

УДК 612.018:612.014

О.А.Никифорова

Дніпропетровський національний університет залізничного транспорту ім. ак. В. Лазаряна

ВПЛИВ СТРЕС - ФАКТОРІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЩУРІВ

Досліджено вплив аліментарних стрес-факторів NaCl та холестерина на стан осмотичної резистентності еритроцитів щурів. Результати роботи демонстрували значніші відхилення показників осмотичної резистентності еритроцитів тварин саме за умов стрес-навантаження NaCl що суттєво погіршувало стабільність еритроїдної клітини. За таких умов виникали метаболічні наслідки, як для серцево-судинної системи, так і для організму в цілому.

О.А.Никифорова

ВОЗДЕЙСТВИЕ СТРЕСС - ФАКТОРОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ

Исследовано влияние алиментарных стресс-факторов NaCl и холестерина на состояние осмотической резистентности эритроцитов крыс. Результаты работы демонстрировали значительные отклонения показателей осмотической резистентности эритроцитов животных именно в условиях стресс-нагрузки NaCl что существенно ухудшало стабильность эритроидного клетки. При таких условиях возникали метаболические последствия, как для сердечно-сосудистой системы, так и для организма в целом.

О. А. Nykyfova

Dnipropetrovsk National University of Railway Transport named V.Lazaryana

EFFECT OF STRESSFUL CONDITIONS IN THE FUNCTIONAL STATE OF BLOOD ERITROID CELL

The influence of nutritional stress factors osmotic resistance of erythrocytes in rats. The results showed more significant deviation indicators osmotic resistance of erythrocytes animal is under stress load of NaCl, compared with the data of alimentary cholesterol loading, which significantly aggravated the stability of erythroid cells. Under such conditions there metabolic consequences, both for the cardiovascular system and for the body as a whole.

Вступ

Осмотична резистентність еритроцитів (ОРЕ) – безпосередній показник стабільності еритроїдної клітини та один з маркерів багатьох патологічних станів організму в цілому [1; 11]. ОРЕ регулюється комплексом змін як в електролітному складі плазми, так і в структурі бішару мембран еритроцитів.

¹© О.А.Никифорова, 2011

За даними деяких авторів [3; 4; 5] у більшості видів тварин та людини початок гемолізу відмічається при концентрації NaCl 0,5 – 0,6 %, повний гемоліз настає при 0,3-0,4%. Відмінності рівней OPE від загальноприйнятих у тварин різних видів свідчить про цілий ряд біохімічних особливостей цих клітин, пов'язаних із забезпеченням їхньої стійкості. Доцільно було б чекати, що різна гемолітична стійкість еритроцитів тварин буде корелювати з інтенсивністю виділення ендogenous окису вуглецю, що утворюється в процесі катаболізму гемоглобіну. А так як міжвидові особливості гемолітичної стійкості еритроцитів корелюють з рівнем еритроцитів в крові, то, очевидно і інтенсивність виділення ендogenous окису вуглецю буде пов'язана з числом червоних кров'яних клітин у різних видів тварин.

З одного боку, NaCl та холестерин - важливі компоненти які необхідні для нормального функціонування клітин і організму в цілому. З іншого боку, надмірне надходження них з їжею викликає зміни біохімічних властивостей клітинних мембран і зсув водно-сольового балансу [1; 2]. Одним з найважливіших показників стану еритроцитарних мембран є осмотична резистентність (OPE) – еритроцитарна стійкість до кислотного гемолізу. За цим показником, а також за кількістю гемоглобіну та еритроцитів можна судити про функціонування клітин червоної крові. Деякі патологічні стани можуть супроводжуватись зниженням OPE, тобто – розвитком гемолізу червонокрвців [5; 12] і, навпаки, корекція порушень може бути пов'язана з відновленням OPE.

Дана робота присвячена визначенню стійкості еритроцитів до дії аліментарних стрес-факторів (ХС та NaCl).

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводилися на щурах-самцях вагою 120 – 125 г. Тварини були поділені на дві групи. До першої групи – контрольної – увійшло 58 тварин.

У тварин другої групи групи (n=56) моделювали стрес шляхом щоденного додавання до їжі холестерину (0,5 г/кг маси тіла) і солі жовчних кислот (100 мг/кг маси тіла). Використовування ХС ґрунтувалося на тому, що він вважається попередником метаболічних зсувів в організмі тварин, які мають місце в синтезі гормонів, і являється одним з факторів розвитку різноманітних патологій серцево – судинної системи. Солі жовчних кислот є самими сильними стимуляторами секреції жовчі, що сприяє емульгації жирів та їх всмоктуванню [6; 10; 11].

У тварин третьої групи (n=76) моделювали стрес шляхом додавання аліментарного фактора – NaCl – 0,2 г/кг. Вибір цього чинника навантаження був зумовлений тим, що поварена сіль є ініціатором тих метаболічних зсувів в організмі тварин, які спричиняють зміни в синтезі гормонів та лежать в основі адаптаційних реакцій організму. У воді тварин не обмежували [10].

Експеримент тривав 21 тиждень з реєстрацією результатів на 3, 15 та 21 тиждні. Тваринам в ході експерименту здійснювали декапітацію і проводили забір крові. Для того, щоб запобігти згортанню крові, зібраної для дослідження осмотичної резистентності еритроцитів, до пробірки додавали одну – дві краплі гепарину. Далі здійснювали кількісне визначення ступеню гемолізу еритроцитів у забуферних розчинах хлориду натрію. В якості речовини, що гемолізує користувалися розчином хлористого натрію, котрий повинен бути досить високої якості. Отримані результати в кожній групі щурів оброблялись статистично методом парних порівнянь, проводили

кореляційний аналіз між концентрацією холестерину та осмотичною резистентністю еритроцитів.

Результати та їх обговорення

У тварин контрольної групи впродовж всього експерименту, тривалістю 21 тиждень, повний гемоліз еритроцитів відмічався при концентрації NaCl 0,3-0,4%. Отримані значення знаходилися в межах норми для даного виду і статі тварин [9].

Результатом 3-х тижневого холестеринового стресу було вірогідне зниження OPE (рис.1). У подальшому (6-9 тижднів) величини стійкості мембран клітин червоної крові незначно коливалися як у бік зменшення, так і у бік збільшення відносно контрольних значень. Подібні зміни можуть бути наслідком адаптивної перебудови ліпідного складу еритроцитів [6; 7]. Встановлено кореляційний зв'язок ($r = 0,77$, $p < 0,05$) між показниками загального холестерину і OPE у тварин цієї групи.

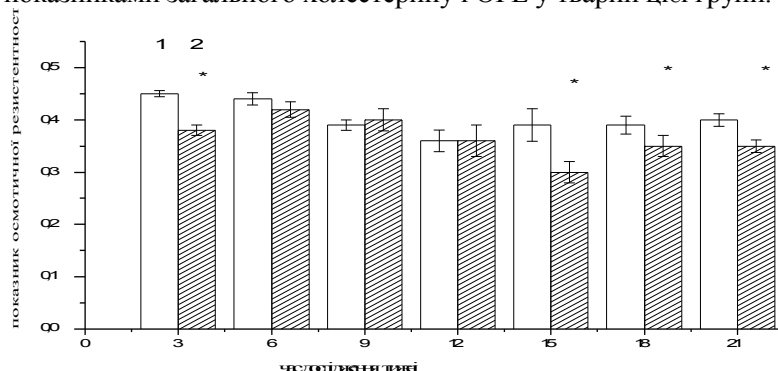


Рис.1. Зміни осмотичної резистентності еритроцитів тварин 1 і 2 груп

Примітка: * – вірогідні зміни значень осмотичної резистентності по відношенню до значень контрольної групи тварин ($P < 0,05$).

На 12-15 тижнях експерименту відсоток гемолізу еритроцитів був найбільший і вийшов за межі норми для тварин даного виду, особливо на 15-му тижні. Ми вважаємо, що результатом ліпотропного ефекту на цьому етапі є суттєві зміни біомембран, які відіграють важливу роль в активації стрес-систем організму, і які можуть урешті-решт перетворитись з тріади адаптивної відповіді в тріаду пошкодження клітин. Таке явище може спостерігатись за умов гіперхолестеринемії, коли її тривала дія ушкоджує, перш за все, дві основні функції ліпідного бішару мембран: бар'єрну і матричну. Два механізми лежать в основі порушення бар'єрної функції: іонофорний і електричного пробоя. Перший з них зумовлений появою в клітині речовин, що мають властивості іонофорів, здатних полегшувати дифузію іонів крізь мембрану завдяки утворенню комплексів іона й іонофора [3, 4]. Другий механізм реалізується внаслідок появи продуктів ПОЛ, які порушують електричні властивості бішару мембран [8; 13].

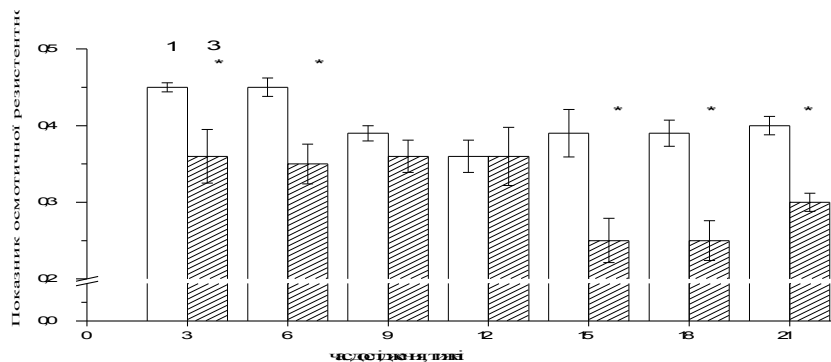


Рис.2. Зміни осмотичної резистентності еритроцитів тварин 1 і 3 груп.

Примітка: * – вірогідні зміни значень осмотичної резистентності по відношенню до контрольних показників ($P<0,05$).

Додавання тваринам до харчового раціону NaCl у кількості 0,2 г/кг призводило до миттєвого вірогідного зниження стійкості мембран еритроцитів яке утримувалося упродовж 12 тижнів експерименту. Отже, у даному випадку прослідковується взаємодія між стрес-системою та системою, що специфічно відповідає за адаптацію. Важлива роль у цьому процесі належить регуляції транспорту одновалентних іонів та осмотично зв'язаної води завдяки активації Na^+ , K^+ і Cl^- -каналів і роботі іонних переносників, які здійснюють K^+ , Cl^- – котранспорт, K^+ , 2Cl^- – котранспорт і Na^+/H^+ – обмін [3, 4, 11].

Через 15-18 тижнів експерименту спостерігали різке зниження значень осмотичної резистентності еритроцитів, які виходили за межі норми. Отже, організм піддослідних тварин не має можливості утримати набуту адаптацію яка проявлялася на 9 та 12 тижнях експерименту. Як показали наші попередні дослідження [8], за умов аліментарного навантаження як ХС, так і NaCl виникала гіперхолестеринемія. Відомо, що існує видова чутливість тварин до надлишку ХС. Наші результати переконливо свідчать про те, що у щурів легко відтворюється ГХС (вже на 3 тижні) шляхом надмірного споживання NaCl з їжею. Збільшення вмісту ХС при відтворенні останньої моделі значно перевищувало його вміст при аліментарному навантаженні ХС. Відмінність між двома видами ГХС полягало ще й в тому, що в організмі тварин, що отримували ХС-навантаження, зміни гомеостазу пов'язані з надходженням надлишкового холестерину їжі і включенням компенсаторних реакцій. А в групі з NaCl- навантаженням - із синтезом ендogenous холестерину у відповідь на присутність значної кількості NaCl, як потенційного фактора розвитку патологічних змін в організмі. Як відомо, гіперхолестеринемія значно активує процеси перекисного окиснення ліпідів не тільки у рідких речовинах (в сироватці крові), але й в мембранних структурах формених елементів [6; 12] і все це відбувається на фоні пригнічення ферментативного ланцюга антиоксидантного захисту. Отже за даних умов стресу у тварин 3-ї групи можливості адаптаційних систем, скоріш за все, стають вичерпними і виникають передумови для розвитку патологічних станів. Достовірних кореляційних зв'язків між рівнем холестерину та ОРЕ не встановлено.

Таким чином, NaCl-навантаження у більшому ступені впливає на стан клітинних мембран, ніж навантаження холестерином.

Висновки

Аналізуючи загальну картину, можна констатувати, що аліментарне навантаження NaCl викликало суттєве стійке зниження осмотичної резистентності еритроцитів (на 15-му тижні – у 1,56 рази порівняно з контролем), на відміну від аналогічних змін у тварин, що підлягали навантаженню ХС, які були менш суттєвими і більш відновними. Тобто тривале надходження в організм NaCl у високих концентраціях впливає на стан мембран еритроїдної клітини, що веде за собою розвиток патологічного стану еритроцита, неможливість ним виконувати свої функції і має патологічні наслідки не тільки на рівні системи крові, але й на рівні функціонування всієї серцево-судинної системи. Отже, ми припускаємо, що за умов тривалого аліментарного стресу відбувається збільшення вмісту загального ХС за рахунок утворення продуктів ПОЛ разом з накопиченням дієнових кон'югатів та фосфоліпідів в мембранах еритроцитів на фоні патологічних зсувів функціонування важливих мембранних ферментів, рецепторів, іонних каналів.

Бібліографічні посилання

1. **Геннис Р.** Биомембраны. Молекулярная структура и функция. -М. : Наука,1997. - С. 332-396.
2. **Денисов Ю. П.** Стероидные гормоны и регуляция функций митохондрий // Фармакология и токсикология. –1989. –Т.44. –Вып.4 – С.500– 506.
3. **Игнатова Е. Д., Корбин В. И.** Трансмембранные потенциалы миокарда при действии эсрадиола // Физиол. журн. –1999. – №5. –С. 680-682.
4. **Кан А. М.** Влияние половых стероидов на активность лизосомальных ферментов сердца // Проблемы эндокринологии. –2001. – М.1. –С. 53-54.
5. **Левина Л. И.** Сердце при эндокринных заболеваниях. –Л.: Медицина, –1998. –263с.
6. **Лопухин Ю. М.,** Холестериноз / Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А. – М. :Медицина, 1983. –352 с.
7. **Лукьянова Л. Д.** Действие некоторых стероидных гормонов на транспорт кальция и окислительный метаболизм митохондрий // БЭБиБ, –1994. –Т.118.- №12. – С.616-618.
8. **Никифорова О.А.,** Динаміка рівня кортизолу за умов гіперхолестеринемії різного генезу / Ляшенко В. П. // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – Вип.13. – Кн.3. – С.192 – 195
9. **Никонов В. В.** Стресс. Современный патофизиологический подход к лечению. – Харьков. : Консум, 2002. - 240 с.
10. **Панин Л. Е.** Биохимические механизмы стресса. –Новосибирск. :Наука,1983. –234 с.
11. Пат.43978 А Україна, 7 G09B23/28 Спосіб моделювання атеросклерозу/ **Ляшенко В. П., Лукашов С. М., Зорова Ж. В., Полігасва В. І.**; Заявлено 21.11.2000; Опубліковано 15.01.2002. Бюл.№1.
12. **Скулачев В. П.** Феноптоз: запрограммированная смерть организма // Биохимия. -1999. – Т.64, №12. - С. 1679-1688.Титов В. Н. Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот // Клинич. лаб. диагностика. - 2001. – N1. - С. 3-9.
13. **Ostor E.,** Euroaspire: survey conducted by the Europlan Society of Cardiology on Secondary prevention of coronary disease / Ostor E., Janosi A., Belatiny K. et. al. // Orv. Hetil. -1999. - Vol.140,N5. - P. 243-248.