

УДК 612.018+612.014

О. А. Никифорова

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

ВПЛИВ СТРЕС-ФАКТОРІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЩУРІВ

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

О. А. Никифорова

*Днепропетровский национальный университет железнодорожного транспорта
им. акад. В. Лазаряна*

ВОЗДЕЙСТВИЕ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ

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

О. А. Nykyforova

V. Lazaryan Dnipropetrovsk National University of Railway Transport

EFFECT OF STRESSFUL CONDITIONS ON THE FUNCTIONAL STATE OF BLOOD ERITROID CELLS

The influence of alimentary stress-factors – *NaCl* and cholesterol – on the osmotic resistance of rats' erythrocytes has been studied. The results demonstrate more significant deviations in erythrocytes' osmotic resistance of animals under the stress load of *NaCl* in comparison with the alimentary cholesterol load. *NaCl* significantly worsened the erythrocytes' stability. Under such conditions the metabolic consequences arised for both the organism and cardiovascular system.

Вступ

Осмотична резистентність еритроцитів (ОРЕ) – безпосередній показник стабільності еритроїдної клітини та один із маркерів багатьох патологічних станів організму в цілому [1; 11]. ОРЕ регулюється комплексом змін як електролітного складу плазми, так і структури бішару мембран еритроцитів. За даними деяких авторів [3; 4; 5], у більшості видів тварин і людини початок гемолізу відмічається при концентрації *NaCl* 0,5–0,6 %, повний гемоліз настає при 0,3–0,4 %. Відмінності рівнів ОРЕ від загально-

прийнятих у тварин різних видів свідчить про ряд біохімічних особливостей цих клітин, пов'язаних із забезпеченням їх стійкості. Доцільно було б чекати, що різна гемолітична стійкість еритроцитів тварин буде корелювати з інтенсивністю виділення ендogenousного окису вуглецю, що утворюється у процесі катаболізму гемоглобіну. А оскільки міжвидові особливості гемолітичної стійкості еритроцитів корелюють із рівнем еритроцитів у крові, очевидно, й інтенсивність виділення ендogenousного окису вуглецю буде пов'язана з кількістю червоних кров'яних клітин у різних видів тварин.

З одного боку, *NaCl* та холестерин – важливі компоненти, необхідні для нормального функціонування клітин і організму в цілому. З іншого – надмірне їх надходження з їжею викликає зміни біохімічних властивостей клітинних мембран і зсув водно-сольового балансу [1; 2]. Один із найважливіших показників стану еритроцитарних мембран – осмотична резистентність (ОРЕ) – 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 ОРЕ, тобто розвитком гемолізу червонокривців [5; 12] і, навпаки, корекція порушень може бути пов'язана з відновленням ОРЕ. Ця робота присвячена визначенню стійкості еритроцитів до дії аліментарних стрес-факторів (ХС та *NaCl*).

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили на щурах-самцях вагою 120–125 г. Тварин поділили на дві групи. До першої (контрольної) увійшло 58 тварин. У тварин другої групи ($n = 56$) моделювали стрес шляхом щоденного додавання до їжі холестерину (0,5 г/кг маси тіла) і солей жовчних кислот (100 мг/кг маси тіла). Використання ХС ґрунтувалося на тому, що він вважається попередником метаболічних зсувів в організмі тварин, які мають місце в синтезі гормонів, і є одним із факторів розвитку різноманітних патологій серцево-судинної системи. Солі жовчних кислот – найсильніші стимулятори секреції жовчі, що сприяє емульгації жирів та їх усмоктуванню [6; 10; 11].

У тварин третьої групи ($n = 76$) моделювали стрес шляхом додавання аліментарного фактора (*NaCl* – 0,2 г/кг). Обрання цього чинника навантаження зумовлене тим, що *NaCl* – ініціатор тих метаболічних зсувів в організмі тварин, які спричиняють зміни синтезу гормонів і лежать в основі адаптаційних реакцій організму. У воді тварин не обмежували [10].

Експеримент тривав 21 тиждень із реєстрацією результатів на 3-й, 15-й та 21-й тижні. Тваринам у ході експерименту здійснювали декапітацію та 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 ступеня гемолізу еритроцитів у буферних розчинах хлориду натрію. Як речовину, що гемолізує, використовували розчин хлористого натрію, який повинен бути досить високої якості. Отримані результати в кожній групі щурів обробляли статистично методом парних порівнянь, проводили кореляційний аналіз між концентрацією холестерину та осмотичною резистентністю еритроцитів.

Результати та їх обговорення

У тварин контрольної групи упродовж усього експерименту, тривалістю 21 тиждень, повний гемоліз еритроцитів відмічали при концентрації *NaCl* 0,3–0,4 %. Отримані значення перебували в межах норми для даного виду та статі тварин [9].

Результатом 3-тижневого холестеринового стресу було достовірне зниження ОРЕ (рис. 1). У подальшому (6–9-й тиждень) величини стійкості мембран клітин

червоної крові незначно коливалися як у бік зменшення, так й 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 та OPE у тварин цієї групи.

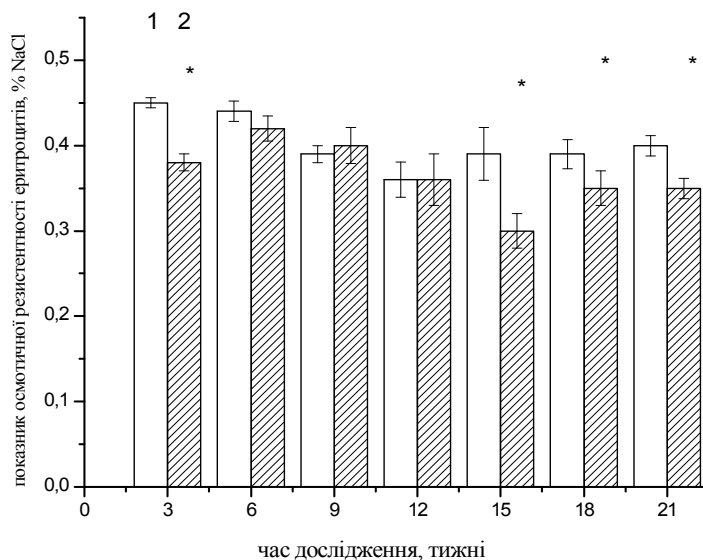


Рис. 1. Зміни осмотичної резистентності еритроцитів тварин I і II груп: * –достовірні зміни значень осмотичної резистентності відносно значень контрольної групи тварин ($p < 0,05$)

На 12–15-му 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 можуть урешті-решт перетворитись із тріади адаптивної відповіді на 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 та матричну. Два механізми лежать в основі порушення бар'єрної функції: іонофорний і електричний пробою. Перший із 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].

Додавання тваринам до раціону $NaCl$ у кількості 0,2 г/кг спричинювало миттєве достовірне 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-му та 12-му 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-му тижні) шляхом надмірного споживання *NaCl* з їжею. Збільшення вмісту ХС при відтворенні останньої моделі значно перевищувало його вміст при аліментарному навантаженні ХС.

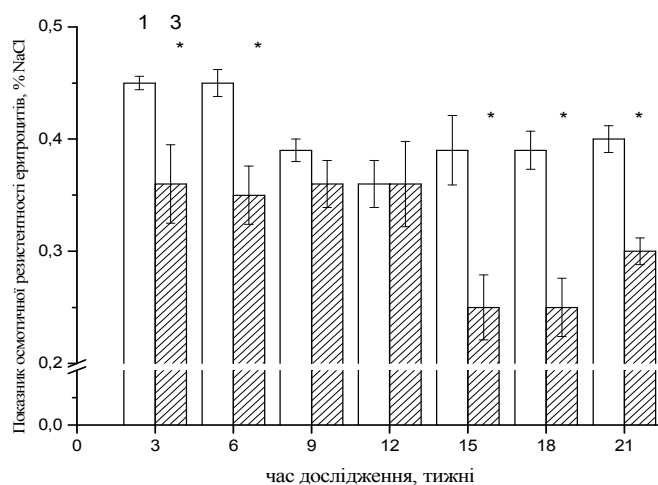


Рис. 2. Зміни осмотичної резистентності еритроцитів тварин I і III груп: * – достовірні зміни значень осмотичної резистентності відносно контрольних показників ($p < 0,05$)

Відмінність між двома видами ГХС полягала ще й у тому, що в організмі тварин, які отримували ХС-навантаження, зміни гомеостазу пов'язані з надходженням надлишкового холестерину їжі і включенням компенсаторних реакцій. А у групі з *NaCl*-навантаженням – із синтезом ендogenous холестерину у відповідь на присутність значної кількості *NaCl* як потенційного фактора розвитку патологічних змін організму. Як відомо, гіперхолестеринемія значно активує процеси перекисного окиснення ліпідів не тільки у рідких речовинах (у сироватці крові), а й у мембранних структурах формених елементів [6; 12] і все це відбувається на фоні пригнічення ферментативного ланцюга антиоксидантного захисту. Отже, за даних умов стресу у тварин III групи можливості адаптаційних систем, скоріше за все, стають вичерпними та виникають передумови для розвитку патологічних станів. Достовірних кореляційних зв'язків між рівнем холестерину та ОРЕ не встановлено.

Таким чином, *NaCl*-навантаження більшою мірою впливає на стан клітинних мембран, ніж навантаження холестерином.

Висновки

Аліментарне навантаження *NaCl* викликає суттєве стійке зниження осмотичної резистентності еритроцитів (на 15-му тижні – у 1,56 раза порівняно з контролем), на відміну від аналогічних змін у тварин, що підлягали навантаженню ХС, які були менш суттєвими і більш відновними. 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, а і на рівні функціонування всієї серцево-судинної системи. Ми припускаємо, що за умов тривалого аліментарного стресу відбувається збільшення вмісту загального ХС за рахунок утворення продуктів ПОЛ разом із накопиченням дієнових кон'югатів і фосфоліпідів у мембранах еритро-

цитів 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.** Трансмембранные потенциалы миокарда при действии эсрадиола / Е. Д. Игнатова, В. И. Корбин // Физиол. журн. – 1999. – № 5. – С. 680–682.
4. **Кан А. М.** Влияние половых стероидов на активность лизосомальных ферментов сердца // Проблемы эндокринологии. – 2001. – № 1. – С. 53–54.
5. **Левина Л. И.** Сердце при эндокринных заболеваниях. – Л. : Медицина, 1998. – 263 с.
6. **Лопухин Ю. М.** Холестериноз / Ю. М. Лопухин, А. И. Арчаков, Ю. А. Владимиров. – 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 / О. А. Никифорова, В. П. Ляшенко // Зб. наук. пр. співроб. 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., Політаєва В. І.; Заявлено 21.11.2000 р.; опубліковано 15.01.2002 р. Бюл. № 1.
12. **Скулачев В. П.** Феноптоз: запрограммированная смерть организма // Биохимия. – 1999. – Т. 64, № 12. – С. 1679–1688.
13. **Титов В. Н.** Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот // Клинич. лаб. диагностика. – 2001. – № 1. – С. 3–9.
14. **Euroaspire:** Survey conducted by the Europlan Society of Cardiology on Secondary prevention of coronary disease / E. Ostor, A. Janosi, K. Belatiny et al. // Orv. Hetil. – 1999. – Vol. 140, N 5. – P. 243–248.

Надійшла до редколегії 17.10.2011