих влияний на процессы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты.

Цель работы – дополнить представления о β-АРЭ и М-ХРЭ в аспекте их возможной сопряженности с показателями свободнорадикального баланса (СРБ) крови у нелинейных крыс в интактном состоянии и при воздействии на адрено- и холинорецепторы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 93 самцах нелинейных белых крыс массой 220–260 г из вивария при лаборатории экспериментальной физиологии Астраханского государственного университета. Перед экспериментом и во время его проведения животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды, на стандартном рационе – комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ 50258-92 (ООО «Лабораторкорм»). Животные потребляли корм и воду *ad libitum*. Все эксперименты выполнялись в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», Приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Европейской конвенцией Directive 2010/63/EU of 22 September 2010.

Для определения реактивности эритроцитов кровь забирали с помощью микропипетки из хвостовой вены у крыс в исходном состоянии и затем на фоне экспериментальных воздействий. Для определения показателей СРБ кровь получали при декапитации крыс под нембуталовым наркозом (40 мг/кг массы тела). Цельную кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом (гепарин). Плазму отбирали после центрифугирования в течение 15 мин при 2000 об./мин. Эритроциты дважды отмывали холодным физиологическим раствором с последующим центрифугированием. Полученную эритроцитарную массу использовали для дальнейших исследований.

β-АРЭ определяли экспресс-методом Р.И. Стрюк и И.Г. Длусской [17], М-ХРЭ – с помощью собственной модификации метода определения β-АРЭ [6]. Активность каталазы эритро-

цитов и плазмы крови оценивали по методу [4], интенсивность процессов ПОЛ – по содержанию в плазме крови продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП) [12]. Содержание гемоглобина в крови крыс определяли гемиглобинцианидным методом с помощью стандартных наборов «Гемоглобин АГАТ» («Агат-Мед»).

В первой серии у 53 особей нелинейных крыс в интактном состоянии определяли β-АРЭ, уровень ТБК-РП в плазме, активность каталазы эритроцитов и плазмы крови, содержание гемоглобина. Наряду с названными показателями у 21 особи этой же группы измеряли М-ХРЭ и содержание ТБК-РП в эритроцитах. Во второй серии (40 самцов нелинейных крыс) показатели определяли на фоне введения блокаторов β-адренорецепторов и М-холинорецепторов. В качестве β-адреноблокатора использовали анаприлин (2 мг/кг м.т.), М-холиноблокатора – атропин (1 мг/кг м.т.), которые вводились животным опытных групп (по 12 особей в каждой) однократно [5, 18]. Контрольные животные (16 особей) получали инъекцию физиологического раствора.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (*M*), ошибку среднего арифметического значения (*m*), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0{,}05$. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Пирсона (*r*). Выполняли кластерный и факторный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В выборке из 53 крыс средняя величина β-АРЭ составила 40,6 ± 2,3 отн. ед. (от 11,1 до 70,2 отн. ед.), что соответствовало ранее опубликованным данным [6]. Средние значения активности каталазы в плазме крови (70,4 ± 2,99 мккат/л) и эритроцитах (239,7 ± 6,09 мккат/мл эр. массы) были сходны с данными литературы [4, 12]. Уровень ТБК-РП в плазме интактных крыс был достаточно низким – 0,9 ± 0,14 нмоль/л.

Для выявления возможных зависимостей между реактивностью эритроцитов и показателями СРБ, как и в предыдущей работе [6], нами проведена группировка особей по величине β-АРЭ с помощью процедуры кластеризации методом k-средних. В результате сформированы три группы (табл. 1): с низкой β-АРЭ (от 11,1 до 30 отн. ед.), средней β-АРЭ (от 30,6 до 50,0 отн. ед.), высокой β-АРЭ (более 50,0 отн. ед.). Установлено, что у крыс с высокой β-АРЭ содержание гемоглобина на 9,5 % ($p < 0{,}05$), активность каталазы эритроцитов на 14,3 % ($p < 0{,}05$), уровень ТБК-РП на 75 % ($p < 0{,}05$) выше, чем у особей со средней β-АРЭ. Достоверных различий между группами-кластерами со средней и низкой β-АРЭ не обнаружено. У особей с низкой β-АРЭ содержание гемоглобина и ТБК-РП плазмы было меньше, чем в группе с высокой β-АРЭ (соответственно на 10,8 % ($p < 0{,}05$) и почти в 2,8 раза ($p < 0{,}01$)).

Таблица 1

Показатели СРБ и концентрация гемоглобина в крови крыс с различными величинами β-АРЭ, M ± m

Table 1

Indicators of free radical balance and hemoglobin concentration in blood of rats with different values of β-ARE, M ± m

Показатель	Животные с низкой β-АРЭ (*n* = 13)	Животные со средней β-АРЭ (*n* = 26)	Животные с высокой β-АРЭ (*n* = 14)
β-АРЭ, отн. ед.	20,5 ± 1,9***, ^^^	41,0 ± 0,8	59,7 ± 1,6***
Содержание гемоглобина, г/л	132,0 ± 4,6^	133,6 ± 3,8	146,3 ± 3,1*
Активность каталазы в эритроцитах, мккат/мл эритроцитарной массы	248,3 ± 11,3	225,6 ± 8,1	257,9 ± 7,1*
Каталазная активность плазмы, мккат/л	75,0 ± 4,7	71,6 ± 4,2	63,8 ± 4,7
Содержание ТБК-РП в плазме крови, нмоль/мл	0,5 ± 0,2^^	0,8 ± 0,1	1,4 ± 0,2

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей крыс со средней β-АРЭ (* – при $p < 0{,}05$, *** – при $p < 0{,}001$) и высокой β-АРЭ (^ – при $p < 0{,}05$, ^^ – при $p < 0{,}01$, ^^^ – при $p < 0{,}001$).

Таблица 2

Матрица факторного анализа показателей реактивности эритроцитов, концентрации гемоглобина и СРБ крови крыс

Table 2

Matrix of factor analysis of erythrocyte reactivity indicators, hemoglobin concentration and rat blood free radical balance

Показатель	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
β-АРЭ, отн. ед.	0,068	–0,215	0,862*
М-ХРЭ, отн. ед.	–0,877*	0,361	0,003
Содержание гемоглобина, г/л	0,203	–0,685*	–0,181
Содержание ТБК-РП в эритроцитах, нмоль/мл эритроцитарной массы	0,841	0,064	–0,155
Содержание ТБК-РП в плазме крови, нмоль/мл	–0,239	0,268	0,803*
Активность каталазы в эритроцитах, мккат/мл эритроцитарной массы	0,805*	0,505*	–0,020
Каталазная активность плазмы, мккат/л	0,284	0,809*	–0,226
Общая дисперсия: 5,438	2,310	1,632	1,496
Доля общей дисперсии: 0,777	0,330	0,233	0,214

Примечание. * – нагрузка значима при $p < 0,05$.

Итак, у крыс с высокими величинами β-АРЭ зафиксировано большее содержание гемоглобина и ТБК-РП, а также повышенная активность каталазы эритроцитов, но несколько меньшая активность каталазы плазмы крови, нежели у крыс с низкими и средними величинами β-АРЭ.

Затем был выполнен корреляционный и факторный анализ данных, полученных от 21 интактной особи крыс, у которых помимо величин β-АРЭ и показателей, приведенных в табл. 1, были определены М-ХРЭ и содержание ТБК-РП в эритроцитах.

Корреляционный анализ показал, что β-АРЭ и М-ХРЭ не имеют между собой тесной связи и коррелируют только через оптические плотности проб по их определению ($r = 0,79$; $p < 0,01$). При этом β-АРЭ образует довольно слабые связи с показателями СРБ крови. Самой сильной является связь с уровнем ТБК-РП плазмы ($r = 0,43$), вторая по силе связь – с активностью каталазы плазмы ($r = –0,25$). М-ХРЭ, в отличие от β-АРЭ, образует с показателями СРБ более тесные связи, сопряжена с содержанием ТБК-РП в эритроцитах ($r = –0,63$; $p < 0,05$) и активностью каталазы эритроцитов ($r = –0,58$). Концентрация гемоглобина в крови не коррелирует с β-АРЭ, образует слабую связь лишь с М-ХРЭ ($r = –0,34$). Таким образом, сила корреляционных связей показателей реактивности эритроцитов с параметрами СРБ крови у интактных животных невысока, но М-ХРЭ сопряжена с ними теснее, чем β-АРЭ. При этом β-АРЭ коррелирует только с плазменными, а М-ХРЭ – преимущественно с эритроцитарными показателями СРБ.

В результате факторного анализа с применением ортогонального вращения по методу Varimax выделено три фактора (табл. 2). Самый весомый по величинам факторных нагрузок фактор Ф1 был образован М-ХРЭ, уровнем ТБК-РП и активностью каталазы эритроцитов и определен как *фактор холинореактивности и свободнорадикального баланса эритроцитов*. Основным компонентом Ф2 стала активность каталазы плазмы, а также концентрация гемоглобина и, в меньшей мере, активность каталазы эритроцитов. Учитывая это, фактор Ф2 назван *фактором антиоксидантной защиты крови*. Наконец, Ф3 был сформирован β-АРЭ, концентрацией ТБК-РП и активностью каталазы плазмы, поэтому был определен в качестве *фактора адренореактивности эритроцитов и свободнорадикального баланса плазмы крови*.

Таким образом, факторный анализ показал достаточную весомость и самостоятельность β-АРЭ и М-ХРЭ в характеристике свойств крови с учетом ее СРБ, поскольку М-ХРЭ выступила ведущим показателем фактора Ф1, а β-АРЭ основным показателем фактора Ф3. Факторный анализ подтвердил преимущественную сопряженность М-ХРЭ с эритроцитарными, β-АРЭ – с плазменными характеристиками крови.

Проведенный анализ дал основание предполагать, что вещества, комплементарные адрено- и холинорецепторам эритроцитов, способны через

Таблица 3

Влияние однократного введения β-адреноблокатора и М-холиноблокатора на β-АРЭ, М-ХРЭ и показатели СРБ крови крыс, M ± m

Table 3

The effect of a single injection of β-adrenergic antagonist and antimuscarinic agent on β-ARE, M-ChRE and rat blood free radical balance, M ± m

Показатель	Контроль (n = 16)	β-адреноблокатор (n = 12)	М-холиноблокатор (n = 12)
β-АРЭ, отн. ед.	42,2 ± 2,3	20,4 ± 1,7***	18,7 ± 1,5***
М-ХРЭ, отн. ед.	13,3 ± 2,4	–	6,4 ± 1,2**
Содержание ТБК-РП в эритроцитах, нмоль/мл эритроцитарной массы	4,0 ± 0,4	7,4 ± 1,4*	4,4 ± 0,4
Содержание ТБК-РП в плазме крови, нмоль/мл	1,4 ± 0,3	2,9 ± 0,4*	1,3 ± 0,2
Активность каталазы в эритроцитах, мккат/мл эритроцитарной массы	240,0 ± 8,0	278,1 ± 6,8*	301,9 ± 4,3***
Каталазная активность плазмы, мккат/л	51,7 ± 4,0	73,2 ± 3,7**	80,4 ± 4,5**

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы контроля: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

активацию внутриклеточных сигнальных каскадов влиять как на реактивность эритроцитов, так и на свободнорадикальные процессы в крови и активность антиоксидантных ферментов. Для проверки этого предположения показатели были исследованы на фоне введения в организм животных блокатора β-адренорецепторов анаприлина и блокатора М-холинорецепторов атропина.

Введение анаприлина привело к снижению β-АРЭ на 48,2 % ($p < 0,01$); по сравнению с контролем величина показателя оказалась меньше на 51,6 % ($p < 0,001$) (табл. 3). На фоне введения β-адреноблокатора концентрация ТБК-РП в эритроцитах и плазме крови была больше контрольных величин на 85 и 107 % соответственно ($p < 0,05$). Активность каталазы также была повышенной: в эритроцитах на 15,9 % ($p < 0,05$), в плазме крови на 41,6 % ($p < 0,01$). Таким образом, введение анаприлина снизило β-АРЭ, но привело к росту интенсивности ПОЛ и антиоксидантной защиты крови.

Однократное введение атропина вызвало тренд к снижению М-ХРЭ (на 44 %, $p < 0,1$), а в сравнении с контролем М-ХРЭ стала меньше на 52 % ($p < 0,01$) (см. табл. 3). То есть, атропин как блокатор М-холинорецепторов оказал эффект на М-ХРЭ, аналогичный тому, что наблюдался при введении анаприлина в отношении β-АРЭ, но только в диапазоне более низких величин (4–14 отн. ед.). β-АРЭ, определенная наряду с М-ХРЭ, у крыс, получивших атропин, оказалась в 2,2 раза ниже ($p < 0,001$), чем в контроле. Иными словами, введение атропина снизило реактивность эритроцитов к веществам, комплементарным не только холино-, но и адренорецепторов.

У крыс, получивших блокатор М-холинорецепторов, активность каталазы в эритроцитах и плазме крови была на 25,8 % ($p < 0,001$) и 55,5 % ($p < 0,01$) выше соответствующих значений в контроле. Однако блокада М-холинорецепторов практически не повлияла на концентрацию ТБК-РП в эритроцитах и плазме крови. То есть на фоне атропина, несмотря на снижение М-ХРЭ и β-АРЭ, интенсивность ПОЛ оставалась стабильной при повышении активности каталазы эритроцитов и плазмы крови.

Корреляционный анализ показал, что на фоне анаприлина усилилась сопряженность β-АРЭ с уровнем ТБК-РП и активностью каталазы эритроцитов (с $r = –0,04$ до $r = –0,26$ и с $r = –0,12$ до $r = –0,32$ соответственно). Особенно сильные связи со всеми показателями СРБ крови образовала оптическая плотность проб по определению β-АРЭ: от $r = –0,92$ до $r = –0,55$ ($p < 0,01$). Следовательно, возросла сила корреляций β-АРЭ с эритроцитарными показателями и несколько слабее стали ее корреляции с плазменными показателями СРБ крови.

После введения атропина усилилась связь М-ХРЭ с активностью каталазы эритроцитов (с $r = –0,63$ до –0,85; $p < 0,05$) и плазмы крови (с $r = 0,14$ до 0,59), выросли коэффициенты корреляции уровня ТБК-РП плазмы с концентрацией ТБК-РП в эритроцитах (с $r = –0,35$ до $r = –0,85$; $p < 0,05$) и с активностью каталазы эритроцитов (с $r = –0,03$ до $r = –0,45$). То есть на фоне блока-

ды М-холинорецепторов выросла сопряженность М-ХРЭ с активностью каталазы крови, усилились связи между плазменными и эритроцитарными показателями СРБ крови.

Таким образом, β-АРЭ и М-ХРЭ снижаются при введении в организм и блокатора β-адренорецепторов, и блокатора М-холинорецепторов. Это свидетельствует о высокой чувствительности показателей реактивности эритроцитов к такого рода воздействиям, подтверждает их способность отражать изменения в связывании эритроцитами веществ, комплементарных адрено- и холинорецепторам. Полученные данные свидетельствуют, что на уровне эритроцитарных мембран происходит взаимодействие β-адренорецепторов и М-холинорецепторов, которое, по-видимому, имеет значение для оптимальной регуляции свойств и функций эритроцитов. Изменение активности каталазы крови и уровня ТБК-РП одновременно со снижением β-АРЭ и М-ХРЭ при введении блокаторов адрено- и холинорецепторов подтверждает предположение о том, что активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов и общее про- и антиоксидантное состояние крови зависят от рецепции регуляторных факторов на мембране эритроцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Переходя к обсуждению результатов, следует сказать, что приведенные в исследовании данные в целом соответствуют полученным ранее [5, 6, 18]. Так, средняя величина β-АРЭ в выборке находилась в пределах 35–45 отн. ед, М-ХРЭ – 5–15 отн. ед. Для характеристики СРБ взяты наиболее часто определяемые показатели: уровень ТБК-РП и активность каталазы эритроцитов и плазмы крови. Это дает определенное основание говорить о балансе применительно как к системе «прооксиданты – антиоксиданты» [11], так к системе «эритроциты – плазма крови»

Тот факт, что у крыс с высокой β-АРЭ содержание ТБК-РП и активность каталазы эритроцитов выше, а активность каталазы в плазме крови ниже, чем у крыс с низкой и средней β-АРЭ, согласуется с представлениями об активации процессов свободнорадикального окисления при избыточности адренергической реакции [10, 11, 14]. Выявленная зависимость позволяет предполагать, что связывание лигандов с адренорецепторами мембраны вызывает активацию внутриклеточных сигнальных каскадов, влияющих не только на белки цитоскелета [7, 8, 15], но и на активность эритроцитарной каталазы. Это необходимо для поддержания высокого уровня антиоксидантной защиты в условиях усиленной адренергической реакции. Уменьшение активности каталазы плазмы может рассматриваться как следствие низкой проницаемости мембраны, поскольку фосфорилирование элементов цитоскелета приводит к повышению прочности связей между ними [7, 8, 15].

Структура корреляций и факторных нагрузок продемонстрировала бóльшую сопряженность М-ХРЭ, нежели β-АРЭ, с показателями СРБ крови. Полагаем, что преимущественная связь β-АРЭ с плазменными, а М-ХРЭ – с эритроцитарными показателями СРБ объясняется ролью холинергических влияний в поддержании гомеостаза, в данном случае на уровне эритроцитов, и ролью адренергических влияний в изменении гомеостаза эритроцитов в ответ на запросы извне, опосредованные сдвигами в составе плазмы крови, что согласуется с представлениями о функциях отделов вегетативной нервной системы в организме [3].

Уменьшение β-АРЭ после введения анаприлина говорит о том, что блокатор действительно снижает число свободных адренорецепторов на мембранах и резко ограничивает способность эритроцитов реагировать повышением осмотической стойкости в среде инкубации на вещества, комплементарные β-адренорецепторам. Ранее [5, 18] нами показано, что введение анаприлина уменьшает β-АРЭ параллельно с урежением ЧСС, т.е. адренорецепторы, локализованные в миокарде и на мембранах эритроцитов, блокируются одновременно. Увеличение интенсивности ПОЛ в этих условиях может рассматриваться как результат повышения уровня свободных катехоламинов в крови из-за ограничения связывания их эритроцитами. Свободные катехоламины при определенных условиях склонны к аутоокислению в хиноидные соединения и становятся источниками активных форм кислорода [20]. Это могло выступить непосредственной причиной накопления продуктов ПОЛ. Вклад в накопление ТБК-РП при блокаде β-адренорецепторов могла внести недостаточная активация внутриэритроцитарных процессов, в том числе антиоксидантной защиты, на что указывает весьма умеренное повышение активности каталазы крови. Названные изменения хорошо согласованы, что подтверждается усилением силы корреляций β-АРЭ с эритроцитарными показателями СРБ.

Введение атропина снизило не только М-ХРЭ, ограничив число М-холинорецепторов, способных взаимодействовать с холинолитиком в среде инкубации, но весьма существенно снизило и β-АРЭ. С учетом данных Б.Н. Манухина и Л.А. Нестеровой [9], такой эффект блокатора хо-

линорецепторов может свидетельствовать об изменении сродства адренорецепторов к лигандам за счет рецептор-рецепторных взаимодействий в эритроцитарных мембранах. Полагаем, что в присутствии атропина увеличивается жесткость мембраны [9, 22], происходит стабилизация активированного состояния адренорецепторов, согласно данным Е.В. Артемовой и соавторов [1], что ограничивает эффект анаприлина в среде инкубации при определении β-АРЭ. Стабильность показателей ПОЛ при повышении активности каталазы, особенно в эритроцитах, могло стать результатом 1) снижения сродства адренорецепторов к катехоламинам из-за аллостерических взаимодействий адрено- и холинорецепторов в эритроцитарных мембранах [9], 2) потенцирования атропином аденилатциклазного каскада [21]. Усиление связей М-ХРЭ с показателями СРБ крови после введения атропина свидетельствует о том, что вещества, комплементарные М-холинорецепторам, способны оказывать если не прямое, то опосредованное (через модуляцию свойств адренорецепторов и компонентов адренергического сигнального каскада) влияние на активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований можно прийти к следующим заключениям:

1. Показатели реактивности эритроцитов у нелинейных крыс в интактном состоянии (β-АРЭ – 40,6 ± 2,3 отн. ед., М-ХРЭ – 7,9 ± 0,3 отн. ед.) характеризуются определенной сопряженностью с показателями свободнорадикального баланса крови, что подтверждает перспективность их использования в экспериментальной практике.

2. Животные с высокой β-АРЭ имеют несколько большее содержание гемоглобина, более высокий уровень ТБК-реактивных продуктов и активности каталазы в эритроцитах, но меньшую каталазную активность плазмы крови, нежели крысы со средними и низкими значениями β-АРЭ.

3. По результатам корреляционного и факторного анализа М-ХРЭ сильнее сопряжена и образует фактор Ф1 с эритроцитарными показателями, а β-АРЭ связана и образует фактор Ф3 с плазменными показателями свободнорадикального баланса крови.

4. Блокада β-адренорецепторов снижает β-АРЭ и потенцирует смещение СРБ в сторону накопления продуктов ПОЛ в эритроцитах и плазме крови, блокада М-холинорецепторов снижает М-ХРЭ и β-АРЭ, способствует усилению антиоксидантной защиты в виде повышения каталазной активности эритроцитов, что свидетельствует о взаимодействии адрено- и холинорецепторов эритроцитов и их участии в изменении активности антиоксидантных ферментов и интенсивности свободнорадикальных процессов в крови.

Таким образом, сопряженность β-АРЭ и М-ХРЭ с показателями СРБ крови у интактных нелинейных крыс довольно слабая, но для особей с высокой β-АРЭ характерны более высокие каталазная активность эритроцитов и содержание ТБК-РП в плазме крови. Специфичность корреляционных связей β-АРЭ и М-ХРЭ с эритроцитарными и плазменными параметрами СРБ крови, по-видимому, отражает функциональное назначение адрено- и холинорецепторов эритроцитов. Введение блокаторов адрено- и холинорецепторов вызывает снижение β-АРЭ, М-ХРЭ, сдвиги в СРБ крови и корреляционных отношениях. Следовательно, показатели реактивности эритроцитов могут рассматриваться как связующее звено между регуляторными и биохимическими процессами на уровне эритроцитов. Определение β-АРЭ и М-ХРЭ в комплексе с параметрами СРБ и другими биохимическими показателями крови может дать дополнительную информацию о регуляторных влияниях на эти процессы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артемова Е.В., Горбачева А.М., Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю., Гаврилова С.А., Дедов И.И. Механизмы нейрогуморальной регуляции клеточного цикла кератиноцитов при сахарном диабете. *Сах. диабет*. 2016; 19 (5): 366–374.

Artemova E.V., Gorbacheva A.M., Galstyan G.R., Tokmakova A.Yu., Gavrilova S.A., Dedov I.I. Mechanisms of neurohumoral regulation of the cell cycle of keratinocytes in diabetes mellitus. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus*. 2016; 19 (5): 366–374. [In Russian].

2. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. Структурно-функциональная характеристика мембран эритроцита и ее изменение при патологиях разного генеза. *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН*. 2010; (3): 334–354.

Borovskaya M.K., Kuznetsova E.E., Gorohova V.G. Structural and functional characteristics of erythrocyte membranes and its change in pathologies of different genesis. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of East Siberian Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*. 2010; (3): 334–354. [In Russian].

3. Вейн А.М. Краткий анатомо-физиологический очерк. Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение. М.: МИА, 2003. 14–43.

Veyn A.M. Brief anatomical and physiological essay. Vegetative disorders: Clinic, diagnosis, treatment. Moscow: MIA, 2003. 14–43. [In Russian].

4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1988; (1): 16–18.

Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoe delo = Laboratory Business*. 1988; (1): 16–18. [In Russian].

5. Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Ступин В.О., Теплый Д.Л. Влияние стимуляции нейромедиаторных систем на вариабельность сердечного ритма и адренореактивность эритроцитов крови нелинейных крыс. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2017; 163 (1): 40–45.

Kuryanova E.V., Tryasuchev A.V., Stupin V.O., Teplyy D.L. Effect of stimulation of neurotransmitter systems on heart rate variability and β-adrenergic responsiveness of erythrocytes in outbred rats. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2017; 163 (1): 31–36.

6. Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Ступин В.О., Теплый Д.Л. Адрено- и холинореактивность эритроцитов и анализ их сопряженности с показателями сердечного ритма у нелинейных крыс. *Биомедицина*. 2018; (2): 33–46.

Kuryanova E.V., Tryasuchev A.V., Stupin V.O., Teplyy D.L. Adreno- and cholinoreactivity of erythrocytes and analysis of their conjugation with heart rate indices in nonlinear rats. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2018; (2): 33–46. [In Russian].

7. *Курята А.В., Соя Е.В*. Уровень активности β-адренорецепторов, состояние функции эндотелия и мембран эритроцитов у больных старших возрастных групп с сердечной недостаточностью и их изменением под влиянием лечения. *Укр. кардіол. журн*. 2004; (3): 60–65.

Kuryata A.V., Soya E.V. Level of β-adrenoreceptor activity, the state of endothelial function and erythrocyte membranes in patients of older age groups with heart failure and their change under the influence of treatment. *Ukrayins'kyy kardiolohichnyy zhurnal = Ukrainian Cardiology Journal*. 2004; (3): 60–65. [In Russian].

8. Липунова Е.А., Скоркина М.Ю. Физиология крови: монографическое исследование. Белгород: БелГУ, 2007. 324 с.

Lipunova E.A., Skorkina M.Yu. Physiology of blood: monographic study. Belgorod.: BelGU, 2007. 324 p. [In Russian].

9. Манухин Б.Н., Нестерова Л.А. Аллостерическое влияние атропина и карбахола на активность альфа2-адренорецепторов мембран коры головного мозга крыс. *Биол. мембраны*. 2011; 28 (5): 382–386.

Manukhin B.N., Nesterova L.A. Allosteric effects of atropine and carbachol on the activity of alpha 2-adrenergic receptors in rat cerebral cortex membranes. *Biologicheskie membrany = Biological membranes*. 2011; 28 (5): 382–386. [In Russian].

10. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 266 с.

Meerson F.Z. Pathogenesis and prevention of stressor and ischemic heart damage. Moscow: Meditsina, 1984. 266 p. [In Russian].

11. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.

Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. Moscow: Slovo, 2006. 556 p. [In Russian].

12. Мещанинов В.Н., Щербаков Д.Л. Влияние нейромедиаторов на перекисное окисление липидов при иммобилизационном стресс-воздействии у крыс разного возраста. *Казан. мед. журн*. 2015; (5): 843–849.

Meshchaninov V.N., Shcherbakov D.L. Influence of neurotransmitters on lipid peroxidation during immobilization stress in rats of different ages. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*. 2015; (5): 843–849. [In Russian].

13. Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Ахапкина А.А., Булаева С.В., Михайлов П.В., Муравьев А.А. Микромеханические ответы эритроцитов человека на стимулирование мембранных рецепторов, ионных каналов и ферментов. *Рос. журн. биомех*. 2016; 20 (1): 28–36.

Murav'ev A.V., Tikhomirova I.A., Akhapkina A.A., Bulaeva S.V., Mikhaylov P.V., Murav'ev A.A. Micromechanical responses of human erythrocytes to stimulation of membrane receptors, ion channels and enzymes. *Rossiyskiy zhurnal biomekhaniki = Russian Journal of Biomechanics*. 2016; 20 (1); 28–36.

14. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Актуальные проблемы патофизиологии. Ред. Б.Б. Мороз. М.: Медицина, 2001. 220–353.

Pshennikova M.G. The phenomenon of stress. Emotional stress and its role in pathology. Actual problems of pathophysiology. Ed B.B. Moroz. Moscow: Meditsina, 2001. 220–353. [In Russian].

15. Скоркина М.Ю. Морфофизиологический анализ механизмов регуляции объема клеток крови. Автореф. дис. … д-ра биол. наук. Астрахань, 2014. 40 с.

Skorkina M.Yu. Morphological and physiological analysis of the mechanisms regulating the volume of blood cells. Abstract of the thesis … doctor of biological sciences. Astrakhan, 2014. 40 p. [In Russian].

16. Стрельникова А.И., Циркин В.И., Крысова А.В., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л. М-холи-

нореактивность эритроцитов небеременных и беременных женщин, определяемая по изменению скорости агглютинации эритроцитов под влиянием ацетилхолина. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2012; 154 (8): 140–143.

Strelnikova A.I., Tsirkin V.I., Krysova A.V., Hlybova S.V., Dmitrieva S.L. M-cholinoreactivity of erythrocytes of non-pregnant and pregnant women evaluated by changes in the rate of erythrocyte agglutination under the influence of acetylcholine. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2012; 154 (2): 180–183.

17. Стрюк Р.И., Длусская И.Г. Адренореактивность и сердечно-сосудистая система. М.: Медицина, 2003. 160 с.

Stryuk R.I., Dlusskaya I.G. Adrenoreactivity and cardiovascular system. Moscow: Meditsina, 2003. 160 p. [In Russian].

18. Трясучев А.В., Курьянова Е.В., Зиновьева К.И., Мясникова Е.А., Дьяконова В.Ф., Остроушко Т.С. Адренореактивность эритроцитов и сердечный ритм крыс при введении анаприлина и атропина на фоне стимуляции центральной норадренергической. *Естеств. науки*. 2017; 59 (2): 71–79.

Tryasuchev A.V., Kuryanova E.V., Zinoveva K.I., Myasnikova E.A., Dyakonova V.F., Ostroushko T.S. Adrenoreactivity of erythrocytes and cardiac rhythm of rats with the administration of anaprilin and atropine against the background of stimulation of central noradrenergic. *Estestvennye nauki = Natural Sciences*. 2017; 59 (2): 71–79. [In Russian].

19. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Братухина О.А., Попова В.С., Шушканова Е.Г. Хемореактивность эритроцитов как отражение течения беременности и родов (обзор литературы). *Вестн. Урал. мед. акад. науки*. 2015; (4): 143–150.

Tsirkin V.I., Anisimov K.Yu., Hlybova S.V., Dmitrieva S.L., Bratuhina O.A., Popova V.C., Shushkanova E.G. Chromoreactivity of erythrocytes as a reflection of the course of pregnancy and childbirth. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*. 2015; (4): 143–150. [In Russian].

20. Fu Y., Han J., Ishola T., Scerbo M., Adwanikar H., Ramsey C., Neugebauer V. PKA and ERK, but not PKC, in the amygdala contribute to pain-related synaptic plasticity and behavior. *Mol. Pain*. 2008; 6 (4): 26–46.

21. Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology, 14th ed. McGraw-Hill Education, 2017. 1264 p.

22. Lopes de Almeida J.P., Saldanha C. Nonneuronal cholinergic system in human erythrocytes biological role and clinical relevance. *J. Membr. Biol*. 2010; 234: 227–234.

Сведения об авторах:

Курьянова Е.В., д.б.н, e-mail: fyzevk@rambler.ru
Трясучев А.В., к.б.н.
Тёплый Д.Л., д.б.н., проф.

Information about authors:

Kuryanova E.V., doctor of biological sciences, e-mail: fyzevk@rambler.ru
Tryasuchev A.V., candidate of biological sciences
Teply D.L., doctor of biological sciences, professor