

УДК: 612.398.192:577.112.384:611.018.5

Н. О. Салига

ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ СТРЕСУ ТА ВПЛИВУ АМІНОКИСЛОТ

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна;
e-mail: ynosyt@yahoo.com

Ключові слова: *L-глутамінова кислота, L-цистеїн, лейкоцити, стрес, фагоцитарна активність.*

Однією з важливих проблем медицини та біології є вивчення впливу стресу на захисні функції організму. При стресі відбувається посилення адаптивних можливостей організму за рахунок мобілізації енергетичних ресурсів для активного подолання несприятливих впливів [1]. Катехоламіни є пусковими медіаторами стресу. Пошук біологічно активних речовин, які сприяють більш швидкій адаптації організму в стресових умовах особливо актуальний. Харчові добавки амінокислот, які застосовують для тварин і людей з пониженим імунітетом і інфекційними захворюваннями підвищують імунний статус, тим самим знижуючи захворюваність і смертність. Аргінін, глутамінова кислота і цистеїн є кращими з прототипів.

Глутамінова кислота (L-Glu) відіграє одну з основних ролей в азотному обміні, бере участь в білковому і вуглеводному обмінах, стимулює окислювальні процеси, перешкоджає зниженню окисно-відновного потенціалу, нормалізує обмін речовин, проявляє гепатопротекторну дію [7, 11–12]. Організм використовує протягом дня величезну кількість L-Glu. Особливо багато її потрібно для підтримки функціонування імунної системи, нирок, підшлункової залози, жовчного міхура і печінки [10]. У здоровому організмі L-Glu синтезуються і використовуються для забезпечення функцій клітин, що швидко діляться, зокрема, імунних. Наявність рецепторів L-Glu на клітинах імунної системи дозволяє вважати її не лише нейро-, але й імуномодулятором [8].

Метаболічні процеси, що відбуваються в організмі тварин та людини при стресах і захворюваннях призводять до використання великої кількості L-Glu [9, 13]. Дослідження обміну L-Glu є важливими для з'ясування її ролі у метаболічних процесах, представляє значний інтерес для вирішення багатьох фундаментальних та практичних проблем, пов'язаних з білковим обміном.

Метою роботи було вивчити вплив високих доз L-Glu та L-Glu у комплексі з цистеїном (L-Cys) на окремі гематологічні та імунологічні показники крові за умов гострого стресу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослід проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, які були розділені на 4 групи по 10 тварин у групі (три дослідні та одна контрольна). Тваринам першої дослідної групи вводили внутрішньоочеревинно адреналін у дозі 10 мкг/100 г маси тіла, тваринам другої та третьої дослідних груп вводили адреналін у дозі 10 мкг/100г маси тіла після чого щурам другої групи – розчин L-Glu у дозі 750 мг/кг, а щурам третьої групи – розчин L-Cys у дозі 300 мг/кг та L-Glu у дозі 750 мг/кг. Щурам контрольної групи вводили відповідну кількість фіз. розчину. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Через 24 години тварин всіх груп за анестезії ефіром декапітували. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Матеріалом для досліджень служила кров лабораторних щурів. У цільній крові визначали гематологічні (кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоформула) та імунологічні показники (фагоцитарна активність нейтрофілів, котру оцінювали за допомогою НСТ-тесту) [2]. Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При стресі запускається цілий комплекс біохімічних реакцій. Зокрема, підвищується рівень основного обміну. При стресі збільшується розпад білків організму. Якщо в крові немає їх запасу, руйнуються клітини організму – в першу чергу лімфоїдні.

Встановлено, що стрес приводив до вірогідного зниження кількості еритроцитів (табл.1) у тварин першої дослідної групи порівняно до контролю. Слід зазначити, що тварини другої та третьої дослідних груп, які отримували L-Glu та L-Glu у комплексі L-Cys загальна кількість еритроцитів була на одному рівні з тваринами контрольної групи. Можна припустити, що стрес викликаний адреналіном можна розглядати як фактор, який приводить до розвитку анемії у тварин. Результати наших досліджень показали, що загальна кількість лейкоцитів після застосування L-Glu була на одному рівні у всіх груп тварин і знаходилась в межах фізіологічної норми. Незрілих і патологічних форм лейкоцитів у крові тварин другої та третьої дослідних груп виявлено не було.

Таблиця 1. Вплив амінокислот на загальну кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові щурів за дії стресу

Група тварин	Показники	
	Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л
Д1	3,75 ± 0,25***	6,50 ± 0,39
Д2	4,82 ± 0,19	5,20 ± 0,41
Д3	5,39 ± 0,22	5,00 ± 0,35
К	5,69 ± 0,13	5,00 ± 0,47

Примітка. У цій і наступних таблицях: * – вірогідність відмінностей у значеннях показників між контрольною та дослідними групами тварин (*-*** – $p < 0,05$ – $p < 0,001$).

Лейкоцитарна формула експериментальних тварин представлена в таблиці 2. В організмі процентний вміст одних видів лейкоцитів зменшується чи збільшується за рахунок зменшення або збільшення інших видів лейкоцитів. За аналізом лейкоцитарної формули крові можна судити про стан протікання патологічних процесів, про появу ускладнень. Показники лейкограми периферичної крові у щурів другої та третьої дослідних груп, достовірно не відрізнялися від показників контрольної групи. У тварин першої дослідної групи спостерігалось зниження кількості лімфоцитів за рахунок зростання сегментоядерних нейтрофілів. Це узгоджується з даними деяких авторів, про те що лімфопенія розвивається при спадкових і набутих імунодефіцитних станах та стресах [6].

Таблиця 2. Вплив амінокислот на лейкоцитарну формулу крові щурів за дії стресу

Група тварин	Лімфоцити, %	Базо-філи, %	Еозинофіли, %	Моноцити, %	Нейтрофіли		
					Юні, %	Паличко ядерні, %	Сегментоядерні, %
Д1	51,00 ± 2,71**	0,40	2,00 ± 0,45	1,00	-	1,80	43,80 ± 1,98**
Д2	66,00 ± 1,00	0,40	2,20 ± 0,37	0,40	-	0,80	30,20 ± 1,16
Д3	63,80 ± 2,52	0,60	2,20 ± 0,58	-	-	0,60	32,80 ± 2,22
К	61,40 ± 1,66	0,60	2,80 ± 0,73	0,40	-	1,00	33,80 ± 2,50

Як відомо, в організмі тварин поряд з функціонуванням специфічних до конкретних антигенів форм реагування (імуноглобуліни різних класів, реакції клітинного імунітету), наявні філогенетично більш древні фактори неспецифічної резистентності організму. Ця форма резистентності забезпечує першу лінію захисту організму до пошкоджуючих факторів і лежить в основі природного імунітету. Активуючий вплив адреналіну на фагоцитарну активність лейкоцитів в низьких концентраціях і пригнічуюча дія високих концентрацій відомі давно [4].

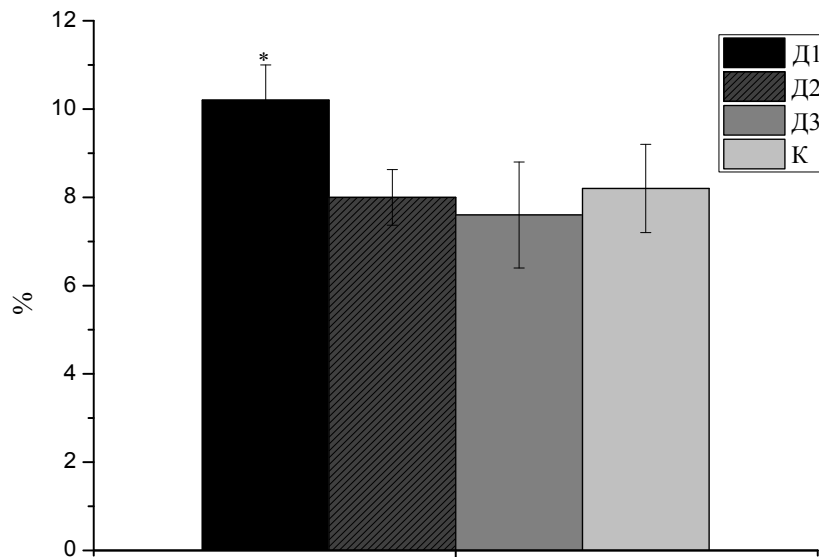


Рис. Вплив амінокислот на фагоцитарну активність нейтрофілів за дії стресу.

Фагоцитарна активність нейтрофілів, котру оцінювали за допомогою НСТ-тесту вказує на метаболічний потенціал фагоцитів. Аналіз даних (рис.) свідчить про те, що при гострому стресі фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів у тварин першої дослідної групи була достовірно вищою у порівнянні з тваринами контрольної групи. Можна припустити, що адреналін здатен збільшувати циркулюючий пул нейтрофілів. Таким чином, в крові спостерігалось збільшення кількості нейтрофілів і за рахунок цього підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів. Очевидно активація фагоцитуючих клітин за дії стресу відіграє важливу роль. Це узгоджується з даними [3] про те, що через 24 год після дії стресу зростали показники фагоцитозу. Хоча деякі автори стверджують, що в системі *in vitro* адреналін пригнічував фагоцитарну активність нейтрофілів [5]. Що стосується тварин другої та третьої дослідних груп, цей показник був практично на одному рівні з тваринами контрольної групи.

ВИСНОВКИ

Застосування L-Glu та L-Glu у комплексі L-Cys при стресах дозволяє організму вийти на рівень контрольних значень, що відобразилось на кількості еритроцитів та фагоцитарній активності нейтрофілів тварин другої та третьої дослідних груп. У тварин, які зазнавали дії стресу без застосування вищезгаданих амінокислот знижувалась загальна кількість еритроцитів та підвищувалась фагоцитарна активність нейтрофілів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. – СПб.: Наука, 1992. – 148 с.
2. Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін. // Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині – Львів.: СПОЛОМ. – 2012. – 761 с.
3. Кузьменко Е.В., Никифорова Н.А., Иваненко М.О. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови крыс с различной реакцией на стресс // Вестник ХНУ им. В.Н. Каразина. Серия: биология. – 2010. – Вип. 11 – С. 173–177.
4. Селье Г. Концепция стресса как мы ее представляем в 1976 году // Новое о гормонах и механизмах их действия. – К.: Наук, думка, 1977. – С. 27–51.
5. Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В. Адренергические механизмы регуляции фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови крыс при стрессе и введении гидрокортизона // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2004. – № 3. – С. 8–13.
6. Шилова Ю.О., Шилов Д.Ю., Шилов Ю.І. Вплив стресу на активність лейкоцитів периферичної крові // Успіхи сучасного природознавства. – 2010. – № 7. – С. 54–55.
7. Brosnan J.T. Brosnan M.E. Glutamate: a truly functional amino acid // Amino Acids. – 2012. – Vol. 25. – P. 207–218.
8. Hansen A.M., Caspi R.R. Glutamate joins the ranks of immunomodulators // Nat.Med. – 2010. – Vol. 16. – №8. – P. 856–858.
9. Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function // Cell Biochem Funct. – 2003. – Vol. 21. – P. 1–9.
10. Newsholme P, Lima M.M., Procopio J., et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites // Braz. J. Med Biol Res. – 2003. – Vol. 36. – P. 153–163.
11. Shelly C. Lu Regulation of glutathione synthesis // Molecular Aspects of Medicine. – 2009. – Vol. 30, Issues 1–2. – P. 42–59.
12. Roth E, Spittler A, Oehler R. Glutamine: effects on the immune system, protein balance and intestinal functions// Wien Klin Wochenschr. – 1996. – Vol. 108(21). – P. 669–676.
13. Tapiero H., Mathé G., Couvreur P., Tew K.D. Glutamine and glutamate // Biomed Pharmacother. – 2002 – Vol. 56(9). – P.446–457.

Н. О. Салыга

**ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ЗА
ДЕЙСТВИЯ СТРЕССА И ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТ**

Ключевые слова: L-глутаминовая кислота, L-цистеин, лейкоциты, стресс, фагоцитарная активность.

Исследовали влияние L-Glu и L-Glu в комплексе с L-Cys на отдельные гематологические и биохимические показатели крови крыс за действия стресса. Установлено, что у животных, подвергавшихся действию стресса без применения вышеупомянутых аминокислот снижалось общее количество эритроцитов и возрастала фагоцитарная активность нейтрофилов. Дополнительное введение L-Glu и L-Glu в комплексе с L-Cys при стрессах позволяет организму выйти на уровень контрольных значений, что отразилось на количестве эритроцитов и фагоцитарной активности нейтрофилов животных второй и третьей опытных групп.

N. O. Salyha

**HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF THE BLOOD OF RATS
UNDER STRESS AND INFLUENCE OF AMINO ACIDS**

Keywords: *L-glutamic acid, L-cysteine, leukocytes, stress, phagocyte activity.*

The article investigates the effects of L-Glu and L-Glu in combination with L-Cys on some hematological and biochemical parameters of rat blood under stress. It shows that animals under stress (without administering the above mentioned amino acids) revealed a decrease in the total number of red blood cells and an increase in the phagocyte activity of neutrophils. Additional injection of L-Glu and L-Glu in combination with L-Cys allows the body to reach the level of control values during stress, which affected the number of red blood cells and phagocytic activity of neutrophils in animals of the second and third experimental groups.