

І.Г. ЛІТОВКА, О.Г. ЧАКА

ВПЛИВ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ МОЛОДИХ І ДОРΟΣЛИХ ЩУРІВ

В данной работе одновременно оценивали режим подачи газовой смеси, изменения показателей красной крови и биохимических маркеров у крыс разного возраста. Нормобарическую газовую смесь (НГС) подавали в прерывистом режиме по 4 часа ежедневно крысам II группы; в бесперерывном режиме на протяжении 1 часа животным III группы. Концентрация фетального гемоглобина достоверно возросла у 3-х месячных крыс III гр. и у 9-ти месячных II группы. Активность АЛТ у 3-х месячных животных II группы увеличилась на 31%, а у 9-ти месячных не изменялась. Активность каталазы достоверно повысилась в 2 раза у 9 месячных крыс II группы, у 3 месячных не отличалась от значений контроля. Считаем, что прерывистая нормобарическая гипоксия является эффективным способом повышения адаптационного потенциала молодых и взрослых особей.

* * *

ВСТУП

Здатність тимчасово переносити різні ступені кисневого голодування є найбільш еволюційно давнім і найдосконалішим засобом адаптації ссавців. Виходячи з цього М.А. Агаджанян і співав. [1] дійшли до висновку, що особливості реакції на гіпоксію значною мірою характеризують резервні пристосувальні можливості організму до дії різних несприятливих чинників. Останніми роками встановлена залежність характеру адаптації від ступеня гіпоксії, її тривалості, віку, фізичного стану організму, індивідуальної чутливості до гіпоксії. Фундаментальні роботи М.М. Сіротініна [15], В.В.Стрельцова [16], І.Р.Петрова [13] та інших дозволили обґрунтувати барокамерні тренування як метод підвищення висотної стійкості організму. Під впливом відносно короткочасних сеансів (4-6 год. на добу) барокамерного тренування відбувається таке ж саме підвищення стійкості до гіпоксії та інших ушкоджуючих чинників, як і при цілодобовій гірськокліматичній адаптації [11]. Проте побічна дія впливу на організм зниженого барометричного тиску істотно (у 4-5 разів) зменшує здатність людини переносити кисневу недостатність при однаковій величині парціального тиску в альвеолярному повітрі [14].

Дозована нормобарична гіпоксія значно краще переноситься людиною, ніж гипобарична киснева недостатність, що розвивається під час барокамерних «підйомів». Виключається можливість виникнення декомпресійних розладів, що може спостерігатися навіть при невеликому ступені гипобаричної гіпоксії (3000 м над у.м.). У той же час дослідження, в яких одночасно оцінювався б режим подачі газової суміші, зміни показників червоної крові і перебудова біохімічних реакцій організму нечисленні.

У зв'язку з цим наші дослідження були спрямовані на вивчення впливу різних режимів подачі дозованої нормобаричної газової суміші (НГС) на показники червоної крові і біохімічні маркери у молодих і дорослих щурів.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведено на 32 щурах-самцях лінії Вістар, яким на початок експерименту було 3 і 9 місяців. Щурів поділили на три групи: I - контрольні тварини, II і III- експериментальні щури. II групі тварин НГС ($P_{O_2} = 100 \pm 10$ мм.рт.ст.) подавали в режимі 10 хв - деоксигенація, 10 хв - реоксигенація по 4 год. щоденно протягом 28 діб, III групі - подавали НГС безперервно протягом однієї години (Табл.1). Після закінчення експерименту щурів декапітували під рауш-наркозом. У крові визначали вміст фетального гемоглобіну [2], активність каталази [8] і аланінамінотрансферази (АЛТ) за допомогою тест наборів фірми «Філісіт діагностика» Україна.

Таблиця. 1. Умови проведення експерименту

№ групи	Вік щурів (місяць)	Умови експерименту	Режим подачі НГС	Час впливу НГС годин за 28 діб
I	3	Віварний контроль		
II	3	Подача НГС	10 хв деоксигенація 10 хв реоксигенація протягом 4 годин	56
III	3	Подача НГС	Безперервно 1 годину	28
I	9	Віварний контроль		
II	9	Подача НГС	10 хв деоксигенація 10 хв реоксигенація протягом 4 годин	56
III	9	Подача НГС	Безперервно 1 годину	28

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження виявили тенденцію до збільшення на 25% концентрації фетального гемоглобіну у 3-х місячних щурів II групи. У щурів III групи такого ж віку вміст фетального гемоглобіну вірогідно збільшився на 53%. У 9 місячних тварин, навпаки, концентрація фетального гемоглобіну вірогідно в 2 рази зросла у тварин II групи, а у щурів III групи вміст фетального гемоглобіну мав тенденцію до збільшення на 33% (рис.1).

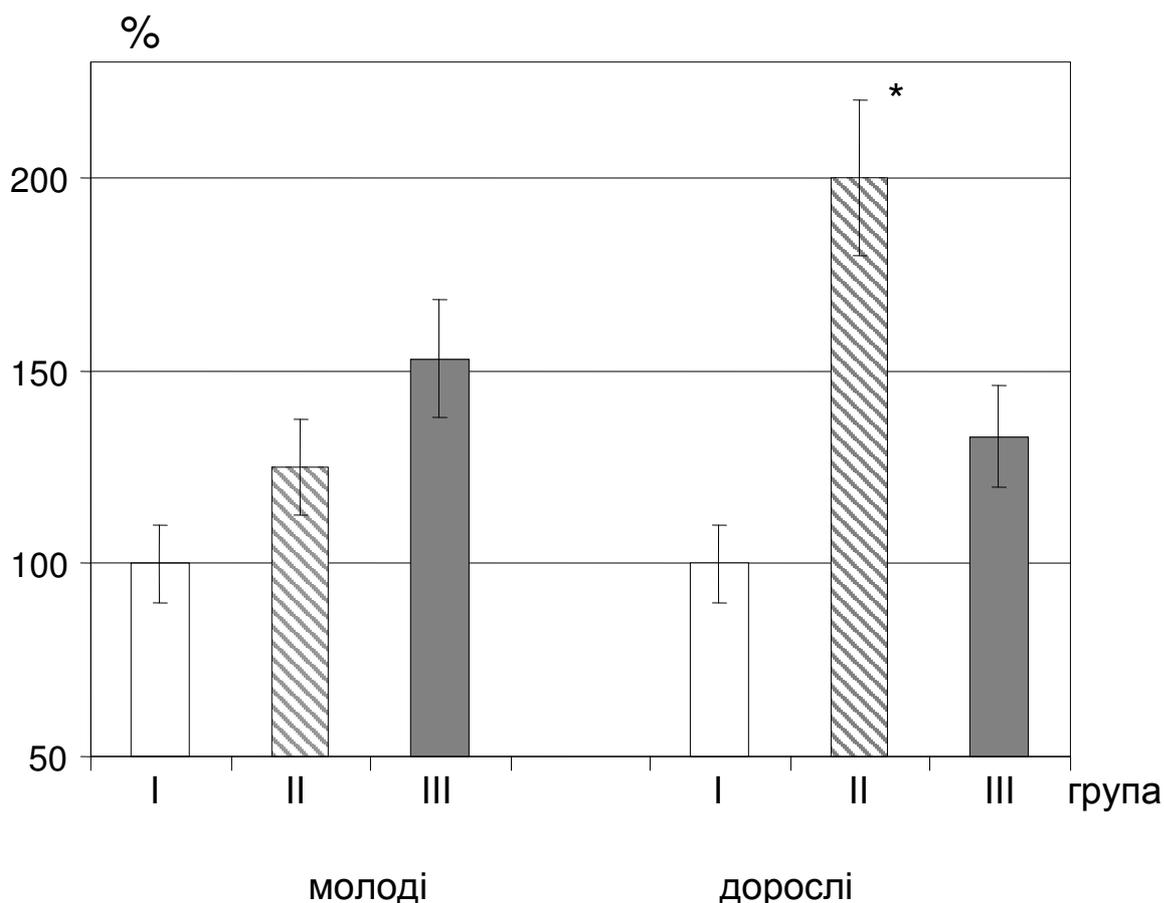


Рис1. Зміни концентрації фетального гемоглобіну в крові у молодих і дорослих щурів під впливом НГС

*- $P < 0,05$

На ранніх (внутрішньоутробних) стадіях розвитку тварин і людини в умовах обмеженого доступу кисню і низького вмісту його у венозній крові (відповідає 10 000 м над у.м.) синтезується гемоглобін з підвищеною спорідненістю до кисню [19]. Згодом з'ясувалося, що це - фетальний

гемоглобін, який є однією з ланок у механізмі адаптації тварин і людини до гіпоксії. Відомо, що з віком концентрація фетального гемоглобіну значно знижується. Хаггіс Дж. [18] висловив гіпотезу про те, що здатність синтезувати фетальний гемоглобін ніколи не відновлюється, якщо вона раніше була втрачена. Проте поява відповідних умов гіпоксії (високогір'я або барокамера) здатна привести до відновлення генетично обумовленої функції гена - регулятора синтезу фетального гемоглобіну у дорослих особин. Експериментально це було підтверджено на дорослих вівцях і щурах, що знаходилися в умовах високогір'я більше місяця [3,4] або після 10-ти денних в барокамерних тренувань [5].

Отримані нами дані свідчать про вірогідне підвищення концентрації фетального гемоглобіну у дорослих щурів при режимі подачі НГС - 10 хв деоксигенація - 10 хв реоксигенація протягом 4 годин щоденно. Тоді як при 1 годинній безперервній подачі НГС спостерігали лише тенденцію до її підвищення. Таким чином, можливо, при оптимально підібраному режимі подачі НГС у дорослих особин з'являється фактор (можливо HIF-1 α), що активує раніше пригнічену ділянку ДНК пов'язану з синтезом фетального гемоглобіну. Це призводить до появи його в периферичній крові дорослих тварин.

У дослідженнях, проведених в нашому відділі раніше [6, 10], визначали індивідуальну стійкість тварин до гіпоксії і час перебування молодих і дорослих щурів на умовній висоті 12 тис.м. до початку агональних вдихів. За результатами випробувань щурів розділили на високо- і низькостійких до дії гіпоксії особин. У цих експериментах було показано, що у високостійких до дії гіпоксії щурів вміст фетального гемоглобіну вищий, порівняно з щурами з низькою стійкістю до гіпоксії. Після 28-добового щоденного дихання НГС час перебування щурів на умовній висоті 12 тис.м. вірогідно збільшувався на 10-12 сек. Це збільшення може бути пов'язано з підвищенням рівня фетального гемоглобіну, який має вищу спорідненість до кисню, ніж гемоглобін А. Тим самим забезпечується більше захоплення кисню з альвеолярного повітря і підвищується його доставка до життєво важливих органів.

При дефіциті кисню в газовому середовищі важливе значення має підтримка функціональної активності тканин і органів, яка залежить від компенсаторних можливостей біоенергетичних механізмів і транспортних систем клітин.

АЛТ - фермент, що каталізує міжмолекулярне перенесення аміногрупи між аланіновою і кетоглутаровою кислотою. Найвища активність АЛТ виявляється в печінці і нирках, менша - в серці, скелетних м'язах, підшлунковій залозі, селезінці, легенях, еритроцитах. При пошкодженні або руйнуванні клітин, багатих на АЛТ, відбувається викид ферменту в кров'яне русло, що призводить до підвищення його активності в крові. Оскільки фермент не має органної специфічності, рівень його активності в сироватці крові не завжди корелює з тяжкістю ураження (поширеності некрозу) органу.

У наших експериментах ми спостерігали вірогідне підвищення активності АЛТ на 31% в сироватці крові щурів II групи 3-х місячного віку після 28 днів дихання НГС. У 9-ти місячних тварин після такого ж впливу активність АЛТ залишалася без змін (рис.2).

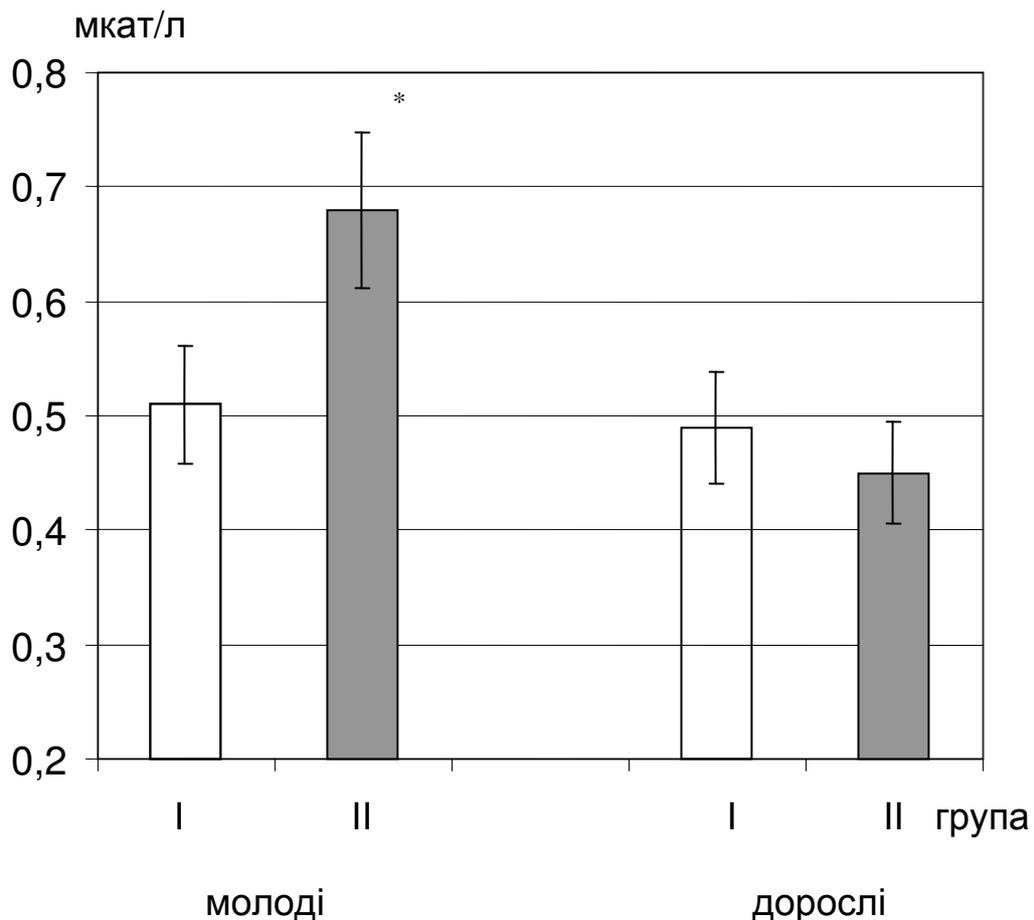


Рис.2 Активність АЛТ у сироватці крові молодих і дорослих щурів
* - $P < 0,05$

Чисельні літературні дані [7,9,17] свідчать про зниження ефективності функціонування ферментів I лінії антиоксидантного захисту і виникнення оксидативного стресу з віком. Тобто формуються умови при яких обмежується роль каталази і СОД у захисті від вільнорадикального пошкодження.

У наших експериментах ми спостерігали більш високу активність каталази в сироватці крові у 3 місячних контрольних щурів порівняно з 9 місячними. Під впливом НГС, яку подавали в переривчастому режимі, у 3 місячних щурів активність каталази не змінювалася, а у 9-ти місячних зростала в 2 рази (рис 3).

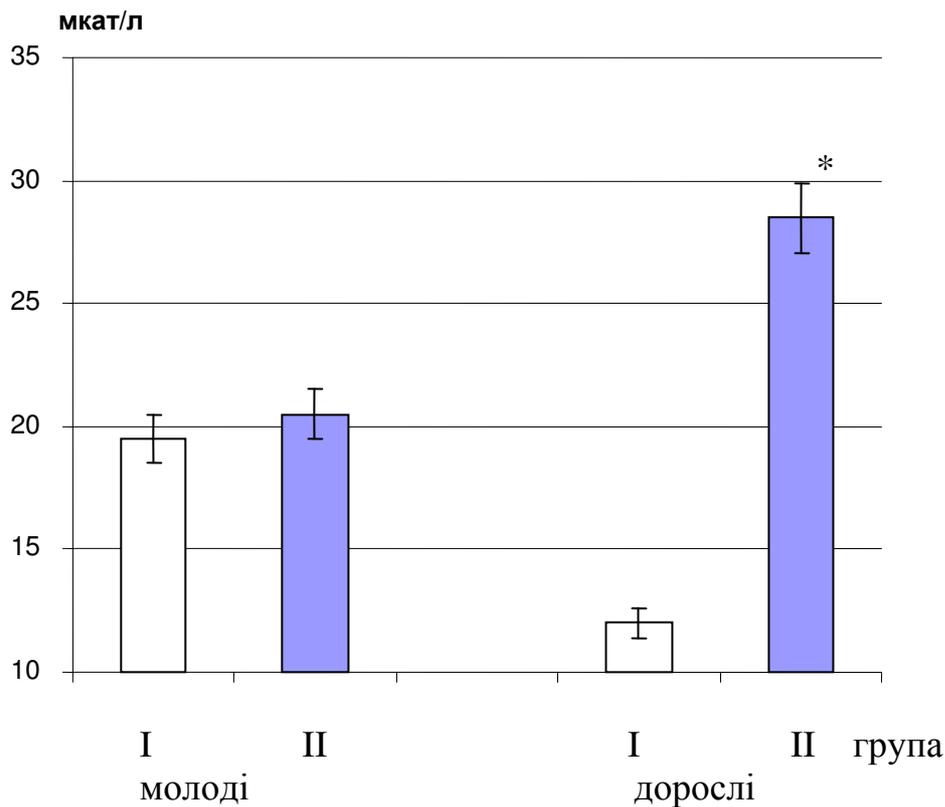


Рис.3. Активність каталази у сироватці крові молодих та дорослих щурів
* - $P < 0,05$

Можливо, активація компенсаторно-приспосувальних (адаптаційних) резервів за допомогою НГС у дорослих тварин вища порівняно з молодими.

Вважаємо, що каталаза, активність якої під час дихання НГС в переривчастому режимі зростає, бере безпосередню участь в утилізації перекису і в утворенні ендогенного кисню. Це може призводити до зменшення сили оксидативного стресу.

Таким чином, переривчаста нормобарична гіпоксія є ефективним засобом підвищення адаптаційного потенціалу як організму в цілому, так і його окремих органів і систем. Внаслідок дихання НГС у переривчастому режимі у дорослих тварин вірогідно підвищується концентрація фетального гемоглобіну, зростає активність вільнорадикальних процесів. Припускаємо, що ці ефекти можуть бути пов'язані із забезпеченням кисневого гомеостазу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян Н.А., Гневнушев В.В., Катков А.Ю. Адаптация к гипоксии и биоэкономика внешнего дыхания. М: Изд. УДН, 1987.-186 с.
2. Алмазов В.А., Рябов С.И. Методы функционального исследования систем крови.-Л:Медгиз.-1963.-220 с.
3. Антоненко В.Т., Борисенко Н.Ф., Чашева А.А., Антоненко Л.И. Роль фетального гемоглобина в адаптации животных и человека к гипоксии.// Мат-лы 2-ой Всесоюзной конференции: «Современные проблемы биохимии дыхания и клиника». Иваново.-1972.- С.425-426.
4. Антоненко В.Т. Фетальный гемоглобин и адаптация к гипоксии. Применение препаратов фетального гемоглобина в лечении гипоксических состояний: Сб. научных тр.-К.: Наукова думка.-1979.-С.31-36.
5. Барбашова З.И., Персианова В.Р. Изменение содержания фетального гемоглобина в крови белых крыс в процессе адаптации к гипоксии// Жур. Эволюционной биохимии и физиологии.-1969.-№ 6.-С.589-591.
6. Березовский В.А. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности. К: Наукова думка, 1978.-215 с.
7. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови //Укр.биохим.жур.-1992.-№2.-С.3-11.
8. Корольок М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е. Метод определения активности каталазы//Лабораторное дело .-1988.-№1.-С.16-18.
9. Кривошеинов С.Г. Физиологические механизмы стимуляции неспецифической резистентности организма.// Мат-лы симпозиума с международным участием «Актуальные проблемы адаптации к природным и экосоциальным условиям среды».-Ульяновск.-2002.-С.96-97.
10. Літовка І.Г. Адаптивна перебудова кісткової тканини при дефіциті навантаження та механізми її відновлення під впливом дозованої гіпоксичної стимуляції. Автореф. дисс.д.б.н: 01.00.13 / Інститут фізіології ім О.О. Богомольця-Київ, 2006.-46 с.
11. Меерсон Ф.З. Общий механизм адаптации и профилактики.-М: Медицина,1973.-366 с.
12. Обухова Л.К. Экспериментальные продление жизни антиоксидантами: Границы возможного //Мат-лы V Международного симпозиума «Биологические механизмы старения».-Харьков.-2002.
13. Петров И.Р. Кислородное голодание головного мозга. (Экспериментальные материалы).-Л: Медгиз, 1949.-210 с.

14. Плахатнюк В.И., Вавилов М.П. Изучение устойчивости организма человека к умеренной гипоксии // Использование газовых гипоксических смесей для оптимизации лучевой терапии злокачественных новообразований.- Обнинск, 1984.-С.85-87.
15. Сіротінін М.М. Життя на висотах і хвороба висоти. - К.: Видавництво Академії наук УРСР, 1939.- 226 с.
16. Стрельцов В.В. О первом стратосферном полете //Вестник воздушного флота.-1933.-№ 10.-С.63-68.
17. Суворова І.М. Вільнорадикальні процеси в мозку і серці дорослих і старих щурів при іммобілізаційному стресі . Автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.04 / Харк. нац. ун-т ім. В.Н.Каразіна. — Харків., 2005. — 19 с.
18. _ Хаггис Дж., Мухи Д. Введение в молекулярную биологию.-М:Мир.-434с.
19. Hallivell B., Cutteridge H.C. The atioxidants of Human extracellular fluids // Arch. Biochem and Biophys.-1990.-V.28, N 3 .- P. 1-8.
20. Haselhorst G.,Stromberg K., Uber den Gasgehalt des Nabelschurbluteg vor und nach der Geburt des Kindes H.Z. Geburts. Gynek., 1930.- V.98, N 1.-P.49-78.

I.G. LITOVKA, E.G. CHAKA

INFLUENCE OF NORMOBARIC HYPOXIA ON BIOCHEMICAL INDICES OF RED BLOOD IN YOUNG AND ADULT RATS

Variations in indices of red blood in three- and nine-month-old male Vistar rats after 28- day oxygen deprivation have been studied. Three groups of animals have undergone testing: I –control group. Rats of the second group received a normobaric gas mixture (NGS) by intermittent operation during 4 hours daily. Rats of third group received NGS uninterruptedly during 1 hour daily. The concentration of fetal haemoglobin positively increased in 3-month-old rats of the third group and in 9-month-old rats of the second group. Activity of ALT in 3-month-old animals of the second group increased 31%, and did not change in 9-month-old rats. The catalase potency positively doubled in 9-month-old rats of the second group, whereas the same indices for the 3-month-old did not differ from the control groups ones. Interrupted normobaric hypoxia is an effective method of the improvement of adaptation potential of young and adult individuals.

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
chaka@biph.kiev.ua

Дата поступлення 05.07. 2008 р.