

## УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Липунова Е.А., Скоркина М.Ю.  
Белгородский государственный университет

В настоящее время всё чаще возникают вопросы, связанные с выживанием организмов в экстремальных условиях. В связи с этим актуальным становится изучение неспецифических реакций живой клетки на воздействие повреждающих агентов и анализ условий, способствующих устойчивости клеток в неблагоприятных условиях среды. В действительности неспецифические реакции в конечном итоге сводятся к изменениям в мембранных образованиях клетки.

Для растений, устойчивых к действию стрессоров, показана большая, по сравнению с неустойчивыми видами, структурная и функциональная стабильность клеточных мембран (Т.В. Чиркова, 1997). Относительно животной клетки имеются данные об изменении ее свойств при адапционном синдроме, проявляемых в увеличении светорассеяния ядра и цитоплазмы, ее вязкости, коагуляции, способности связывать красители, повышении содержания свободных радикалов (А.Д. Браун, 1987).

Клетка способна отвечать увеличением функциональной активности на действие различного характера по своей природе раздражителей, за счёт наличия белковых «анализаторов» – рецепторов, не утративших в процессе эволюции способность к конформационным сдвигам при различных воздействиях (А.Д. Браун, В.И. Стабровская, 1974).

Одним из проявлений неспецифических реакций клетки является выход веществ, сопровождающийся повышенной мембранной проницаемостью и сорбционной способностью. Важную роль в механизме транспорта веществ и проницаемости играют липидные компоненты (Л.И. Апуховская, В.П. Вендет, 1979).

В качестве объекта исследования мы выбрали эритроцит птиц, содержащий ядро и энергично дышащий. Условия его функционирова-

ния, т.е. отделённость от камбиальной эритропоэтической ткани, делают клетку идеальной для изучения реакций на различные повреждения внутри сосудистого русла.

В настоящей работе основной задачей явилось определение степени повреждения эритроцитарных мембран и особенностей адаптивных перестроек в них в условиях хронического стресса.

### Материалы и методы

Опыты проведены на 12 петухах кросса «Иза Браун», содержащихся в условиях вивария БелГУ. Птицы были разбиты на две группы – опытную и контрольную, по шесть в каждой.

В качестве модели стресса был выбран зоосоциальный стресс – групповое содержание животных с плотностью посадки 567 см<sup>2</sup> на голову. Контролем служили птицы, содержащиеся изолированно, по одной в клетке. Длительность опыта составила 32 суток. Кровь для анализа брали через 48 ч, на 4, 6, 10, 18, 26 и 32 сутки непрерывного стрессирования.

Проницаемость эритроцитарных мембран (ПЭМ) определяли по интенсивности мочевинового гемолиза (Д. С. Додхоев, 1998; В.А. Михайлович с соавт., 1993). Сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) оценивали по степени сорбции мембраной метиленового синего (Д. С. Додхоев, 1998; А.А. Тогайбаев с соавт., 1988). Коррелятом повреждения мембран служил уровень внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ), определенный гемиглобинцианидным методом (О.Н. Савельев с соавт., 1990).

### Результаты исследования и их обсуждение

Через 48 ч после начала стрессирования ССЭ подопытной птицы оказалась выше контрольной на 17,58% ( $p < 0,01$ ; рис.1); ПЭМ – на 43,38 – 59,86% в различных концентрациях рабочего раствора мочевины.

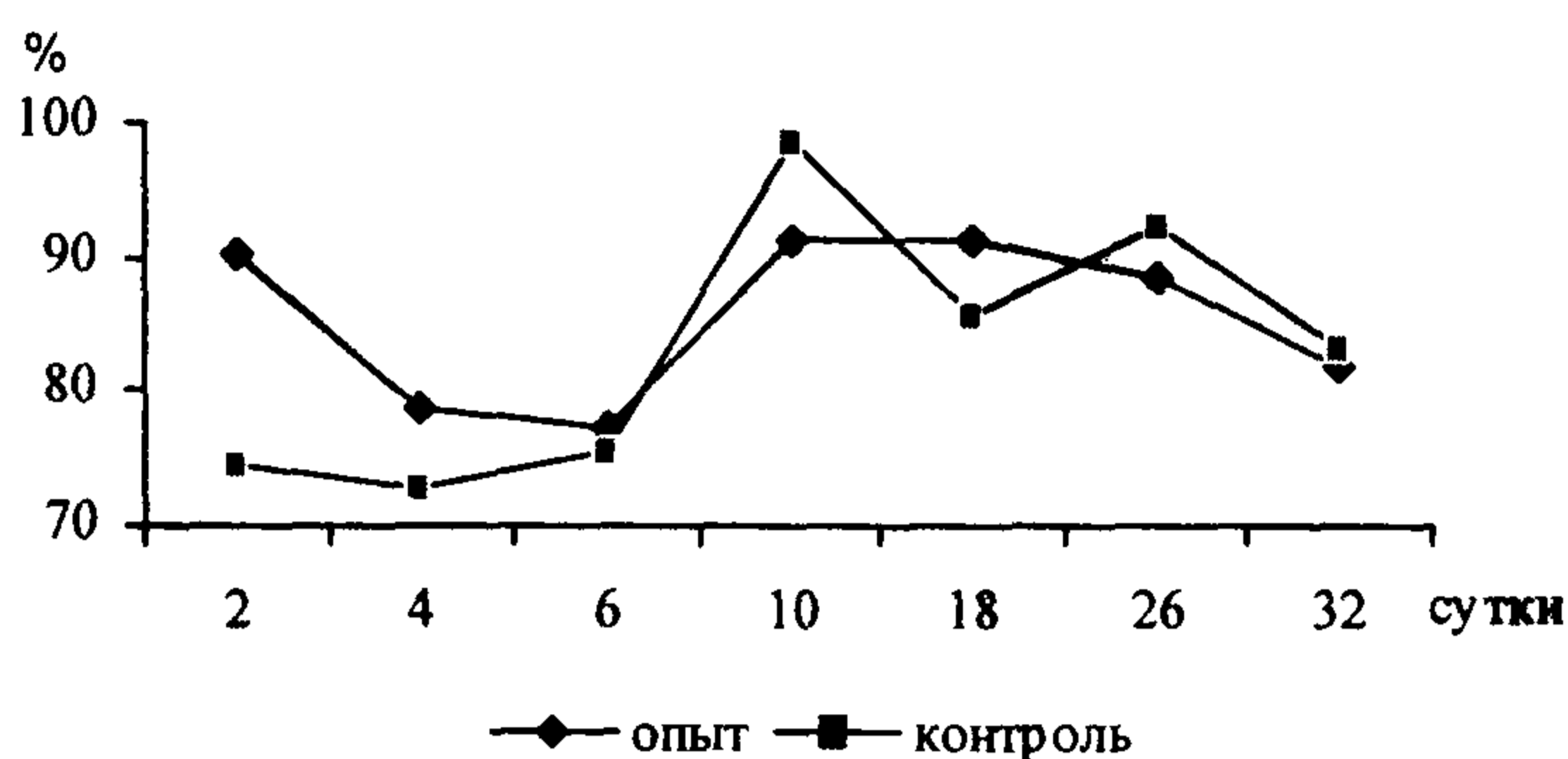


Рис. 1. Изменение сорбционной способности эритроцитов петухов при хроническом стрессе.

При повышенных значениях ПЭМ и ССЭ уровень ВЭГ в крови исследуемых групп птиц изменялся незначительно (рис. 2).

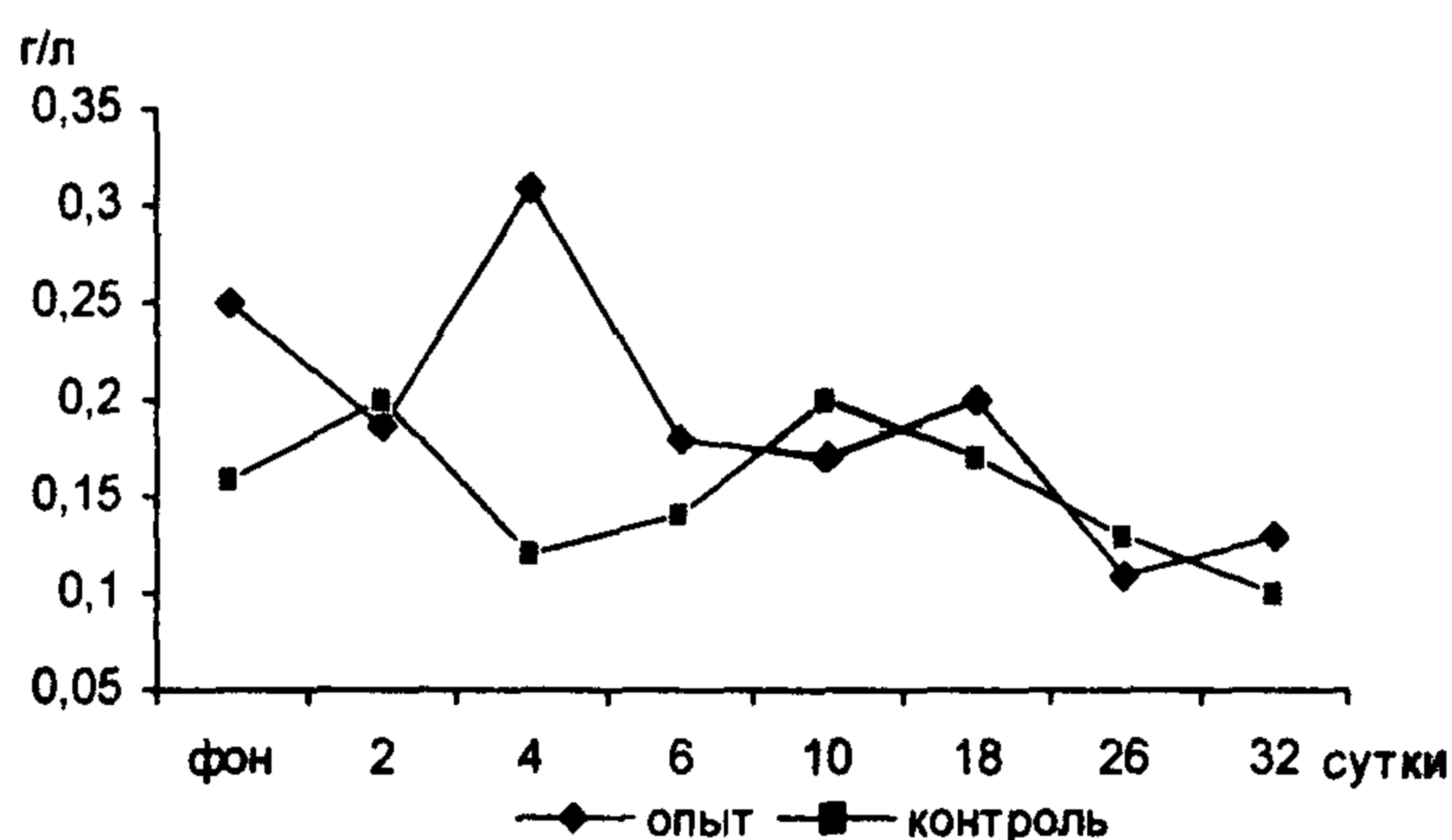


Рис. 2. Изменение уровня ВЭГ у петухов при действии хронического стресса

Увеличение ССЭ при повреждениях ряд исследователей объясняют нарушением целостности мембраны и связанным с ней увеличением ПЭМ (Bauer et al., 1975; Seglen, 1976; Smith et al., 1981).

Необычность ситуации заключается в том, что при повышенной проницаемости мембран не наблюдается массового выхода гемоглобина из клеток. Мы склонны рассматривать такое состояние как проявление компенсаторно-приспособительной реакции системы эритрона на повреждающее воздействие. Вероятно, в условиях повышенного кислородного запроса и усиления метаболических процессов происходит включение функциональных резервных механизмов, в частности, выход депонированных форм эритроцитов (старых), функционально неполноценных, за счёт повышенного содержания в них метгемоглобина (И.И. Гительзон, Н.В. Гомзякова, 1967).

Увеличение ПЭМ при старении клетки возможно связано с генерализованным характером морфологических и функциональных нарушений со стороны мембран, возникающих в ответ на изменение молекулы гемоглобина (Lessin et al., 1972). Гемоглобин может взаимодействовать

с внутренней поверхностью мембраны, интегрально входящий в состав плазматомембранного комплекса, оказывая влияние на ряд ферментов и белков цитоскелета (Lessin, 1973; Fisher et al., 1975).

К 4 суткам стрессирования у подопытной птицы существенно возрастают процессы внутрисосудистого гемолиза, что проявляется в росте, по сравнению с контролем, ВЭГ на 61,29% ( $p < 0,005$ , см. рис. 2), ССЭ – на 7,55 % ( $p > 0,1$ ); ПЭМ снижена на 42,15 – 91,86% (в различных концентрациях рабочего раствора). Увеличение сорбции красителя мы увязываем с денатурацией, под влиянием стрессового воздействия, белков мембран (у птиц, как хорошо известно, белки составляют 89% от общего остатка стромы (H. Williams et al., 1941), а, следовательно, и разворачиванием их нативной структуры, что приводит к освобождению ряда реактивных центров, увеличению химической активности белка и его сорбционных свойств (А.Д. Браун, 1949).

Снижение ПЭМ осуществляется, возможно, вследствие жёсткости мембран молодой эритроцитарной популяции и элиминации из кровяного русла старых форм. Последние продуктами сво-

его распада стимулируют процессы ауторегуляции эритропоэза. Жёсткость мембран обусловлена изменением их биохимического состава. Показано, что ПЭМ и осмотическая стойкость эритроцитов зависят от количественного содержания в мембране холестерина, который влияет на текучесть, пластичность мембран и определяет реологические свойства эритроцита (M. Saroj, D. Kritchevsky, 1975). При анализе данных мы учитывали особенности биохимического состава мембран эритроцитов птиц, в них, в отличие от мембран эритроцитов млекопитающих животных, в условиях нормального эритропоэза на долю липоидов приходится 4% от общего остатка стромы, а в общем остатке липоидов фосфолипиды составляют 83%, свободный холестерин – 14% (H. Williams et al., 1941). Избыток холестерина снижает трансмембранный перенос одновалентных ионов и понижает тем самым ПЭМ (В.Г. Леонова, 1987).

На 6 сутки непрерывного стрессирования уровень ВЭГ, ПЭМ и ССЭ повышены соответственно на 22,2 ( $p>0,1$ ), 73,47 – 11,12% (в различных концентрациях рабочего раствора) и 2,22% ( $p>0,1$ ), что возможно, обусловлено усилением процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в условиях избытка стресс-гормонов, циркулирующих в кровотоке. Окисление катехоламинов и образование промежуточных радикальных форм, взаимодействующих с мембранами, приводят к образованию в них кластеров – дополнительных каналов проницаемости (В.А. Барабой, И.И. Брехман, 1992).

В последующие дни стрессирования птиц изменения ВЭГ, ССЭ и ПЭМ носили фазовый характер. Такие колебания, вероятно, связаны с изменением функциональной активности клеток и продукцией качественно новых эритроцитов в условиях стресс-эритропоэза. Так на 26 сутки ПЭМ подопытной птицы практически не отличалась от контроля, а ССЭ и ВЭГ были понижены на 3,99 и 15,38% ( $p>0,1$ ) соответственно. К концу опыта (на 32-е сутки) значения ССЭ и ПЭМ опытной и контрольной групп птиц отличались незначительно; значения ВЭГ были выше у подопытных животных (на 23,08%;  $p<0,02$ ).

#### Заключение

Ранними проявлениями неспецифических реакций эритроцитов являются изменение проницаемости мембран и их сорбционной способности, что можно рассматривать как начало разворачивающихся процессов адаптации. В условиях хронического стресса наиболее существенные изменения наблюдаются в первые 6 суток и выражается в росте ССЭ, повышении ПЭМ и ВЭГ. В последующие сутки стрессирования изменения этих параметров носят фазовый харак-

тер, что, вероятно, обусловлено волнообразными колебаниями возбудимости центральных нервных структур (Т.А. Погребняк, Е.А. Липунова, 2001), концентрации катехоламинов и глюкокортикоидов в крови. (А.Х. Гаркави, 1990), продукты окисления которых являются мощными прооксидантами, вызывающими конформационные изменения в мембранах и повышение их проницаемости (В.А. Барабой с соавт., 1992). Главными причинами нарушения мембранной проницаемости являются активация ПОЛ и изменение биохимического состава мембран.

#### Литература

1. Апуховская Л.И. Стерины и свойства мембран эритроцитов/ Л.И. Апуховская, В.П. Вендт, С.П. Ивашкевич// Биохимия животных и человека. – Киев: Наукова думка, 1979. – С.47-56.
2. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс/ В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотип, Ю.Б. Кудряшов. – СПб.: Наука, 1992. – 148 с.
3. Браун А.Д. Взаимодействие нативных и денатурированных белков с красителями. Автореф. дис. д-ра биол. наук. Л., 1949. – 22 с.
4. Браун А.Д. Аденилатциклазная система клетки/ А.Д. Браун, В.И. Стабровская// Цитология. – 1974. – Т. 16, № 12. – С. 1447-1458.
5. Браун А.Д. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы/ А.Д. Браун, Т.П. Моженок. – Л.: Наука, 1987. – 232 с.
6. Гаркави А.Х. Адаптивные реакции и резистентность организма / А.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета, 1990. – 224 с.
7. Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. – Новосибирск: Наука, 1987. – 240 с.
8. Гительзон И.И. Накопление метгемоглобина и возраст эритроцитов/ И.И. Гительзон, Н.В. Гомзякова// Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. – М.: Наука, 1967. – С. 132-134.
9. Додхоев Д.С. Особенности ПЭМ и ССЭ у здоровых доношенных новорождённых детей и их матерей// Физиология человека. – 1998. – № 2. – С. 135-137.
10. Михайлович В.А. Проницаемость эритроцитарных мембран и сорбционная способность эритроцитов – оптимальные критерии тяжести эндогенной интоксикации/ В.А. Михайлович, В.Е. Марусанов, А.В. Бичук, И.А. Доманская// Анастезиология и реанимация. – 1993. – № 5. – С. 66-69.
11. Погребняк Т.А. Биоэлектрическая активность различных структур мозга птиц при их стрессировании /Т.А. Погребняк, Е.А. Липунова // Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях. Сборник статей.– Томск, 2001.– С. 158-160.
12. Савельев О.Н. Определение свободного гемоглобина плазмы гемиглобинцианидным методом/ О.Н. Савельев, В.П. Сухоруков, А.В. Киселёва, Г.А. Королёва// Лабораторное дело. – 1990. – № 9. – С. 45-47.
13. Тогайбаев А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации/ А.А. Тогайбаев, Л.В. Кургуз-

кин// Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.

14. Bauer H. Criteria of viability of isolated liver cells/ H. Bauer, S. Kasperck, E Pfaff// Hoppe-Seyler's Ztschr. Physiol. Chem. – 1975. Bd 356. – S. 827-838.

15. Fisher S. The binding of hemoglobin to membranes of normal and sickle erythrocytes/ S. Fisher, R.L. Nagerl, R.M. Bookchin, E.F. Rloth, T. Tellez-Nagel// Biochim. Biophys. Acta. – 1975. V. 375. – P. 422-433.

16. Lessin L.C. Membrane ultrastructure of normal, sickled and heinzbody erythrocytes by freeze-etching//In. Red cell chape. Eds. MM. Bessis, R.T. Weed, P.F. Leblond. – N. Y.-Heidelberg-Berlin, 1973. – P. 152-167.

17. Lessin L. S Ultrastructure of the normal and hemoglobinopathic red blood cell membrane. Freeze-etching and stereoscan electron microscopic studies/ L.S

Lessin, W.N Jensen, P. Klug// Arch. Int. Med. – 1972. V. 129. – P. 124-137.

18. Saroj M. Cholesterol exchange between the red blood cells and plasma of young and old rats/ M. Saroj, D. Ktitchesky// Man Ageing and Dev. – 1975. V. 4. – № 2. – P. 137-145.

19. Seglen P.O. Preparation of isolated rat liver cells// Meth. Cell. Biol. – 1976. Vol. – № 13. – P. 29-84.

20. Smith. M. Toxic injure to isolated hepatocytes is not dependent on extracellular calcium/ M. Smith, H. Thor, S. Orrenius// Science. – 1981. Vol. – № 213. – P. 1257-1259.

21. Williams H. Chemical structure of the red blood cell/ H. Williams, B. Ericson, J. Macy// Quart. Rev. Biol. – 1941. – № 16. – P. 80-89.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИМИЗАЦИИ СТРУКТУРЫ ИСКУССТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ: НАСЕКОМЫХ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММ РАЗВЕДЕНИЯ

Т.Ю. Маркина, А.З. Злотин

Харьковский государственный педагогический университет им. Г.С. Сковороды  
г. Харьков, Украина

Возрастающая антропогенная нагрузка на экосистемы планеты приводит к сокращению численности и полному исчезновению многих охраняемых видов насекомых. Разработка научных основ управления численностью насекомых базируется на знаниях механизмов поддержания популяционного гомеостаза.

Благодаря успехам популяционной экологии и генетики последних лет стали понятны основные механизмы динамики экологической и генетической структур популяций насекомых (Алтухов, 1983; Яблоков, 1987; Чернышев, 1996). По нашему мнению, этот факт является надежной базой, позволяющей разрабатывать биологические основы оптимизации структур искусственных популяций насекомых с целью эффективного управления культурами и параметрами их численности в условиях техноценоза в соответствии с целями программ разведения (Злотин, 1998).

В настоящее время, в технической энтомологии, широко используются различные приемы оптимизации, приводящие к повышению жизнеспособности и продуктивности культур насекомых. Основную массу приемов принято классифицировать по двум направлениям (Злотин, 1981):

- приемы оптимизации культивирования (создания благоприятных условий выращивания насекомых, улучшения качества корма, проведение мер профилактики заболеваний);

- приемы селекции, направленные на получение предпочитаемого генотипа.

Дальнейший прогресс в этом направлении даже в случае разработки новых отдельных приемов не решает проблемы. По нашему мнению выход может быть иным.

Современные популяционные представления позволяют разработать биологические основы оптимизации структуры популяции насекомых в направлении получения особей, обладающих генотипом, максимально отвечающим целям конкретных программ разведения. Именно в таких ситуациях может, значительно возрасти эффективность использования разработанных ранее методов оптимизации (Маркина и др., 2001).

Современные программы разведения насекомых делятся на два типа (Злотин, 1989; Тамарина, 1990):

- программы полевого использования насекомых для решения задач биометода, а также разведения редких и исчезающих видов;

- программы, предусматривающие разведение насекомых продуцентов сырья, продуктов питания, биологически активных препаратов, видов-биоиндикаторов, насекомых, рекультивирующих отходы.

Безусловно, оптимальным при реализации всех программ разведения насекомых было бы создание генотипа максимально отвечающего целям программ разведения. В этой связи мы предлагаем систему приемов оптимизации основных популяционных структур насекомых.

В настоящее время выделяют экологическую и генетическую структуры популяции. Для