

В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.О. Мороз

Вміст деяких компонентів сироватки крові щурів при гравітаційних перевантаженнях та за умов використання способів підвищення стійкості до їх дії

Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

Ключові слова: гіпергравітація, сироватка крові, щури, стійкість

У роботі представлено результати дослідження вмісту ТБК-активних продуктів, кальцію, фосфору, кислото та лужної фосфатази в сироватці крові 12-місячних щурів, що зазнавали впливу гравітаційних перевантажень протягом 10 та 30 днів із застосуванням різноманітних способів протиперевантажувального захисту: фізичного, парентерального введення глутаргину, їх комбінації та парентерального введення ліпофлавоу. Встановлено, що перевантаження практично не впливають на вміст кальцію, підвищують рівень фосфору та активність лужної фосфатази протягом усього експериментального періоду, знижуючи вміст кислото фосфатази і ТБК-активних продуктів на 10-му і підвищуючи на 30-му дні дослідження. Найбільш ефективним протекторним способом є парентеральне введення глутаргину.

Содержание некоторых компонентов сыворотки крови крыс при гравитационных перегрузках и при использовании способов повышения устойчивости к их действию

В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.А. Мороз

В работе представлены результаты исследования содержания ТБК-активных продуктов, кальция, фосфора, кислот и щелочной фосфатазы в сыворотке крови 12-месячных крыс подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок в течение 10 и 30 дней с применением различных способов противоперегрузочной защиты: физической, парентерального введения глутаргина, их комбинации и парентерального введения липофлавона. Установлено, что перегрузки практически не оказывают влияния на содержание кальция, повышают уровень фосфора и активность щелочной фосфатазы на протяжении всего экспериментального периода, снижая содержание кислот фосфатазы и ТБК-активных продуктов на 10-й и повышая на 30-й дни опыта. Наиболее эффективным протекторным способом является парентеральное введение глутаргина.

Ключевые слова: гипергравитация, сыворотка крови, крысы, устойчивость.

Патология. – 2009. – Т.6., №1. – С. 78-80

Content of some components of blood serum of rats exposed to hypergravity with use of methods to improve resistance to them

V.S. Pikalyuk, S.A. Kutya, G.A. Moroz

Current research is devoted to detection of TBA-active products, calcium, phosphorus, acid and alkaline phosphatases content in blood serum of 12-monthes-old rats exposed to hypergravity (10 or 30 days). Physical protection, parenteral introduction of glutargin and lipoflavon were used as methods to improve resistance to gravitational overloads. It is established that hypergravity has no effect on calcium content, increases phosphorus level and alkaline phosphatase activity both terms, reduces acid phosphatase and TBA-active products content after 10 days, and increases it after 30 days. Parenteral introduction of glutargin is most effective protection.

Key words: hypergravity, blood serum, rats, resistance.

Patologia. 2009; 6(1): 78-80

Нормальне функціонування організму забезпечується сталістю внутрішнього середовища. При цьому поряд із білками, нуклеїновими кислотами, ліпідами, вуглеводами важливу роль відіграють ферменти, мінеральні речовини, дефіцит або надлишок яких викликає різні патологічні стани.

Одними з найважливіших мінералів, необхідних для нормального функціонування організму є кальцій та фосфор. В організмі людини та тварин кальцій відіграє важливу роль в регуляції проникності мембран клітин, електрогенезі м'язової, нервової та залозистої тканин, синаптичних процесах, молекулярному механізмі м'язового скорочення, секреторних процесів як екзо-, так і ендокринних залоз. Іони кальцію грають суттєву роль в активації ферментних систем, що забезпечують згортання крові, та інших ферментативних процесах. Відхилення концентрації кальцію в крові та тканинах від норми призводить до розвитку не тільки функціональних, але й морфологічних порушень в діяльності багатьох органів та систем організму [1]. Фосфор входить до складу деяких вітамінів, коферментів, різних макроергічних сполук, є

структурним компонентом ДНК та РНК, що забезпечують синтез білка. Він бере участь в окиснювальному фосфорилуванні, в результаті чого утворюється АТФ, фосфорилуванні деяких вітамінів (тіаміну, піридоксину та інш.) Фосфор є також важливим компонентом забезпечення функціонування м'язової тканини, як скелетної, так і серцевої. Неорганічні фосфати входять до складу буферних систем плазми та тканинної рідини. Гліколіз, глікогенез, обмін жирів також відбуваються за участю фосфорної кислоти. Разом із кальцієм вони складають основу твердої речовини кісток, будучи компонентом мінеральної структури кісткової тканини – гідроксиапатиту і, взагалі, мінеральні компоненти кісткової тканини знаходяться в стані хімічної рівноваги з іонами кальцію та фосфору сироватки крові [1].

Важливу роль в обміні вуглеводів, нуклеотидів, фосфоліпідів, а також у формуванні кісткової тканини відіграють фосфатази – ферменти групи гідролаз, що каталізують реакцію розщеплення складноєфірних зв'язків в моноєфірах фосфорної кислоти. Біологічна роль лужної фосфатази до кінця не встановлена.

Вважається, що вона бере участь у позаклітинному розщепленні пірофосфату – білкового інгібітора відкладання фосфату кальцію. Окрім того, вона є плазматичним маркером активності остеобластів [2]. Кисла фосфатаза – фермент, що каталізує гідроліз ортофосфорних монофосфатів з відщепленням фосфатної групи та виявляє оптимальну активність у кислому середовищі. Висока активність кислоти фосфатази відмічається в макрофагах та остеокластах, що дозволяє розглядати її як маркер резорбції кісткової тканини [2]. Тому вивчення вмісту цих ферментів представляє суттєвий інтерес як показник стану обмінних процесів, а також співвідношення резорбції та новоутворення кісткової тканини.

ТБК-активні продукти (ТБК-АП) є маркером активності процесів перекисного окислення ліпідів ПОЛ [3]. Продукти вільно-радикальних перетворень суттєво впливають на стан каталітичних процесів у клітинах, структуру та властивості клітинних мембран, а також характер проявлення регуляторних ефектів різних біологічно активних сполук, що беруть участь у підтримці гомеостазу.

В літературі відсутні відомості про вміст цих мікроелементів, ферментів та ТБК-АП у сироватці крові в умовах дії гравітаційних перевантажень. Вищесказане, а також необхідність розробки нових способів підвищення стійкості до дії гіпергравітації, визначили **МЕТУ** нашого експерименту: дослідити вміст кальцію, фосфору, кислоти та лужної фосфатази, ТБК-АП у сироватці крові щурів, що зазнали впливу значних по силі гравітаційних перевантажень з використанням протекторів фізичної та хімічної природи.

Матеріал та методи

Дослідження проведене на 84 щурах самцях лінії Вістар 12-місячного віку з початковою масою 260 – 280г. Тварини були розподілені на серії. Першу склали щури, які щоденно піддавалися впливу поперечних гравітаційних перевантажень (9g, три майданчики по 3 хв.). Гіпергравітацію моделювали шляхом обертання тварин в периферичних контейнерах центрифуги Ц-2/500. Тварини другої серії знаходилися в умовах фізичного захисту. Контролем для цих серій слугували тварини, що знаходилися у момент експерименту в однотипних, світлонепроникних, пластикових контейнерах на верхній площині центрифуги (контроль-1). Третю серію склали щури, що зазнали дії перевантажень з попереднім парентеральним введенням глютаргіну; четверта – з комбінації фізичного захисту та введення глютаргіну; п'ята – з попереднім парентеральним введенням ліпофлаону. Контролем для цих серій були щури, яким окрім розміщення в контейнерах вводили фізіологічний розчин хлориду натрію в еквівалентних об'ємах (контроль-2). Способи підвищення стійкості до дії гравітаційних перевантажень підтверджені патентами [4,5,6].

По закінченні термінів експерименту (через 10 та 30 діб) тварин декапітували під ефірним наркозом. Забирали кров, центрифугували, отримували сироватку. Концентрацію кальцію в сироватці крові визначали трилонометричним титруванням у присутності мурексиду. Для визначення

неорганічного фосфору використовували набори фірми «Реагент», активності лужної фосфатази – «Філісіт діагностика», активності кислоти фосфатази – «SIMKO Ltd.» Дослідження проводили у відповідності до інструкцій на фотоелектроколориметрі КФК-3. Аналіз вмісту ТБК-АП виконували за допомогою стандартного набору реактивів «ТБК-АГАТ» у відповідності до інструкції.

Дані, отримані в результаті дослідження, обробляли з використанням методів варіаційної статистики. Вірогідною вважали ймовірність помилки менше 5% ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення

При проведенні дослідження рівня кальцію у сироватці крові щурів, що піддавалися впливу гравітаційних перевантажень, встановлена відсутність суттєвих змін в обидва терміни спостереження. В той же час, відбувається підвищення вмісту фосфору на 13,4% ($p < 0,05$) через 10 днів, та на 21,6% ($p < 0,05$) через 30 у порівнянні з контрольними даними. При дослідженні рівня фосфору на 10 день відзначили його зростання відносно контролю, що може свідчити про його підвищену реабсорбцію у ниркових каналцях. Стабільна гіперфосфатемія, що спостерігалася на другому терміні, можливо, послугувала стимулятором секреції паратиреоїдного гормону. На підтримку цієї думки свідчать результати дослідження S. Shoumura et al. (1991), які виявили морфологічні ознаки підвищення секреторної активності парацитовидних залоз у сирійських хом'яків під впливом гравітаційних перевантажень [7].

У щурів, що зазнавали десятиразового впливу перевантажень з попереднім введенням глютаргіну та в комбінації з фізичним захистом вміст фосфору відрізнявся від контролю на 7-8%. В інших серіях цей показник знаходився на тому ж рівні, що й у щурів без використання протекторів, або, навіть, перевищував його. Аналогічні результати отримані й при 30-ти денному терміні.

При дослідженні рівня фосфатази спостерігається підвищення їх активності, порівняно з контролем, після десяти сеансів гіпергравітації та різноспрямовані зміни після тридцяти: вміст кислоти фосфатази був зменшений на 20,0% ($p < 0,05$), а лужної – підвищений на 23,5% ($p < 0,05$). Стосовно вмісту фосфатази, то отримані результати можуть свідчити про наявність змін у процесах ре моделювання скелета, а саме підвищення активності резорбції кістки та її новоутворення на ранніх стадіях впливу гравітаційних перевантажень та превалюванням процесів формування кістки над її резорбцією.

При використанні способів підвищення стійкості організму до дії гравітаційних перевантажень показник вмісту кислоти фосфатази в обидва терміни спостереження був наближений до контрольних даних, особливо на тлі введення глютаргіну. Рівень лужної фосфатази в сироватці крові був ближчим до контрольних значень у тварин, що піддавалися дії гравітаційних перевантажень з попереднім введенням глютаргіну та ліпофлаону (при 10-ти денному терміні). Через 30 днів експерименту більшу ефективність виявили комбінація глютаргіну з фізичним захистом, та введення ліпофлаону.

Вміст кальцію, фосфору, кислої та лужної фосфатази, ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів при дії гравітаційних перевантажень та при використанні різних способів підвищення стійкості до них

Серія	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Кисла фосфатаза, нмоль/с·л	Лужна фосфатаза, нмоль/с·л	ТБК-АП, мкмоль/л
10 днів					
Контроль-1	2,48±0,02	1,79±0,06	495,83±23,87	5061,00±217,77	1,47±0,37
Контроль-2	2,50±0,02	1,77±0,03	503,33±22,60	4654,50±158,18	1,49±0,06
Перевантаження	2,48±0,02	2,03±0,07*	641,33±31,45*	6823,50±326,51*	1,37±0,30
Фіз. захист	2,46±0,02	2,15±0,01*	629,50±24,03*	6393,83±306,66*	2,24±0,14
Глутаргін	2,46±0,02	1,92±0,05*	467,50±19,15	4270,17±185,73	0,99±0,14
Глутаргін та фіз. захист	2,41±0,04	1,64±0,06	465,83±19,52	3934,83±126,04*	1,18±0,23
Ліпофлавіон	2,52±0,04	2,00±0,03*	681,50±25,23*	4878,67±186,51*	1,37±0,12
30 днів					
Контроль-1	2,25±0,07	1,55±0,06	321,67±13,75	2945,33±138,00	1,90±0,17
Контроль-2	2,23±0,02	1,56±0,01	361,33±17,97	2510,67±121,55	1,92±0,26
Перевантаження	2,37±0,02	1,89±0,05*	257,33±12,65*	3638,17±92,69*	2,47±0,44*
Фіз. захист	2,51±0,07*	1,97±0,07*	173,33±7,87*	3398,67±168,93*	1,47±0,23
Глутаргін	2,31±0,08	1,48±0,04	355,67±8,02	3201,67±139,53*	1,18±0,23*
Глутаргін та фіз. захист	2,30±0,03	1,66±0,06	320,17±15,20	2922,83±145,08	2,51±0,06
Ліпофлавіон	2,20±0,10	1,74±0,07*	291,33±14,37*	2914,67±141,60	0,87±0,37

Примітка: * - (p<0,05) у порівнянні з контролем.

Стосовно ТБК-АП, то їх вміст при 10-ти денному впливі перевантажень був зменшеним на 7,3% (p>0,05) по відношенню до контролю, а при 30-ти денному перевищував їх на 30,2% (p<0,05) (табл. 1). Отримані результати свідчать про те, що при 10-ти разовій дії гіпергравітації адаптаційні системи організму щурів є активними та знаходяться на стадії напруги стрес-реакції. При цьому активується антиоксидантна система організму, що призводить до зниження вмісту продуктів ПОЛ в крові. Підвищення рівня ТБК-АП після 30 днів впливу свідчить про послаблення антиоксидантного захисту організму та активацію вільнорадикальних окислювальних процесів [5].

В серіях дослідження з використанням протекторів найбільш виражений ефект спостерігався при введенні глутаргину та ліпофлавіону, що проявлялося наблизенням результатів до показників контролю (табл. 1).

Висновки

Проведене дослідження дозволяє стверджувати, що гравітаційні перевантаження викликають у сироватці крові 12-місячних щурів збільшення вмісту фосфору, практично не впливаючи на вміст кальцію; підвищення активності лужної фосфатази та різноспрямовані зміни вмісту кислої фосфатази та ТБК-активних продуктів (їх зменшення при 10-ти денному, та підвищення при 30-ти денному впливі).

За ступенем ефективності способи підвищення стійкості до дії гравітаційних перевантажень, що були використані в роботі, можна розташувати в

наступній послідовності: глутаргін>глутаргін + фізичний захист>ліпофлавіон>фізичний захист.

В перспективі планується проведення досліджень біохімічного складу сироватки крові щурів інших вікових груп.

Література

1. Ковалев Д.И. Регуляция обмена кальция в организме человека // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т.37, №6. – С. 61-66.
2. Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение [монография] / Н.А. Корж, В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух, И.А. Зупанец. – Х.: Золотые страницы, 2002. – 650 с.
3. Регуляция свободнорадикального окисления липидов в процессе старения организма: тезисы докладов V международного симпозиума [«Биологические механизмы старения»], (Харьков, 30 мая - 1 июня 2002 г.) / Ю. В. Никитченко. – Харьков, 2002. – С. 93.
4. Пат. 16546 Україна, МПК А 61В10/00. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях / Пикалюк В. С., Мостовий О. С., винахідники і власники В. С. Пикалюк, О. С. Мостовий. – № 200509257; заявл. 3.10.2005, опубл. 15.03.2006, Бюл. № 3, 2006.
5. Пат. 35792 Україна МПК (2006) А61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.О., Коняєва О.І., винахідники і власники В. С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.О. Мороз, О.І. Коняєва - № u200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008, Бюл. №19.
6. Пат. 37164 Україна МПК (2006) А61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень препаратом „Ліпофлавіон” в експерименті / Пикалюк В.С., Мороз Г.О., Кутя С.А., Коняєва О.І. винахідники і власники В. С. Пикалюк, Г.О. Мороз, С.А. Кутя, О.І. Коняєва - № u200804002; заявл. 31.03.2008; опубл. 25.11.2008, Бюл. №22.
7. Ultrastructural studies on the effects of hypergravity environment on the parathyroid glands in golden hamster of different ages / S. Shoumura, S. Emura, M. Utsumi [et al.] // Acta anatomica. – 1991. – Vol. 140, Issue 4. – P. 378 – 384.

Відомості про авторів: Пикалюк Василь Степанович, д.мед.н., професор, завідувач кафедри нормальної анатомії КДМУ ім. С.І. Георгієвського; Кутя Сергій Анатолійович, к.мед.н., доцент кафедри нормальної анатомії КДМУ ім. С.І. Георгієвського; Мороз Геннадій Олександрович, к.мед.н., доцент кафедри нормальної анатомії КДМУ ім. С.І. Георгієвського;

Адреса для листування: Пикалюк В.С. 95006, м. Сімферополь, вул. Рози Люксембург 27а, кафедра нормальної анатомії КДМУ ім. С.І. Георгієвського.