

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-5-24-27

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА РЕОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС

А. С. Иванова¹, О. А. Пахрова², В. В. Криштоп², О. С. Ленчер²

Изучена динамика макро- и микрореологических показателей крови после острой гиперкатехоламинемии у крыс. Моделирование гиперкатехоламинемии осуществляли однократным введением 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида подкожно в дозе 2 мг/кг. Реологические показатели оценивали через 1, 24 и 72 ч после введения адреналина. Проводили регистрацию характеристик вязкости цельной крови и плазмы, оценивали агрегацию и деформируемость эритроцитов. Через 1 ч после введения адреналина вязкость крови уменьшается на низких скоростях сдвига на 34 %, $p = 0,002$ без существенных изменений вязкости плазмы, возрастает агрегация эритроцитов в среднем на 90 % ($p = 0,03$) и их деформируемость на 35 % ($p = 0,002$). Через 24 ч повышаются вязкость крови на 76 % ($p = 0,0004$), вязкость плазмы — на 9 % ($p = 0,03$), агрегация эритроцитов — на 73 % ($p = 0,04$), деформируемость — на 25 % ($p = 0,02$). Через 72 ч отмечается снижение вязкости плазмы, вязкости крови в среднем на 28 % ($p = 0,001$), агрегация эритроцитов возвращается к контрольным значениям, деформируемость остается повышенной на 30 % ($p = 0,0006$).

Ключевые слова: адреналин; реология; вязкость крови; агрегация эритроцитов; деформируемость эритроцитов; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Гиперкатехоламинемия — один из основных патогенетических факторов развития как стрессорного, так и ишемического повреждения миокарда. При этом состоянии, несмотря на расширение сосудов, провоцируется резкое увеличение функциональной активности миокарда, возрастает потребность в энергии при относительной недостаточности процессов окислительного фосфорилирования и развиваются катехоламиновые некрозы. Возникающие нарушения метаболизма сердечной мышцы при катехоламиновых и коронарогенных некрозах качественно не отличаются [12].

При повреждении миокарда происходит изменение реологии циркулирующей крови, как макро-, так и микрореологических параметров, что имеет значение для функционирования системы кровообращения, а следовательно, и жизнедеятельности организма [7].

На реологические показатели крови влияет макромолекулярный состав плазмы, количественные и корпускулярные характеристики эритроцитов, способность их к деформации и агрегации. Известно, что на мембране эритроцитов представлены как альфа-1, так и бета-1- и бета-2-адренорецепторы [4, 8], поэтому важную роль в механизмах изменений реологии крови при гиперкатехоламинемии играет выраженность ответа красных клеток крови на адренергический стимул.

По результатам исследований ряда авторов, адреномиметики и адреноблокаторы, связываясь с адренорецепторами эритроцитов, изменяют агрегационную способность последних. Однако имеющиеся данные отражают либо влияние адреналина *in vitro*, либо в условиях наличия хронической патологии сердечно-сосудистой системы [3, 7, 10].

Цель работы — изучить динамику изменений макро- и микрореологических показателей крови у крыс после однократного введения адреналина гидрохлорида.

К макрореологическим параметрам (характеризуют кровь как целое, лишенное структуры) относят вязкость цельной крови, вязкость плазмы, концентрацию эритроцитов (показатель гематокрита).

К микрореологическим параметрам (характеризуют реологические свойства крови в зависимости от реологических свойств её компонентов, в основном эритроцитов) относят агрегацию и деформируемость эритроцитов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 200 – 280 г (питомник “Андреевка” Солнечногорский район, Московская обл.). Моделирование гиперкатехоламинемии осуществляли однократным введением 0,1 % раствора фармакопейного адреналина гидрохлорида (ФГУП “Московский эндокринный завод”, Россия) подкожно в дозе 2 мг/кг. В этой дозе адреналин способствует возникновению катехоламинового некроза миокарда [13]. Макро- и микрореологические показатели оценивали через 1 ч (10 животных), 24 ч (10 животных) и 72 ч (10 животных) после введения адреналина.

¹ ФГБОУ ВО “Ивановская государственная медицинская академия” Минздрава России.

² Научно-исследовательский центр ФГБОУ ВО “Ивановская государственная медицинская академия” Минздрава России, Россия, 153012, Иваново, Шереметевский пр., 8.

Для получения контрольных значений дополнительно было использовано 10 крыс. Забор крови для исследования проводили после вскрытия грудной клетки из сердца с помощью шприца в пробирку с цитратом натрия. Перед забором крови животные были наркотизированы с помощью золегила в дозе 30 мг на 1 кг массы.

Регистрацию характеристик вязкости цельной крови и плазмы проводили на ротационном вискозиметре “конус-конус” АКР-2 (АОЗТ “Мелт”, Россия) при постоянной температуре $(37,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ при скорости сдвига от 10 до 200 с^{-1} . Содержание гемоглобина определяли унифицированным гемиглобинцианидным методом с использованием гемоглобинометра (МиниГЕМ 540, Россия). Показатель гематокрита (Hct) оценивали с помощью гематокритной центрифуги (ELMI CM-70, Латвия). Так как в процессе исследований пробы крови отличались друг от друга по гематокриту, а этот показатель влияет на абсолютную величину вязкости, то целесообразно рассчитывать удельную вязкость (УВ) — отношение вязкости крови и показателя гематокрита: $\text{УВ} = V_{\text{кр}} \cdot 40/\text{Hct}$ (вязкость крови, скорректированная на гематокрит 40 %). Существенное влияние на вязкость цельной крови оказывает белковый состав плазмы, поэтому для оценки роли вязкости плазмы рассчитывали относительную вязкость (ОВ), как соотношение вязкости крови ($V_{\text{кр}}$) и вязкости плазмы ($V_{\text{пл}}$): $\text{ОВ} = V_{\text{кр}}/V_{\text{пл}}$ [9].

Эффективность транспорта кислорода вычисляли по формуле:

$$\text{TO}_2 = \text{Hct}/V_{\text{кр}}200,$$

где TO_2 — индекс эффективности доставки кислорода в ткани; Hct — гематокрит; $V_{\text{кр}}200$ — вязкость крови при высокой скорости сдвига ($\gamma = 200\text{ с}^{-1}$).

Процесс сборки линейных агрегатов оценивали автоматическим агрегометром эритроцитов типа МА1

(Mytenne, Германия) на основе метода Н. Schmid-Schonbein [15]. Степень агрегации определяли через 5 и 10 с после остановки при высокой скорости сдвига (M(5) и M(10)) и при низкой скорости сдвига 3 с^{-1} (M1(5) и M1(10)).

Деформируемость эритроцитов изучали фильтрационным методом с использованием автоматического прибора ИДА-4 (ООО “Агат-мед”, Россия) измерением начальной скорости свободного протекания суспензии эритроцитов через поликарбонатные трековые мембраны Nemafile (“Whatman”, Германия) с диаметром пор 3 мкм под действием силы тяжести (около 60 мм водного столба). В качестве показателя деформируемости эритроцитов использовали индекс ригидности (ИР):

$$\text{ИР} = (t_s - t_b) \cdot 100/t_b \cdot \text{Hct},$$

где t_s — время прохождения через фильтр 250 мкл суспензии эритроцитов; t_b — усредненное время прохождения через фильтр 250 мкм ресуспендирующего раствора (HEPES-буфер, pH = 7,4); Hct — значение гематокрита суспензии в процентах.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартного пакета статистических программ Statistika-6.0 (StatSoft, Inc.). Достоверность отличий данных, подчиняющихся нормальному распределению, определяли с помощью t -критерия Стьюдента. Если характер распределения отличался от нормального, то сравнение средних величин проводили с помощью критериев Колмогорова — Смирнова и Манна — Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных после однократного подкожного введения 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида в дозе

Реологические показатели крови крыс через 1, 24 и 72 ч после однократного введения адреналина гидрохлорида подкожно в дозе 2 мг/кг ($M \pm m$)

Показатель	Контрольное значение	Время после введения адреналина		
		1 ч	24 ч	72 ч
Показатель гематокрита, %	$36,6 \pm 0,63$	$36,6 \pm 1,13$	$35,1 \pm 0,57$	$34,1 \pm 0,80^*$
Вязкость плазмы, мПа · с	$1,54 \pm 0,03$	$1,59 \pm 0,03$	$1,73 \pm 0,05^{*\#}$	$1,43 \pm 0,02^{*\#}$
Вязкость крови (10), мПа · с	$9,84 \pm 1,07$	$6,51 \pm 2,11^*$	$11,5 \pm 2,54^\#$	$8,01 \pm 0,90^{*\#}$
Вязкость крови (200), мПа · с	$4,97 \pm 0,34$	$5,33 \pm 2,31$	$5,42 \pm 0,73$	$4,16 \pm 0,25^{*\#}$
Удельная вязкость (10), мПа · с	$10,8 \pm 1,16$	$7,15 \pm 2,27^*$	$13,0 \pm 2,33^{*\#}$	$9,37 \pm 0,59^{*\#}$
Удельная вязкость (200), мПа · с	$5,44 \pm 0,46$	$5,75 \pm 2,14$	$6,16 \pm 0,56^{*\#}$	$4,88 \pm 0,23^{*\#}$
Относительная вязкость (10), отн. ед.	$6,44 \pm 1,04$	$4,09 \pm 1,28^*$	$6,66 \pm 1,44^\#$	$5,60 \pm 0,70^*$
Относительная вязкость (200), отн. ед.	$3,24 \pm 0,37$	$3,35 \pm 1,43$	$3,15 \pm 0,44$	$2,90 \pm 0,22^*$
Агрегация M(5), отн. ед.	$1,46 \pm 0,89$	$2,58 \pm 1,22^*$	$4,30 \pm 1,62^{*\#}$	$1,51 \pm 0,72^\#$
Агрегация M(10), отн. ед.	$3,53 \pm 2,22$	$7,21 \pm 3,85^*$	$12,4 \pm 5,71^{*\#}$	$4,69 \pm 3,88^\#$
Индекс ригидности, отн. ед.	$65,5 \pm 12,7$	$42,5 \pm 12,8^*$	$49,2 \pm 14,5^*$	$46,2 \pm 4,55^*$
Индекс эффективности доставки кислорода в ткани, отн. ед.	$7,42 \pm 0,67$	$7,80 \pm 2,29$	$6,46 \pm 0,51^*$	$8,22 \pm 0,39^{*\#}$

* Достоверное отличие от контрольных значений ($p < 0,05$);

достоверное отличие от предыдущего срока наблюдения ($p < 0,05$).

2 мг/кг наблюдаются выраженные изменения гемореологических показателей.

Через 1 ч после введения адреналина вязкость крови, относительная и удельная вязкость уменьшаются на низких скоростях сдвига без существенных изменений вязкости плазмы (таблица). Таким образом, в первый час эксперимента под влиянием адреналина улучшается микроциркуляция крови, что является саногенетическим механизмом в условиях повышенной потребности миокарда в кислороде.

При анализе агрегации эритроцитов выявлено, что через 1 ч после введения адреналина показатели М(5), М(10), М1(10) значительно возрастают (таблица). Агрегация эритроцитов зависит как от вязкости плазмы, так и от свойств самих эритроцитов. Как мы видим из предыдущих результатов, вязкость плазмы существенно не меняется, поэтому, второй фактор в данном случае будет определяющим. Повышенный уровень адреналина приводит к ингибированию Na^+ , K^+ -АТФ-азы [5], а, следовательно, к накоплению кальция в цитозоле эритроцита, меняющего характер межмолекулярных взаимодействий. Также установлено, что адреналин модифицирует состав электрофоретических полос эритроцитарной мембраны. Активация адренорецепторов стимулирует протеинкиназы, которые, в свою очередь, вызывают фосфорилирование белков цитоскелета эритроцитов [11]. В результате происходит перестройка молекулярной архитектуры поверхностной мембраны эритроцита, приводящая к перераспределению эффективного отрицательного заряда [2]. Подобные изменения агрегации совпадают с данными, полученными в исследованиях *in vitro* при инкубации эритроцитов с адреналином, они происходят преимущественно за счет активации альфа-адренорецепторов [8].

В то же время выявлено снижение индекса ригидности, то есть увеличение деформируемости эритроцитов (таблица). Изменение этого показателя также совпадает с данными, полученными в исследованиях *in vitro* при инкубации эритроцитов с адреналином и бета-адреномиметиками. Бета-адренорецепторы эритроцитов крови сопряжены с Gs-белками, которые активируют фермент — аденилатциклазу [16]. При повышении продукции цАМФ происходит, вероятно, положительные изменения микрореологических свойств эритроцитов и повышение их текучести [14]. Увеличение деформируемости, с нашей точки зрения, приводит к улучшению пассажа красных клеток крови в микрососудах.

Газотранспортный потенциал эритроцитов через 1 ч после введения адреналина находится на уровне контрольных значений, так как вязкость крови при высоких скоростях сдвига достоверно не меняется (таблица). Подобные изменения являются еще одним саногенетическим механизмом, препятствующим усилению ишемии миокарда при гиперкатехоламинемии.

Через 24 ч после введения адреналина вязкость плазмы повышается по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (таблица). Несмотря на снижение концентрации экзогенного адреналина, происходит активация эндогенных стресс-реализующих механизмов, включе-

ние симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Повышение вязкости плазмы может быть связано с изменением ее белкового состава за счет увеличения концентрации фибриногена, α_2 -макроглобулина, α_1 -антитрипсина и других белков с большой молекулярной массой [1]. В этот период наблюдения, когда в сердце возникают ишемические повреждения, изменения вязкости будут являться патогенетическими, проводящими к ухудшению коронарного кровотока.

Также в этот период наблюдения растет удельная вязкость крови на низких и высоких скоростях сдвига даже по сравнению с контрольными значениями (таблица). Увеличение удельной вязкости крови при незначительном изменении показателя гематокрита свидетельствует о ведущей роли гиперпротеинемии и микрореологических нарушений, что и подтверждается изменениями агрегации.

Через 24 ч после введения адреналина изменения агрегации эритроцитов еще более выражены, что можно объяснить суммацией нарушений как в самих эритроцитах, так и в плазме (таблица). Деформируемость эритроцитов остается ниже контрольных значений, то есть активация их бета-рецепторов сохраняется.

Следствием изменений реологических функций эритроцитов через 24 ч после введения адреналина является снижение газотранспортного потенциала крови, что подтверждается достоверным отличием индекса эффективности доставки кислорода к тканям (таблица). Получается, что увеличение вязкости крови и агрегации эритроцитов в конечном итоге отражается на эффективности транспорта кислорода, транскапиллярной диффузии и перфузии крови в микроциркуляторном русле, что усугубляет катехоламиновое повреждение миокарда.

Через 72 ч после введения адреналина отмечается достоверное снижение вязкости плазмы, вязкости крови, удельной и относительной вязкости на низких и высоких скоростях сдвига (таблица). Снижение вязкости плазмы происходит, вероятно, за счет нормализации ее белкового состава. В то же время стресс-реализующие гормоны (катехоламины, глюкокортикоиды) снижают содержание триацилглицеридов крови за счет активации фермента липопротеидлипазы, что также оказывает влияние на этот показатель [6]. К снижению вязкости плазмы также может приводить уменьшение гематокрита, который является признаком гемодилюции.

При анализе агрегации эритроцитов выявлено, что значения возвращаются к контрольному уровню, однако деформируемость эритроцитов остается выше контрольных значений. Получается, что фактор вязкости, определяющий повышенную агрегацию эритроцитов на первые сутки, уменьшает свое действие, нарушения межклеточных взаимодействий снижаются. Также через 72 ч возрастает эффективность транспорта кислорода в связи с улучшением макро- и микрореологических показателей крови. Вероятно, в этот период наблюдения активация работы стресс-лимитирующих механизмов

выходит на первый план, концентрация катехоламинов и глюкокортикоидов снижается.

Таким образом, возникающие реологические изменения в первый час эксперимента носят преимущественно саногенетический характер, что является целесообразным в условиях чрезмерной активации работы сердца. Через 24 ч после введения адреналина нарушения реологических показателей могут способствовать возникновению осложнений, а также прогностически неблагоприятному течению инфаркта миокарда, так как приводят к ухудшению кровообращения миокарда, формируя порочный круг. Через 72 ч при нормализации уровня катехоламинов — ликвидации основного звена патогенеза возникающих нарушений — реологические показатели крови улучшаются.

Выявленные закономерности имеют практическое значение при разработке патогенетически обоснованного комплекса лечебных мероприятий для фармакологической коррекции состояний, сопровождающихся гиперкатехоламинемией.

ВЫВОДЫ

1. Через 1 ч после однократного введения крысам адреналина гидрохлорида подкожно в дозе 2 мг/кг отмечается уменьшение вязкости крови на низких скоростях сдвига (макрореологического показателя) на 34 %, $p = 0,002$, увеличение агрегации эритроцитов в среднем на 90 %, $p = 0,03$ и их деформируемости на 35 %, $p = 0,002$ (микрореологические показатели).

2. Через 24 ч после введения адреналина наблюдается повышение вязкости крови и плазмы (макрореологических параметров) на 76 и 9 % соответственно, $p < 0,05$, а также агрегации эритроцитов и их деформируемости (микрореологических показателей) на 73 и 25 %, $p < 0,05$.

3. Через 72 ч после введения адреналина отмечается снижение вязкости крови и плазмы (макрореологиче-

ских параметров) в среднем на 28 %, $p = 0,001$, агрегация эритроцитов возвращается к контрольным значениям, деформируемость остается повышенной на 30 %, $p = 0,0006$ (микрореологические показатели).

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Горячева, В. Н. Морозов, Е. М. Пальцева и др., *Вестник новых мед. технол.*, **XIV**(3), 32 – 35 (2007).
2. В. Н. Крылов, А. В. Дерюгина, С. Н. Плескова, *Совр. технол. в мед.*, **4**, 23 – 26 (2010).
3. Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, Л. Б. Корякина, Н. В. Бабушкина, *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*, **86**(4), 236 – 240 (2012).
4. М. И. Малкова, О. В. Булашова, Е. В. Хазова, *Практ. мед.*, **71**(3), 20 – 23 (2013).
5. М. Н. Маслова, *Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова*, **11**(91), 1320 – 1328 (2005).
6. А. А. Мельников, А. Д. Викулов, *Физиол. человека*, **30**(5), 110 – 120 (2004).
7. А. А. Михайлис, *Архив внутренней мед.*, **14**(6), 71 – 76 (2013).
8. А. В. Муравьев, И. А. Тихомирова, А. А. Ахапкина и др., *Рос. ж. биомеханики*, **20**(1), 28 – 36 (2016).
9. А. В. Муравьев, С. В. Чепоров, *Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови)*, Изд-во ЯГПУ, Ярославль (2009).
10. О. А. Пахрова, М. В. Кудряшова, М. Р. Гринева, И. Е. Мишина, *Клин. и лаб. диагностика*, **60**(2), 42 – 46 (2015).
11. С. А. Сторожок, А. Г. Ссаников, А. В. Белкин, *Научный вестник ТГУ*, **3**, 3 – 10 (2009).
12. Н. А. Сысолятина, В. В. Артамонова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **61**(1), 70 – 73 (1998).
13. Л. Д. Хидирова, *Рациональная фармакотер. в кардиол.*, **6**(2), 216 – 219 (2010).
14. E. Ling, Y. N. Danilov, C. M. Cohen, *J. Biol. Chem.*, **263**(5), 2209 – 2216 (1988).
15. H. Schmid-Schonbein, H. Malotta, F. Striesow, *Tijdschr NVKC*, **15**, 88 – 97 (1990).
16. R. P. Xiao, P. Avdonin, Y. Y. Zhou, et al., *Circulation Res.*, **84**(1), 43 – 52 (1999).

Поступила 17.09.18

THE EFFECT OF ADRENALINE ON THE RHEOLOGICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD

A. S. Ivanova¹, O. A. Pakhrova², V. V. Krishtop², and O. S. Lencher²

¹ Department of Pathophysiology and Immunology, Ivanovo State Medical Academy Sheremetevskii prosp. 8, Ivanovo, 153012 Russia

² Medical Research Center, Ivanovo State Medical Academy, Sheremetevskii prosp. 8, Ivanovo, 153012 Russia

This work was aimed at studying the dynamics of macro- and microrheological parameters of bloodflow after acute hypercatecholaminemia in rats as modeled by a single administration of 0.1% solution of pharmacopoeial adrenaline (epinephrine) hydrochloride subcutaneously at a dose of 2 mg/kg. The blood rheology parameters were evaluated 1, 24, and 72 h after the introduction of adrenaline. The viscosity characteristics of whole blood and plasma were measured and the aggregation and deformability of erythrocytes were evaluated. In 1 h after the introduction of adrenaline the blood viscosity decreased at low shear rates by 34% ($p = 0.002$) without significant changes in plasma viscosity, and the erythrocyte aggregation increased on the average by 90% ($p = 0.03$) and their deformability, by 35% ($p = 0.002$). After 24 h, the blood viscosity increased by 76% ($p = 0.0004$), the plasma viscosity – by 9% ($p = 0.03$), erythrocyte aggregation – by 73%, ($p = 0.04$), and deformability – by 25% ($p = 0.02$). After 72 h, there was a decrease in plasma viscosity and blood viscosity on the average by 28% ($p = 0.001$), while the erythrocyte aggregation returned to the control level and the deformability remained increased by 30% ($p = 0.0006$).

Keywords: adrenaline; rheology; blood viscosity; erythrocyte aggregation; erythrocyte deformability; rats.