

УДК: 57.017.647

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ТАУРИНУ НА ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ

Р. Остапів^{1,2}, Х. Скиба¹, В. Манько¹

*¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*²ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок
вул. Донецька, 11, Львів 79019, Україна
e-mail: romostapiv@gmail.com*

Досліджено вплив тривалого перорального введення таурину на фізіолого-біохімічні показники крові щурів як маркери функціонального стану організму тварин. Дослідження проведені на самцях щурів лінії Wistar (n=16) віком 4 місяці та масою 140–160 г. Тварин розділяли на чотири групи (по n=4) – контрольну, шурам якої протягом 28 днів щоденно вводили у стравохід питну воду (контроль), і три дослідні, яким вводили 5 (I дослідна група), 10 (II дослідна група) та 20 (III дослідна група) мг таурину/кг маси тіла. Встановлено, що у тварин II дослідної групи зростає вміст гемоглобіну як у цільній крові, так і в одному еритроциті. У щурів II та III дослідних груп швидкість оксигенації гемоглобіну зростає щодо контролю у 1,5 та 2,5 рази відповідно, а концентрація глюкози у плазмі крові знижується на 36,7 та 18,4 %. Вміст холестерину у плазмі крові щурів усіх дослідних груп залишається на рівні контролю, а активність лактатдегідрогенази у цільній крові зростає. У плазмі крові тварин III дослідної групи знижується активність лужної фосфатази й аланінамінотрансферази. Активність аспартатамінотрансферази у плазмі крові тварин усіх дослідних груп не відрізняється від значень контролю. За таких умов коефіцієнт де Рітуса зростає у щурів I та III дослідних груп. Обговорюється роль таурину як активатора метаболізму.

Ключові слова: таурин, кров, щурі, глюкоза, швидкість оксигенації гемоглобіну, лактатдегідрогеназа, еритроцити, гемоглобін

Відомо, що таурин використовується у харчовій промисловості в дозах 5–20 мг на літр чи кілограм продукту і що його споживання не є строго регламентованим [5] і може мати як позитивний, так і негативний впливи на організм людини і тварин. Виявлено, що високі дози таурину за тривалого введення порушують гомеостаз крові у щурів. Так, за перорального введення таурину протягом 30–60 днів у дозах 40–500 мг/кг знижується вміст гемоглобіну у крові та в одному еритроциті [5], однак зростає кількість еритроцитів [3], що може спричинити порушення дихальної функції крові. За тривалого перорального введення доз 250 та 500 мг/кг знижується кількість тромбоцитів і лімфоцитів, але збільшується кількість нейтрофілів, що вказує на зміни у захисних функціях крові. При цьому високі дози таурину мають і позитивний вплив. Так, за тривалого перорального введення таурину у щодобовій дозі 40 мг/кг протягом 30 днів знижуються концентрація глюкози та вміст глікозильованого гемоглобіну [6], а систолічний тиск зростає [7]. За випоювання 2 %-ного розчину таурину знижується концентрація холестерину у крові [17]. Крім цього, за 60-добового перорального введення таурину (40 мг/кг) зростає активність ензимів антиоксидантного захисту і знижується вміст продуктів перекисного окиснення у цільній крові шу-

рів [5]. Виявлено, що навіть одноразове введення таурину в дозі 43 мг/кг має позитивний ефект – знижує периферичний опір судин і релаксацію кільця аорти у щурів [7].

Отже, ефекти таурину в різних дозах є і позитивними, і негативними. Важливо встановити, у якій дозі позитивні ефекти таурину будуть домінувати над негативними. Метою роботи було дослідити вплив тривалого перорального введення таурину в низьких дозах (5–20 мг/кг) на фізіолого-біохімічні показники крові щурів, визначити оптимальні дози таурину й ефекти, які вони спричиняють.

Матеріали та методи

Дослідження проведені на самцях щурів лінії Wistar віком 4 місяців та масою 140–160 г. Тварин розділяли на чотири групи – контрольну (n=4), щурам якої протягом 28 діб щоденно вводили у стравохід питну воду (контроль), і три дослідні (по n=4), щурам якої вводили таурин у дозах [8]: 5 – I дослідна, 10 – II дослідна та 20 мг/кг маси тіла – III дослідна групи. На 29-ту добу експерименту щурів декапітували під легким ефірним наркозом, відбирали кров (у пробірку з гепарином) і визначали кількість еритроцитів підрахунком у камері Горяєва. Вміст гемоглобіну у крові визначали гемігلوبінціанідним методом [2], а швидкість оксигенації гемоглобіну – полярографічно. У комірку полярографа додавали 0,98 мл фосфатно-сольового буферу (склад: NaCl – 0,137 моль/л, KCl – 2,68 ммоль/л, Na₂HPO₄ – 7,74 ммоль/л, KH₂PO₄ – 1,47 ммоль/л, MgCl₂–1,05 ммоль/л, рН 7,2) та 0,02 мл цільної свіжовідібраної крові, після чого реестрували поглинання кисню. Активність лактатдегідрогенази у цільній крові (ЛДГ) досліджували за швидкістю окиснення НАДН [4]. Цільну кров центрифугували протягом 5 хв за 2000 g, відбирали плазму, в якій визначали: концентрацію глюкози глюкозооксидазним методом, холестерину методом Златкіс-Зака, активності: лужної фосфатази (ЛФ) – реакцією з бета-гліцерофосфатом натрію [4], аспартат- (АСТ) і аланінамінотрансфераз (АЛТ) – за методом Рейтмана та Френкеля [16]. Розраховували коефіцієнт де Рітіса (відношення активностей АСТ/АЛТ) і вміст гемоглобіну в одному еритроциті (відношення вмісту гемоглобіну до кількості еритроцитів у 1 л крові) (див. таблицю).

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що тривале пероральне введення таурину дозою 40 мг/кг приводить до зростання кількості еритроцитів у крові щурів [3]. Нашими дослідженнями встановлено, що за введення доз таурину 5–20 мг/кг кількість еритроцитів у крові тварин не змінюється порівняно до контролю (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив таурину на фізіолого-біохімічні показники крові щурів, M±m

Показник	Група тварин			
	Контроль	I (5мг/кг)	II (10 мг/кг)	III (20 мг/кг)
Кількість еритроцитів, 10 ¹² /л	8,45±0,32	8,41±0,57	8,50±0,32	7,73±0,10
Вміст гемоглобіну, г/л	111,7±4,7	121,0±14,6	130,1±5,4*	106,0±8,4
Вміст гемоглобіну в одному еритроциті, пг/еритроцит	13,2±0,2	14,3±0,8	15,3±0,6*	13,6±1,28
Швидкість оксигенації гемоглобіну, ммоль O ₂ / (хв×г гемоглобіну)	0,12±0,02	0,10±0,01	0,18±0,01**	0,30±0,03*
Концентрація глюкози, ммоль/л	9,22±0,54	7,92±0,24	5,84±0,39**	7,52 ±0,13*
ЛДГ мкатал/л	1,71±0,14	4,62±0,47**	2,46±0,26*	2,83±0,25*
Концентрація холестерину, ммоль/л	1,54±0,15	1,54±0,11	1,91±0,05	1,58±0,07
ЛФ, МО/мл	5,90±0,63	5,00±0,88	4,83±1,07	3,56±0,42*
АСТ, мкмоль/год×мл	1,72±0,04	1,81±0,02	1,76±0,11	1,73±0,05
АЛТ, мкмоль/год×мл	1,36±0,02	1,32±0,02	1,33±0,04	1,18±0,03*
Коефіцієнт де Рітіса, в.о.	1,27±0,03	1,36±0,01*	1,33±0,08	1,47±0,06*

Примітка: * – статистично вірогідна різниця щодо показників контрольної групи з P<0,05; ** – з P<0,01

У крові тварин II дослідної групи на 16,5 % зростає вміст гемоглобіну, що в підсумку приводить до підвищення на 15,9 % гемоглобіну в одному еритроциті. Це вказує на збільшення потреби організму в кисні та, можливо, на інтенсифікацію окисних процесів. На користь цього припущення свідчить і зростання у 1,5 та 2,5 разу швидкості оксигенації гемоглобіну та зниження на 36,7 і 18,4 % концентрації глюкози у крові щурів II та III дослідних груп. Активність ЛДГ у цільній крові щурів I дослідної групи зростає утричі, а у щурів II та III дослідних груп, відповідно, на 43,0 та 65,5 % порівняно з контролем, що також свідчить про інтенсифікацію окисного метаболізму. Зростання активності ЛДГ (особливо за дози 5 мг/кг) є вищим, ніж за високих доз таурину (40 та 100 мг/кг) [14].

Відомо, що випоювання 0,5–2 %-ного розчину таурину (за умови, що один щур у середньому п'є 10–14 мл на день, то денна доза таурину на щура становить 62,5–250 мг/кг) протягом 30 діб щурам, яким згодовували корми з високим вмістом холестерину, знижувало концентрацію холестерину в крові. Таке ж зниження під впливом таурину було зареєстровано й у крові контрольних тварин [15]. Однак у нашому досліді за введення таурину 5–20 мг/кг не виявлено змін концентрації холестерину у плазмі крові, що може бути зумовлене нижчими дозами таурину.

Зростання активностей ЛФ, АСТ й АЛТ у плазмі крові є маркерами пошкодження органів і тканин [16]. Зокрема, зростання активності ЛФ у плазмі крові вказує на ураження жовчних проток печінки та пошкодження цитоплазматичної мембрани лейкоцитів [9]. Підвищення активності АСТ свідчить про ураження гепатоцитів [11], а АЛТ – клітин міокарда [9]. Нами зареєстровано, що тривале пероральне введення таурину в дозі 20 мг/кг знижує на 39,7 % активність ЛФ у плазмі крові щурів щодо контролю. Аналогічно, у III групі щурів активність АЛТ у плазмі крові була на 13,2 % нижчою. Активність АСТ у плазмі крові всіх дослідних груп тварин виявилася на рівні контролю. У тварин I та III дослідних груп на 6,6 і 13,6 % зростає коефіцієнт де Рітіса.

Отже, введення щурам таурину протягом 28 діб дозою 10 мг/кг підвищує вміст гемоглобіну як у крові, так і в одному еритроциті. Відомо, що таурин здатний інтенсифікувати метаболізм [10], і, відповідно, зростає потреба організму в кисні, що веде до збільшення кількості гемоглобіну у крові. Це також пояснює підвищення швидкості оксигенації гемоглобіну у щурів II дослідної групи. На користь гіпотези про інтенсифікацію метаболізму свідчить і зниження концентрації глюкози. У щурів III дослідної групи швидкість оксигенації гемоглобіну найвища, а його вміст на рівні контролю. Такий ефект введення таурину можливий за рахунок нижчого насичення крові киснем або збільшення спорідненості гемоглобіну до кисню. Останнє може відбуватися за рахунок модифікації структури білка [11]. Однак, імовірно, зареєстроване нами збільшення швидкості оксигенації гемоглобіну спричинене вищим ступенем дезоксигенації гемоглобіну у крові дослідних тварин унаслідок інтенсифікації метаболізму. Про це свідчить і зростання активності ЛДГ у крові щурів усіх дослідних груп, оскільки цей ензим в еритроцитах перетворює лактат на піруват. Активність метаболізму в організмі може мати як позитивні наслідки – зростання забезпечення енергією, так і негативні – ураження активними формами кисню клітин [13]. Крім цього, інтенсифікація метаболізму за перорального введення таурину в організм тварин підтверджується зниженням концентрації глюкози у крові. Іншою причиною зниження глюкози може бути зростання секреції інсуліну підшлунковою залозою за впливу таурину [17].

Отже, тривале пероральне введення низьких доз таурину інтенсифікує метаболізм, що проявляється у зростанні вмісту і швидкості оксигенації гемоглобіну, активності ЛДГ та зниженні концентрації глюкози. При цьому за 10 і 20 мг/кг живої маси таурин нормалізує

обмінні процеси, що характеризується зниженням активностей ЛФ і АЛТ у плазмі крові дослідних тварин. Тому дози 10 і 20 мг/кг є оптимальними для забезпечення кращого функціонування організму та нормалізації обмінних процесів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 504–591.
2. Левченко В. І., Головаха В. І., Конорахін І. П. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / за ред. В.І. Левченка. К.: Аграрна освіта, 2010. С. 271–292.
3. Остапів Р. Д., Кисців О. С., Манько В. В. Вплив тривалого перорального введення таурину на фізіологічні показники щурів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 69. С. 247–255.
4. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / за ред. В.В. Влізло. Львів, 2004. С. 56–66.
5. Anand P., Rajakumar P., Felix J. W. et al. Effects of oral administration of antioxidant taurine on hematological parameters in Wistar rats // Pakistan J. Biol. Sci. 2010. Vol. 13. P. 785–793.
6. Cherif H., Reusens B., Dahri S. et al. Stimulatory effects of taurine on insulin secretion by fetal rat islets cultured in vitro // J. Endocrinol. 1996. Vol. 151. P. 501–506.
7. El Idrissi A., Okeke E., Yan X. et al. Taurine regulation of blood pressure and vasoactivity // Adv. Exp. Med. Biol. 2013. Vol. 775. P. 407–425.
8. Huxtable R. J. Physiological actions of taurine // Physiol. Rev. 1992. Vol. 72. P. 101–160.
9. Kaplan M. M. Serum alkaline phosphatase-another piece is added to the puzzle // Hepatology. 1986. Vol. 6. N 3. P. 526–528.
10. Lambert I. H., Kristensen D. M., Holm J. B. et al. Physiological role of taurine – from organism to organelle // Acta Physiol. 2015. Vol. 203. P. 191–202.
11. Lang F., Lang E., Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis // Transfus. Med. Hemother. 2012. Vol. 39. N 5. P. 308–314.
12. Nandhinia A., Balakrishnana S. D., Anuradha C. V. Taurine improves lipid profile in rats fed a high fructose-diet // Nutrition Research. Vol. 22. P. 343–354.
13. Ostapiv R. D., Manko V. V. Antioxidant defense of rat organism at long-term per oral taurine injection // Studia Biologica. Vol. 9. P. 59–70.
14. Ostapiv R. D., Humenyuk S. L., Manko V. V. Activity and isozyme content of lactate dehydrogenase under long-term oral taurine administration to rats // Ukr. Biochem. J. 2015. Vol. 87. N 4. P. 54–62.
15. Pushpakiran G., Mahalakshmi K., Anuradha C. V. Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidants and attenuates oxidative stress in rat tissues // Amino Acids. 2004. Vol. 27. P. 91–96.
16. Reitmann S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic puruvic transaminases // Amer. J. Clin. Path. 1957. Vol. 28. N 1. P. 56–63.
17. Ribeiro R. A. Taurine supplementation enhances nutrient-induced insulin secretion in pancreatic mice islets // Diabetes Metab. Res. Rev. 2009. Vol. 25. N 4. P. 370–379.

Стаття: надійшла до редакції 31.10.16

доопрацьована 16.02.17

прийнята до друку 09.03.17

EFFECT OF LONG-TERM PERORAL TAURINE INJECTION ON BLOOD INDEXES OF RATS

R. Ostapiv^{1,2}, Chr. Skyba¹, V. Manko¹

¹*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

²*SCIVP of Veterinary Medical Products and Feed Additives
11, Donetska St., Lviv 79019, Ukraine
e-mail: romostapiv@gmail.com*

Researches on influence of long-term peroral taurine injection on physiological and biochemical blood parameters of rats, as indexes of functional state of animal organism, were carried out. Researches were conducted on male Wistar rats (n=16) that were 4 months old and with weight 140–160 g. Animals were divided into four groups (4 rats in each) – control, animals of which were injected in esophagus daily, once a day drinking water, and three experimental groups that were injected 5 (I experimental group), 10 (II experimental group) та 20 (III experimental group) mg of taurine/kg of body weight. It was registered, that in II experimental group content of hemoglobin in whole blood and in one erythrocyte was higher than in control group. Also, in rats of II and III experimental groups blood oxygenation speed increased in 1.5 and 2.5 times, and in blood plasma concentration of glucose decreased on 36.7 та 18.4 %. Content of cholesterol in blood plasma was on control levels, but activity of lactate dehydrogenase in whole blood was higher in all experimental groups. In blood plasma of III experimental group activity of alkaline phosphatase decreased. Activity of aspartate transaminase was on control levels, and de Ritis ratio increased in I and III experimental groups. Role of taurine as oxidative metabolism activator is discussed.

Keywords: taurine, blood, rats, glucose, blood oxygenation speed, lactate dehydrogenase, red blood cells, hemoglobin