

4. Мосягина Е.Н., Владимировская Е.Б., Торубарова Н.А., Мызина Н.В. Кинетика форменных элементов крови. – М.: Медицина, 1976. – 270 с.
5. Патент на изобретение № 2227280 РФ. Способ определения ретикулоцитов в инкубированной крови птиц / М.Ю. Скоркина, Е.А. Липунова. – по заявке № 2002119253 от 16.07.02 // БИПМ. – № 11, Ч. III. – 2004. – С. 557.
6. Илюхин А.В., Шашков В.С., Бурковская Т.Е., Зубеннова Э.С. Цитокинетика и морфология кроветворения при хроническом облучении. – М.: Энергоиздат, 1982. – 136 с.

THE METHOD OF DEFINITION CYTOKINETIC PARAMETERS FOR THE ERYTHROCYTE BALANCE OF BIRDS BLOOD

H.A. Lipunova, M.Yu. Skorkina

Belgorod State University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: lipunova@bsu.edu.ru

The original way of definition of functional activity of a bone brain (erythrocyte balance) at birds in physiological conditions is stated. This original way can be used as the objective test at an estimation of adaptable reserves of system erythron in conditions of action of extreme factors. It allows to use an offered way in hematology and ecologies of animals. The offered way is technically simple, economic and differs high reproducibility.

Key words: bone brain, erythrocyte of balance, adaptable reserves of system erythron, hematology.

УДК 612:591.111.1

СТРУКТУРНАЯ ЛАБИЛЬНОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН ЛЯГУШЕК И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ НАГРУЗКЕ IN VITRO

М.Ю. Скоркина, Е.А. Липунова, А.С. Зеленцова

Белгородский государственный университет, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Впервые для эритроцитов лягушек определен мембранный резерв, рассчитан коэффициент резервной поверхности и выявлены влияния на эти важнейшие клеточные характеристики гипотонии. Изучены особенности клеточного ответа на адреналиновую, гипотоническую нагрузки и их сочетание. Показана стабилизирующая роль адреналина на мембрану, мембранные каналы и участие гормона в регуляции формы эритроцита.

Ключевые слова: эритроциты лягушек, мембранный резерв эритроцитов, коэффициент резервной поверхности, адреналиновая и гипотоническая нагрузка.

Введение

Способность эритроцитов к регуляции объема имеет важное значение в реализации реологических свойств крови, обеспечении оптимального кислородного питания тканей и удалении метаболитов. В механизмах поддержания объема особая роль отводится процессам ауторегуляции и гормонам, способным модифицировать работу ионных переносчиков и изменять состояние цитоскелета [1], макромолекулы которого обеспечивают клетке высокую чувствительность к изменению объема [6], препятствуют свободному току воды в клетку [5], изменяют упруго-эластические характеристики мембран, что имеет значение для контроля транспортной активности.

Целью исследования явилось изучение влияния адреналина на резервные возможности мембран, регуляторные способности и устойчивость эритроцитов к гипоосмотическим нагрузкам.

Материалы и методы исследования

Исследования *in vitro* проведены на эритроцитах зимних лягушек *Rana ridibunda* Pall. Трижды отмытые эритроциты инкубировали в течение 15 мин при температуре 20°C с адреналином (0,25 ммоль·л⁻¹), а затем помещали в гипоосмотическую среду (0,2% раствор хлорида натрия). В ходе часовой экспозиции через каждые 30 с осуществляли видеорегистрацию клеток и компьютерный анализ в каждой контрольной точке, используя анализатор изображений с программным обеспечением «Видео – Тест – Мастер – Морфология». Измеряли максимальную и минимальную оси клетки; рассчитывали средний объем, толщину (высоту), площадь поверхности и коэффициент эксцентricности [3]. Биометрические индексы определяли по предложенному нами способу [2]. Контролем служили эритроциты, также погруженные в 0,2% NaCl, но не инкубированные с адреналином.

Результаты исследования и их обсуждение

Обработка клеток адреналином изменяет свойства мембраны. Через 30 с экспозиции при незначительном увеличении объема (на 1,9%; $p > 0,05$) прирост площади поверхности мембраны составил 57,9% ($p < 0,001$), но через 300 с коэффициент эксцентricности, объем, толщина и площадь поверхности в опытной пробе клеток были ниже на 3,2; 3,6; 0,3 и 3,3% ($p > 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной. Через 1 ч толщина эритроцитов уменьшалась на 6,1% ($p < 0,001$) и увеличивались коэффициент эксцентricности, объем и площадь поверхности мембраны соответственно на 5,6% ($p < 0,05$); 5,1 и 6,2% ($p > 0,05$) (табл.).

Динамика морфометрических характеристик эритроцитарной популяции лягушек

Время, с	Условия	ϵ	V	T	S
30	контроль	0,774±0,008	2365,369±68,039	5,484±0,075	375,996±7,61
	опыт	0,778±0,008*	2410,254±83,812	5,478±0,088	892,630±19,995***
60	контроль	0,769±0,076	2880,807±71,994	5,893±0,070	1009,281±15,798
	опыт	0,765±0,009	2732,055±70,271	5,790±0,068	972,953±16,742
120	контроль	0,761±0,006	2968,709±79,407*	5,994±0,070*	1025,211±16,846*
	опыт	0,769±0,007	2700,043±87,314*	5,738±0,070*	964,045±20,924*
180	контроль	0,768±0,006*	2770,656±75,629	5,818±0,075	978,647±18,636
	опыт	0,741±0,009*	2625,999±81,618	5,784±0,076	938,463±19,355
300	контроль	0,762±0,006	2862,017±75,569	5,913±0,067	1001,665±16,462
	опыт	0,752±0,008	2720,61±85,123	5,818±0,075	964,184±19,376
330	контроль	0,766±0,007*	2933,137±79,875*	5,959±0,067	1016,66±17,157*
	опыт	0,746±0,007*	2695,881±74,699*	5,848±0,065	957,314±17,141*
3600	контроль	0,747±0,005*	2712,727±68,052	5,858±0,065	964,285±15,106
	опыт	0,765±0,005*	2722,741±73,092	5,810±0,063	967,356±16,972
900	контроль	0,727±0,007*	2764,496±64,539	5,951±0,060*	973,956±14,597
	опыт	0,763±0,010*	2653,445±79,794	5,722±0,074*	952,656±18,314
1800	контроль	0,725±0,010*	2726,036±87,706	5,894±0,068*	958,679±21,021
	опыт	0,769±0,008*	2589,895±102,867	5,650±0,083*	932,621±22,793
3600	контроль	0,720±0,009	3148,611±74,716	6,249±0,063	1059,6±16,034
	опыт	0,763±0,016*	3319,701±147,014	5,869±0,083***	1129,194±38,497

Примечание. ϵ – коэффициент числовой эксцентricности, V – объем клетки, T – толщина клетки, S – площадь поверхности мембраны.

Статистическая значимость достоверности различия с исходными данными при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,002$; *** – $p < 0,001$.

Экспозиция эритроцитов в течение часа в гипотонической среде отразилась на значениях биометрических индексов: через 30с резервные возможности мембраны (RVM) и регуляторные возможности клеток (RVK) в опыте и контроле отличались незначительно; коэффициент резервной поверхности ($K_{рп}$) был выше в опытной пробе на 58,1% ($p < 0,001$). Через 150с RVM, RVK и $K_{рп}$ в обеих пробах были близки по значению. Через 180 с под влиянием адреналина прирост RVM составил 53,0%, $K_{рп}$ понизился на 17,5% ($p < 0,001$), а RVK возросли на 94,1% ($p < 0,05$). Тенденция роста RVM сохранялась в опытной пробе: через 270 с на 7,2%; 600 с – 8,4; 900 с – 10,0 и через 3600 с – на 48,8% ($p < 0,001$). Изменения $K_{рп}$ находились в обратной зависимости от RVM: через 270 с экспозиции снижение $K_{рп}$ составило 14,8%, 600 с – 13,5; 900 с – 9,3 ($p < 0,001$) и через 3600 с – 5,44% ($p > 0,05$).

Заключение

Адреналин, стабилизируя мембрану эритроцита, понижает проницаемость его для воды и снижает гипоосмотическую нагрузку. Вероятно, в условиях *in vitro* свободно-радикальные процессы сведены до минимума и, следовательно, структурно-функциональные изменения в мембранах не ведут к их дестабилизации. Начальное увеличение коэффициента резервной поверхности клеток, инкубированных с адреналином, обусловлено эффектом «растекания» гормонального действия вследствие изменения физико-химического состояния липидной фазы в сторону большей ее жидкости, а следовательно, и подвижности как липидных, так и белковых молекул в мембране [4]. Увеличение $K_{рп}$ влечет за собой рост площади поверхности клеток; однако мембрана эритроцитов лягушек способна выдерживать относительно небольшое растяжение.

Список литературы

1. Орлов С.Н., Новиков К.Н. Регуляция объема клетки: механизмы, сопряженные клеточные реакции и патофизиологическое значение // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1996. – Т. 82, № 8-9. – С. 1-15.
2. Патент на изобретение № 2268463 РФ. Способ оценки активности эритропоэза / Е.А. Липунова, В.М. Никитин, М.Ю. Скоркина, А.С. Зеленцова – по заявке № 2004111098 от 12.04.04 // БИПМ. – № 2, Ч. III. – 2006. – С. 1979.
3. Патент на изобретение № 2234701 РФ. Способ идентификации субпопуляций эритроцитарной системы / Е.А. Липунова, В.М. Никитин, Н.А. Чеканов, М.Ю. Скоркина. – по заявке № 2002134029 от 17.12.02 // БИПМ. – № 23, Ч. III. – 2004. – С. 573.
4. Перцева М.Н. Молекулярные основы развития гормонокомпетентности. – Л.: Наука, 1989. – 251 с.
5. Смирнова Е.А., Казачкина Н.Н., Ченцов Ю.С. Устойчивость разных типов клеток к действию гипотонии // Цитология. – 1987. – Т. 29, № 1. – С. 47-53.
6. Doctor B.R., Zhelev D.V., Mandel L.J. Loss of plasma membrane structural support in ATP-depleted renal epithelia // Am. J. Physiol. – 1997. – V. 272. – P. 439-449.

STRUCTURAL LABILITY THE MEMBRANES OF ERYTHROSYTE FROGS AND REGULATIONS PROCESSES AT ADRENALINIC LOADING IN VITRO

M.Y. Skorkina, H. A. Lipunova, A.S. Zelencova

Belgorod State University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: lipunova@bsu.edu.ru

It is certain the membrane reserve for the erythrocyte frogs at the first time. The factor of a reserve surface is calculated and influences on these major cellular characteristics of a hypotonia are revealed. Features of the cellular answer to adrenergic, hypotonic loadings, and their combination are studied. The stabilizing role of adrenaline on a membrane, membrane channels and participation of a hormone in regulation of the form erythrocyte is shown.

Key words: erythrocyte of frogs, membrane a reserve of erythrocyte, factor of a reserve surface, adrenergic and hypotonic loading.