

УДК636.4: 591.11:577.16

**ДИНАМІКА КОНЦЕНТРАЦІЙ Na^+ І K^+ ПРИ МОДИФІКАЦІЇ МЕМБРАН
ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ПОРОСЯТ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТНОЇ
КОМПОЗИЦІЇ У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗИ**

С. Шаповалов, М. Долгая, В. Цюпко

Інститут тваринництва УААН

вул. 7-ї Гв. Армії, 3, смт Кулиничі, Харківська обл. 62404, Україна

У статті наведено результати дослідження впливу введення підсосним поросятам комплексу композиції металів Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} з N-2,3-диметилфенілантраніловою (мефенаміновою) кислотою на особливості структурно функціональних характеристик біологічних мембран.

Ключові слова: комплекси металів, біологічні мембрани, мембранний транспорт.

Підтримання постійного об'єму внутрішньоклітинного середовища на тлі позаклітинних і внутрішньоклітинних коливань осмотичного тиску – проблема першорядної ваги для усіх клітин. Більшість клітин відповідає набуханням або зморщуванням на активацію специфічних метаболічних і транспортних процесів, які приводять об'єм клітини до норми. Еритроцит має розвинений мембранний комплекс і досконалий рецепторний апарат [5, 7]. Мембрана еритроцитів відображає особливості біохімічного складу мембран різних тканин [3].

Ці процеси необхідні для нормального функціонування та виживання всіх клітин. Осмотична концентрація цитоплазматичної і позаклітинної рідини в нормальних умовах рівні. Зміна концентрації розчиненої речовини в тому чи іншому середовищі створює осмотичний градієнт. Оскільки мембрана клітини проникна для молекул води, створення будь-якого такого градієнта негайно призведе до потоку води з клітини або в неї, щоб відновити порушену осмотичну рівновагу. На зміни об'єму клітини реагують шляхом активації механізмів, які його регулюють. Процес, у результаті якого набрякла або зморщена клітина повертається до нормального об'єму, називається, відповідно, регульоване зменшення або регульоване збільшення об'єму. Об'єм клітини може регулюватися тільки у результаті захоплення або викиду осмотично активних речовин. В основному – це неорганічні іони, наприклад, натрій, калій і хлор. Фактор стабільності мембрани визначається порами у фосфоліпідному шарі. Ці пори утворюються в місцях дефектів рідкокристалічної структури ліпідного бішару. Якщо ліпідна пора не перевищує деякий критичний розмір, то структура зберігається. Мінімальні розміри ліпідних пор можуть досягати розмірів вибіркових білкових каналів, які у нормі регулюють іонну проникність клітинних мембран [3, 6]. Фактор цілісності мембрани визначається біохімічними процесами. В останні роки фахівці приділяють велику увагу розробці засобів, які модулюють імунні реакції організму. Стало очевидним, що позитивний вплив різних речовин можна пояснити їхньою здатністю підвищувати загальну опірність організму або його неспецифічний імунітет, а також впливати на специфічні імунні реакції [7, 8]. Віддзеркаленням неспецифічної резистентності є система крові. Остання відіграє роль ефektorів і бере участь завдяки особливій реактивності в реалізації адаптаційно-трофічних впливів для збереження сталості внутрішнього середовища організму [3, 6]. Підвищення

© С. Шаповалов, М. Долгая, В. Цюпко 2011

загальної опірності організму здійснюється під впливом ряду стимулювальних препаратів. До речовин, що виявляють дану здатність, відносять і комплекси мікроелементів ферментативної дії. У літературі є відомості про те, що утворення даного комплексу сприяє синтезові нуклеїнових кислот, білків, збільшує активність імунної системи. Механізм їхнього антиоксидантного ефекту пов'язаний з пригніченням перекисного окислення жирних кислот, а також з порушенням утворення супероксидних радикалів. Дані препарати володіють захисним ефектом на цитоплазматичному та субклітинному рівні щодо вільних радикалів, які є продуктами активованих клітин (макрофагів, нейтрофілів). Метою цієї роботи стала оцінка функціонального стану мембран еритроцитів порослят раннього постнатального онтогенезу за умов введення мікроелементної композиції.

Було сформовано 2 групи клінічно здорових порослят за принципом аналогів (вік, маса, стать), по 12 голів у кожній. Обидві групи перебували на підсоді в однакових умовах утримання. Дослідну групу фарбували стійким червоним барвником і щоденно вводили на 2, 7, 21, 30-ту добу по 20 мг на 1 кг маси тіла препарату «Біотам», що містить композицію мікроелементів, у якій містяться індивідуальні комплекси металів Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} з N-2,3-диметилфенілантраніловою (мефенаміною) кислотою. Вміст мікроелементів у 1 грамі: Zn^{2+} – 17 мг, Cu^{2+} – 3,7 мг, Co^{2+} – 0,35 мг, Cr^{3+} – 0,3 мг, Fe^{3+} – 14,5 мг, Mn^{2+} – 4 мг, N-2,3-диметилфенілантранілової кислоти – 412 мг, глюконат кальцію – 180 мг та крохмаль, цукор, аеросил до 1 г. Природа і мольне співвідношення мікроелементів, які входять до композиції, відповідають їхньому складу в металовмісних ферментах. Таким чином дослідній групі було додатково введено протягом досліду 500 мг препарату на кожну голову. На 7, 14-ту добу проводили відбір крові безпосередньо зі серця, яку стабілізували гепарином. На 35-ту добу тварин було забито. У крові визначали концентрацію іонів K^+ та Na^+ методом полум'яної фотометрії на FLAPHO-4 [1].

Відтік іонів Na^+ і K^+ за градієнтами їх концентрацій через еритроцитарну мембрану за відсутності її модифікацій незначний, і активність проти градієнтів концентрацій іонів також надзвичайно низька. При введенні препарату змінюється трансмембранний градієнт вмісту іонів. Було показано, що препарат не впливає на перфорацію мембрани з порушенням біліпідного шару і подальшим швидким лізісом (табл.).

Динаміка концентрацій іонів K^+ та Na^+ у крові порослят раннього постнатального онтогенезу за умов введення препарату «Біотам»

Показники	Групи	Тривалість, доба		
		7	14	35
K^+ плазми, мМ/л	К	6,03±0,250	5,50±0,21	5,94±0,38
	Д	6,27±0,250	5,64±0,25	7,81±0,74*
Na^+ плазми, мМ/л	К	384,2±7,92	342,8±10,10	416,3±20,3
	Д	410,2±3,50	366,2±38,24	378,0±15,0
K^+ еритроцитів, мМ/л	К	91,74±3,09	92,32±4,69	98,50±0,55
	Д	80,56±2,75*	88,70±1,69	92,50±1,11*
Na^+ еритроцитів, мМ/л	К	38,88±3,02	39,54±0,72	39,66±1,98
	Д	44,84±0,75	42,58±0,94*	45,96±1,74*
Na^+/K^+ плазми	К	64,10±5,20	62,68±2,59	70,20±2,48
	Д	65,80±3,46	64,50±5,11	49,56±6,19***
K^+/Na^+ еритроцитів	К	2,44±0,21	2,20±0,10	2,34±0,15
	Д	1,79±0,05	2,08±0,02	2,01±0,11

Примітка. *, **, *** – достовірні розходження з групою контрольних тварин відповідно при $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$.

Одночасно було показано, що рівень K^+ плазми крові у дослідній групі був на 7-му добу на 3,8%, а на 14-ту добу на 2,5% вищим, ніж у контролі. А на 35-ту добу цей рівень

був вищим майже на 24%. Концентрація K^+ еритроцитів крові на 7-му добу була меншою в дослідній групі на 14%, на 14-ту добу на 4%, а на 35-ту добу на 6,5%. Таким чином, природне накопичення іонів K^+ проти градієнта концентрації в клітині сприяє активізації різних біохімічних процесів, а зокрема біосинтезу білку. Відомо, що незалежно від типу гемолізу розпаду еритроцитів передують їхня сферуляція і розбухання до певного рівня, допустимого оболонкою клітини. Це відповідає даним, за якими результатом процесу гемолізу є перевищення внутрішньоклітинної осмотичної концентрації над зовнішньою і розрив оболонки внутрішнім осмотичним тиском [2, 5]. У прегемолітичній стадії відбувається вихід іонів калію з клітини в навколишнє середовище, а також сферуляція еритроцитів. У стадії осмотичного гемоглобінолізу еритроцит набухає за межі критичного об'єму, що призводить до пошкодження поверхні та виходу більшої частини гемоглобіну в плазму. У даному випадку показано, що введення препарату сприяє стабілізації співвідношення K^+ як усередині клітини, так і ззовні, зменшуючи при цьому здатність до активації процесу гемолізу. За рядом досліджень [2] описується такий ефект: Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} сорбуються на мембрані, змінюють її проникність для води та іонів, а також механічні властивості. У наших дослідженнях рівень Na^+ плазми крові був вищим у дослідній групі на 7-му та 14-ту добу на 6%, а на 35-ту добу зменшився на 10%. Так само було показано збільшення внутрішньоклітинного вмісту іонів Na^+ еритроцитів крові. Його рівень був вищим у дослідній групі на 13% на 7-му та 35-ту добу і на 7% на 14-ту добу, що свідчить про скорочений час циркуляції еритронів у кров'яному руслі й утворення більш молодих еритроцитів, а також про збільшення осмотичної резистентності мембран. В умовах уведення поліядерних сполук аналіз отриманих даних показав, що максимальний вміст натрію у плазмі крові спостерігався в дослідній групі тільки на 7-му добу. Це може бути пов'язане з розвитком дегідративних процесів. При цьому виявлено значне збільшення вмісту натрію в еритроцитах дослідної групи протягом усіх періодів дослідження. Як відомо, градієнт натрію на зовнішній мембрані є одним із регуляторів активності Na - K залежної АТФ-ази еритроцитів. Порівняльний аналіз показав, що зростання трансмембранної різниці іонів натрію в еритроцитах, яке визначається коефіцієнтом накопичення, ймовірно, є реакцією, котра компенсує достовірне зменшення еритроцитарного вмісту калію. Це свідчить про тенденції стабілізації іонів натрію в еритроцитах. Співвідношення K^+/Na^+ еритроцитів протягом усього досліду було меншим у дослідній групі. Так, на 7-му добу це співвідношення було меншим на 36%, на 14-ту добу на 6%, а на 35-ту добу на 16%. Співвідношення Na^+/K^+ плазми було на 7-му та 14-ту добу вищим у дослідній групі на 2,6–2,8%, а на 35-ту це співвідношення зменшувалося на 40%.

У результаті проведення досліджень було показано, що введення мікроелементної композиції есенційних мікроелементів впливає на особливості структурно-функціональних характеристик біологічних мембран, як інформативного показника різних фізіологічних станів організму: активацію накопичення плазматичного K^+ та зменшення його концентрації в еритроцитах, збільшення Na^+ в еритроцитах і співвідношення K^+/Na^+ еритроцитів. Подальші дослідження в даному напрямі дадуть змогу об'єктивно характеризувати динаміку мембранного транспорту, енергоутворення, структурної організації, контактних властивостей та інших характеристик мембран.

1. Абдулаев Л. М., Рзеев Н. А., Алиментов С. Н. Определение содержания Na^+ , K^+ и Ca^{2+} в плазме, эритроцитах, моче и желчи методом пламенной фотометрии // Азерб. мед. журн. 1972. № 7. С. 11–15.
2. Гончаренко М. С. Барьерно-транспортные свойства мембран и энергетический метаболизм клеток крови при повышенной пролиферативной активности эпидермиса: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1988. 365 с.

3. *Зенков Н. К., Меницикова Е. Б., Вольский Н. Н.* Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Усп. совр. биологии. 1999. № 5. С. 440–450.
4. Мембраны и болезнь / Под ред. Л. Болис, А. Коффмана. М.: Медицина, 1980. 316 с.
5. *Тихомирова И. А., Гусева Е. П., Петроченко А. С.* Мембранные свойства эритроцитов и адренореактивность организма в норме и при патологии // Ангиология и сосудистая хирургия: Материалы II Всерос. конф. с международн. участием «Микроциркуляция в клинической практике», Москва, 19–20 апреля 2006. С. 54.
6. *Betahols C., Westermarck B.* Growth factor-induced proliferation of human fibroblasts in serum-free culture depends on cell density and extracellular calcium concentration // J. Cell. Physiol. 1984. Vol. 118. P. 203–210.
7. Cation distribution in blood, barrier and transport properties of erythrocyte membranes in psoriasis // Studia biophysica. 1988. N 3. P. 98–124.
8. *Farber J.* The role of calcium in cell death // Life Sci. 1981. Vol. 29. N 13. P. 1289–1295.

Стаття: надійшла до редакції 04.08.10

доопрацьована 01.12.10

прийнята до друку 03.12.10

CHANGES IN CONCENTRATION OF Na⁺ AND K⁺ IN MEMBRANE MODIFICATIONS OF BLOOD ERYTHROCYTES FOR EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS PIGS INJECTED BY MICROELEMENTS COMPOSITION

S. Shapovalov, M. Dolgaia, V. Tsiupko

Institute of Animal Sciences UAAS

3, 7th Guards. Army St., Kharkiv Region Kulynychi 62404, Ukraine

The investigation results of influence of injection to suckling piglets of microelement complex with 2,3-dimethylphenylalanine acid on structure-functional characteristics of biological membranes are in this article.

Key words: metal complex, biological membranes, membrane transport.

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИЙ Na⁺ И K⁺ ПРИ МОДИФИКАЦИИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПОРОСЯТ ПРИ УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОЙ КОМПОЗИЦИИ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

С. Шаповалов, М. Долгая, В. Цюпко

Институт животноводства УААН

ул. 7-й Гв. Армии, 3, пгт Кулинич, Харьковская обл. 62404, Украина

В статье приведены результаты изучения влияния введения подсосным пороссятам комплекса композиции микроэлементов Zn²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ с мезенгиновой кислотой на особенности структурно-функциональных характеристик биологических мембран.

Ключевые слова: комплексы металлов, биологические мембраны, мембранный транспорт.