

16. Protein measurement with the Pholin phenol reagent / O.H. Lowry, K.I. Rosenbrough, A.L.Farr et al. // J. Biol. Chem. – 1955. – Vol. 193, № 1. – P. 265 – 267.
17. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials / E. Marzetti, R. Calvani, M. Cesari et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2013. – Vol. 45, № 10. – P. 2288– 22301.
18. Doria G. Updating the mitochondrial free radical theory of aging: an integrated view, key aspects, and confounding concepts / G. Doria //Antioxidants and Redox signaling. – 2013. – Vol. 19, № 12. – P. 1420 – 1445.
19. Zimniak P. Relationship of electrophilic stress to aging / P. Zimniak // Free Radic. Biol. Med. – 2011. – Vol. 51, № 6. – P. 1087 – 1105.
20. Fritz S.F. An overview of chemistry and biology of reactive aldehydes / S.F. Fritz, D.R. Petersen // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – Vol. 59, № 2. – P. 85 – 91.
21. Pathological aspects of lipid peroxidation / A. Negre-Salvayre, N. Auge, V. Ayala et al. // Free Radical. Res. – 2010. – Vol. 44, № 10. – P. 1125 – 1171.
22. Davydov V.V. Possible role of aldehyde,s scavenger enzymes during aging / V.V. Davydov, N.M. Dobaeva, A.I. Bozhkov // Exp. Gerontol. – 2004. – Vol. 39. – P. 11 – 16.

УДК [576.3:546.47]:502.55(203)(477.64-2)+612:014.1:576.32:159.944.4

НАДНИРНИКИ ЯК ЕФЕКТОР СТРЕСУ ТА ЇХ ВПЛИВ НА МЕТАЛОЛІГАНДНИЙ ГОМЕОСТАЗ

Єщенко Ю.В., Кучковський О.М., Бовт В.Д., Бондарюк О.А., Омелянчик В.М.

Запорізький національний університет

69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66

olegk181@gmail.com

Відомо, що гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система впливає на більшість гомеостатичних процесів, при цьому питання про вплив окремих органів цієї системи на металолігандний гомеостаз мало вивчене. Надниркові залози як ефектор стресу впливають на металолігандний гомеостаз безпосередньо, оскільки адrenaлектomia викликає в клітинах, що містять хелатоутворюючі метали, зниження змісту Zn і Mg та підвищення змісту Cu. Спроба скорегувати ці зміни введенням адrenaлектомованим тваринам синтетичних аналогів стресових гормонів не дозволяє це зробити. Спроби впливати на показники металолігандного гомеостазу гострим стресом також не призводили до нормалізації цих показників. Усе це свідчить про те, що функціональну недостатність одного з ефекторів стресу можуть частково скорегувати своєю роботою інші, але при цьому гомеостатичні процеси, у тому числі металолігандний гомеостаз порушується безповоротно.

Ключові слова: Zn, Mg, Cu, клітини, що містять хелатоутворюючі метали, ефектори стресу, наднирники

НАДПОЧЕЧНИКИ КАК ЭФФЕКТОР СТРЕССА И ИХ РОЛЬ В МЕТАЛЛОЛИГАНДНОМ ГОМЕОСТАЗЕ

Ещенко Ю.В., Кучковский О.Н., Бовт В.Д., Бондарюк О.А., Омелянчик В.Н.

Запорожский национальный университет,

69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66

olegk181@gmail.com

Известно, что гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система влияет на большинство гомеостатических процессов, при этом вопрос о влиянии отдельных органов этой системы на металлолигандный гомеостаз мало изучен. Надпочечники как эффектор стресса влияют на металлолигандный гомеостаз непосредственно, т.к. адrenaлектomia вызывает в клетках, содержащих

хелатообразующие металлы, снижение содержания Zn и Mg и повышение содержания Cu. Попытка скорректировать эти изменения введением адреналэктомизированным животным синтетических аналогов стрессовых гормонов не позволяет это сделать. Попытки влиять на показатели металлोलигандного гомеостаза острым стрессом также не приводили к нормализации этих показателей. Все это свидетельствует о том, что функциональную недостаточность одного из эффекторов стресса могут частично скорректировать своей работой другие, но при этом гомеостатические процессы, в том числе металлोलигандный гомеостаз нарушается необратимо.

Ключевые слова: цинк, магний, медь, клетки, содержащие хелатообразующие металлы, эффекторы стресса, надпочечники.

SUPRARENAL GLANDS AS THE EFECTOR OF STRESS-REACTION AND THEIR INFLUENCE ON METALLOLIGAND HOMOEOSTASIS

Eshchenko Yu.V., Kuchkovsky O.M., Bovt V.D., Bondaruyk O.A., Omeljanchik V.M.

Zaporizhzhya national university

69600, Ukraine, Zaporozhye, st. Zhukovsky, 66

olegk181@gmail.com

Peripheral glands are closely connected as with each other as with central endocrine glands and neuronal. Besides, the connection of endocrine system with immune system has been proved, that is why it is necessary to speak about neuro-immuno-endocrine regulation of the human organism homeostasis (immune, endocrine, metalloligande).

It is known that when one endocrine gland is damaged by any disease, disfunction is observed in others. If several glands are damaged, the state is called polyglandular endocrinopathy.

The hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA-axis) and the systemic sympathetic and adrenomedullary system are the peripheral limbs of the stress system, their main function is to maintain basal and stress-related homeostasis. The stress system is active when the body is at rest responding to many circadian, neurosensory, blood-born and limbic signals. Activity of the stress system increases arousal acceleration motor reflexes, improves attention and cognitive function, decreases appetite and sexual arousal. The activated system also changes cardiovascular function and intermediary metabolism.

Zn, Mg, Cu are essential for activity of a number of enzymes and also support the integral structure and functioning of biomembranes. There is a possibility that toxic agents can alter enzyme activity and membrane permeability of cells through alteration of zinc status. Hydrogen sulfide and toxic metals can be assigned to this group of agents. They are capable to remove zinc ion from biological cell and alter cells. It is known that several diseases are connected with Zn, Mg deficiency e.g. skin lesions, diabetes, retardation of growth and development and condition of depression. Zinc deficit in blood granulocytes may be one of the sign of immunodeficiency which promotes the developments of colds, tumors and other pathological states.

The issue of functional connection between stress-factors and cells containing of chelatable metals has been described on the basis of some facts. So the quantity of Zn, Mg, Cu in the cells may serve as the indicator of their functional state. We used highly sensitive selective cytochemical reaction for determination. The comparative investigation of these metals Zn, Mg, Cu containing in cells chelatable metals was carried out on the basis of various functional states of these formation. Depression adrenal glands function was influenced by adrenalectomy.

Adrenalectomy causes the decline of zinc maintenance in the cells which contained chelatable metals and this fact has been observed in the experiments on rats. The loss of zinc of these cells has been partly compensated by the injection of adrenalin and dexametason to the adrenalectomized animals. The increase of zinc maintenance in these cells has been caused by the sharp-stress process due to the simultaneous hypoxia. The given data prove the participation of adrenal glands in the mechanism of zinc exchanges regulation in central (HHAS) and peripheral helatable metals-containing organs of animals.

Zinc-contained tissues of brain have been investigated on the frozen section of the brain and deparaffinized section of other tissue were fluorochromized by the liquid with 0,01% acetone solution of 8-TSQ and then were washed in distilled waster, concluded in glycerin and were examined in luminescent microscope (light filters V-1, Y-18). All these tissues gave yellow-green luminescence on sections.

Before cytochemical reactions blood smears were being fixed during 5 minutes in ascending formalin vapour and were stained with 0,2% water-ammoniac solution of dithizone. The time of fixation was 3 hours. Red granules were revealed in cytoplasm of blood granulocytes. Their amount is the indicator of content of zinc in the cells.

For the cytochemical investigation of secretory material in granular leukocytes blood smears were being stained by 1% water solutions of methyl green and eosine during 30 minutes sequentially. The slides of violet granules were revealed in neutrophils, red ones in eosinophils and blue ones in basophiles.

Pieces of pancreas were being fixed in cold acetone during 12 hours (for cytochemical determination of zinc in pancreatic islets) and in Bowin's fluid during 24 hours under the room temperature (for cytochemical

determination of insulin). Pieces fixed in acetone were run through xylols, mix of xylols and paraffin, liquid paraffins and were embedded in paraffin. Pieces fixed in Bowin's fluid were embedded in paraffin.

Paraffin sections were prepared 5-10 μm thick. Sections prepared from the acetone fixed pieces were deparaffinized by carrying out through xylols, acetones, distilled water. Then they were treated with 0,01% acetone solution of 8-(p-toluensulfonylamino)-quinoline (8-TSQ) and examined with luminescent microscope. Yellow-green luminescent granules were revealed in cytoplasm of pancreatic beta cells on the slides. Intensity of luminescent reaction served as the indicator of zinc content in these cells.

Deparaffinized sections of pancreas fixed in Bowin's fluid sequentially were carried out through oxidizer, reducer and stain with aldehyde fuchsin. The slides of blue-violet granules were revealed in pancreatic B cells. The amount of granulation is the indicator of insulin content in the cells.

The intensity of cytochemical reactions was evaluated with semiquantitative method. One point was given for a slight positive reaction, two points for a moderate one, and three points for a high intensive reaction. According to the calculation on 100 cells we estimated arithmetic average value (\bar{X}), error ($m_{\bar{x}}$), probability (p).

Zinc, magnesium and copper content changes were investigated in blood granulocytes under immobilization. The decrease of Zn and Mg and the increase of copper concentration were revealed after adrenalectomy. This fact proves that Zn and Mg are synergists but Cu is their antagonist. These changes correction was noted after adrenaline and dexametazone injection.

It has been proved that stress-affecters regulate metaloligand homeostasis. Such factors prove: 1) functional state change of stress-affecters always reflects changes of metaloligand homeostasis indexes; 2) artificial stress brings to changes of metal content in blood and plasma cells, so these changes intensification depends on working out and entering some substance taking part in stress-reaction creation in blood; 3) the central regulator of metaloligand homeostasis is a central stress-affecters – hippocampus and HNAS, so they are linked in reciprocal interrelationships.

Key words: Zn, Mg, Cu, chelatable metals, chelators, stress, adrenalectomy, affectors of stress.

ВСТУП

Надирники – джерело майже 60 стероїдних, катехоламінових і пептидних гормонів. Це єдині виробники глюко- і мінералокортикоїдів, головні продуценти андрогенів у жіночому організмі, найважливіші ефектори стресу – типової неспецифічної нейроендокринної відповіді організму на пошкодження і загрозу гомеостазу.

Надирники – органи, коркова речовина яких у дорослих складається з клубочкової (мінералокортикоїдної), пучкової (глюкокортикоїдної) і сітчастої (андрогенопродукуючої) зон. Мозкова речовина – параганглій, що складається з катехоламінопродукуючих хромафінних клітин [1-3].

Глюкокортикоїди (у людини – перш за все, кортизол і меншою мірою – кортикостерон і кортизон) – гормони універсальної метаболічної дії, основні ефектори стресу і контрінсулярні регулювальники, сигнали, які стримують запалення та імунну відповідь у помірних, контрольованих межах нормергічного потоку і запобігають розвитку шоку.

Глюкокортикоїди – пермесивні регулювальники експресії рецепторів багатьох інших гормонів. Вони впливають на швидкість апоптозу в лімфоїдних та інших клітинах [1-3].

Метали відіграють важливу роль у фізіологічних процесах, нервовій діяльності, регуляції проникливості клітинних мембран, окислювальному фосфорилуванні та ін. Крім участі у фізіологічних процесах, біоеlementи відіграють певну роль у розвитку патологічних процесів та формують адаптаційну відповідь організму до будь-якого навантаження [1,3-7].

Повноцінний вміст есенціальних елементів і мінімальна, не погрожуюча зриву адаптаційних механізмів організму, присутність токсичних та умовно-токсичних речовин, складають один із найважливіших компонентів нормального функціонування організму взагалі і нервової системи зокрема, особливо це важливо для нейроендокринноімунних взаємодій, особливо при стресі [1,4,8].

З'ясовано, що порушення біоеlementного складу пов'язане з адаптаційно-приспосувальними механізмами організму. Дисбаланс мікроелементів, який спостерігається при хронічній дії стресорів, негативно впливає на функціональний стан усіх органів і систем, що залежить від функціонального стану ГГНС та ентеро-інсулярного апарата. При цьому такі

хелатоутворюючі метали, як цинк, мідь та магній, одночасно привертають першочергову увагу дослідників [1,3-7].

У сучасній літературі велику увагу приділено рівню цих біоелементів у крові та тканинах у нормі та при дії на організм різних деструктивних факторів.

Відомо, що на вміст біометалів в органах та тканинах впливає центральна нервова система та надниркові залози. Так, при електростимуляції гіпоталамуса та мозочку змінюється вміст міді та цинку в деяких клітинах. Такий нервово-гуморальний вплив має неспецифічний характер. Встановлено, що при навантаженні організму та формуванні стресової реакції в організмі підвищується рівень стресових гормонів [4-9].

Рівень цинку в організмі можуть знижувати продукти розпаду тканин, що утворюються при дії різнобічних стресорів. Зв'язуючи цинк, ці продукти, перш за все амінокислоти, можуть підвищити вміст з'єднань цинку в крові та підсилити виділення їх із сечею. Стрес призводить також до збільшення виділення в плазму кортикостероїдів, що стимулюють надходження цинку в тканини [1,3-5,9,10].

Стрес, больові подразники та інфекційні хвороби викликають підвищення вмісту міді та церулоплазміну в крові, впливаючи на обмін цього металу, зокрема через нейрогуморальну систему регуляція синтезу церулоплазміну в печінці та вміст його й міді в плазмі крові та тканинах залежить від змінення гормонального стану за участю гіпофізарно-адренкортикальної системи. Так, стан експериментального гіпокортицизму стає причиною збільшення рівня міді в крові, печінки, мозку та викликає підвищення.

Дефіцит магнію характерний для людей з хворобливими порушеннями адаптації, викликаними хронічними стресами, а також у тих, які страждають на депресії й аутизм, вегетативною дистонією. Стреси різного генезу (фізичні, психічні) збільшують потребу в магнії та є причиною внутрішньоклітинної магнієвої недостатності [1,4,8]. Стрес та магнієва недостатність є взаємопов'язаними процесами, вони поглиблюють один одного. Стан гострого та хронічного стресу призводить до виснаження внутрішньоклітинного пулу Mg, тому при стресі в організм вводиться збільшена кількість адреналіну та норадреналіну, що сприяє виведенню магнію з організму [1,4,8,11].

Катехоламіни впливають на лізосоми секреторних клітин, що містять хелатоутворюючі метали, які деградують, та продукти деградації, пов'язані з іонізованим Mg^{2+} . Якщо магнію достатньо, то вплив катехоламінів зменшується. Як результат, резистентність до стресу підвищується [1,2].

Доведено, що дефіцит магнію знижує антиоксидантну здатність організму та спричиняє зміни співвідношення Mg/Ca в клітинах кори надниркових залоз, а це, у свою чергу, веде до підсиленої секреції мінералокортикоїдів, які здатні ще більш стимулювати втрату магнію організмом. Отож, вчені доводять, що стрес і дефіцит магнію взаємопов'язані. Відновлення магнію в клітинах підвищує резистентність організму до стресу, тобто магній вважається протистресовим металом, коли зрушуються нейрогуморальні регуляторні системи, формуються патологічні зміни вмісту магнію на тлі підвищення в крові концентрації міді [1,4,8].

Стрес впливає на металолігандний гомеостаз, але дані про характер цього впливу нечисельні і, в більшості випадків, являють собою описові дані, а не дослідження механізмів [1,3-5].

Стрес має поліфакторну етіологію, але роль розвитку стрес-реакції порушень вмісту і розподілу хелатоутворюючих металів ще не вивчена. З'ясування характеру зв'язків між хелатоутворюючими металами і біологічно активними речовинами, що беруть участь у стрес-реакції, дозволяють отримати більш повне уявлення про нейрон-ендокринні і клітинні механізми стресу.

Виходячи з вищесказаного, наше дослідження було присвячене з'ясуванню впливу наднирників, як ефекторів стресу, на металолігандний гомеостаз.

Метою дослідження було отримання фактів, що підтверджують гіпотезу, що наднирники як ефектор стресу впливають на вміст хелатоутворюючих металів (Zn, Mg, Cu) в клітинах і на металолігандний гомеостаз в цілому, та з'ясувати характер цього впливу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У досліді було використано 104 щури, серед яких 28 тварин були контрольними, в інших була проведена адренадектомія (АЕ) з метою моделювання гіпофункції наднирників.

Тварини утримувались в умовах акредитованого віварію Запорізького національного університету з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), універсальної декларації з біоетики та правах людини (ООН, 1997), норм Конвенції про захист прав людини у зв'язку з впровадженням нових біомедичних технологій (Ов'єдно, Іспанія, 1997) та Закону України № 3447 «Про захист тварин від жорстокого поводження». Усі особи, що брали участь у експерименті, давали на це свою згоду персонально. Прилади, що використовуються для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Стрес, зумовлений гіпоксією (модель за А.Ш. Зайчиком, 2000 р.) [12], отримували шляхом розміщення тварин у посуд, з якого викачували повітря (умови: $h=6,7$ км, $P_{\text{атм}}=327$ мм.рт.ст., $P_{O_2}=30,2$ мм.рт.ст.).

Для дослідження впливу біологічно активних речовин, що беруть участь, або впливають на стрес-реакцію, тваринам вводили їх синтетичні аналоги у дозах: адреналін – 0,05 мг/кг (під шкіру (п/к)), інсулін – 0,1 ОД/кг (в/м), дексаметазон – 0,1 мг/кг (в/м) [4,6,7,9].

Після закінчення експериментів у тварин дослідних і контрольних груп брали кров із хвостової вени та робили мазки за стандартною методикою. Забивали тварин декапітацією під легким ефірним наркозом після закінчення терміну стресових впливів або через 1-2 год. після ін'єкцій та відбирали внутрішні органи (підшлункову залозу, головний мозок, тонку кишку, наднирники, передміхурову залозу), поміщаючи їх на лід.

Препарування органів та виділення клітин для подальших досліджень проводили в холодній кімнаті за температури 4° С.

Методика цитохімічного визначення металів і секреторного матеріалу в клітинах. Вміст металів у клітинах визначали за допомогою цитохімічних реакцій: з використанням дитизону, сульфарсазену та 8-ТСХ для визначення цинку; магнезону – магнію, дитиооксаміду та люмомагнезону – міді. Вміст металів визначали за забарвленням: дитизоном і магнезоном визначали за червоним; сульфарсазеном – оранжевим; дитиооксамідом – темно-зеленим кольором цитоплазми і гранул клітин; 8-ТСХ – за їх жовто-зеленою люмінесценцією [4].

Для виявлення секреторного матеріалу в соматичних клітинах використовували забарвлення флоксином, гранулоцитів крові – метиловим фіолетовим-флоксином (МФФ).

Забарвлення 8-ТСХ дозволяє визначати Zn у клітинах кількісним методом. Усі інші барвники для визначення Zn, Cu, Mg і секреторного матеріалу дозволяють визначати вміст цих компонентів тільки напівкількісним методом.

Інтенсивність забарвлення, яка пропорційно залежала від кількості металів та секреторного матеріалу в клітинах, оцінювали напівкількісним методом [13,14].

Цифрові зображення препаратів отримували за допомогою люмінесцентного мікроскопу Мікмед-2, варіант 11 (виробництво ЛОМО, Росія). Отримані за допомогою цифрової камери знімки зберігали на жорсткому диску ПЕОМ у форматі tiff (Tagged Image File Format), який

призначений для зберігання цифрових зображень без втрат їх якості. Вимірювання інтенсивності флуоресценції на цифрових знімках проводили за допомогою растрового графічного редактора GIMP, версія 2.6.10. У вікні "Гістограма" отримували основні статистичні параметри (кількість пікселів у зоні виділення, медіану, середнє значення яскравості пікселів у зоні виділення та стандартне відхилення), за якими характеризували ступінь інтенсивності люмінесцентної реакції 8-ТСХ на цинк.

Статистична обробка результатів. Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Віллка.

Імовірність похибки першого роду $\alpha > 0,05$. При нормальному розподіленні, порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Для ненормально розподілених вибірок застосовували непараметричний метод U-тест Манна-Уїтні. Результати наведено у вигляді $M \pm m$, n - кількість тварин в серії експериментів. Силу зв'язку між показниками визначали коефіцієнтом кореляції Пірсона (r). Обробка даних проводилась за допомогою програми "Статистика 6".

Оскільки реакція 8-ТСХ на цинк є кількісною, то вміст хелатоутворюючого цинку оцінювали в мкг/г.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для дослідження впливу того чи іншого органу на будь-який із видів гомеостазу частіше за усе використовують метод виключення цього органу. Для дослідження впливу біологічно активних речовин використовується їх введення піддослідним тваринам. У ході досліду ми використовували обидва методи. Під час досліду ми з'ясували, яким чином відбувається вплив наднирників на обмін хелатоутворюючих металів. Крім того, ми з'ясували, чи можливі зміни хелатоутворюючих металів при включенні ефektorів стресу при дії стресорів та спроби фармакологічно скорегувати стан піддослідних тварин після виключення органу [6-8].

При цьому було враховано, що основний гіпоталамо-гіпофізарний шлях стимуляції кори наднирників передбачає участь адренкортикотропіну (АКТГ), який містить хелатоутворюючий цинк. Існують не тільки прямі, але і зворотні зв'язки, що визначають продукцію глюкокортикоїдів корою наднирників. Так, не викликає сумніву коротка петля зворотного зв'язку: гіпофіз - АКТГ - гіпоталамус - гіпофіз. Добре відома довга петля зворотного зв'язку: гіпофіз-АКТГ-надниркові залози - глюкокортикоїди - гіпоталамус - гіпофіз [6,8,11].

У таблиці 1 наведені результати впливу корегуючих факторів на вміст цинку в клітинах адреналектомованих тварин.

Адреналектомія викликає зниження цинку на 45% ($p < 0,001$) у гіпокампі, у гіпоталамусі на 43% ($p < 0,001$) та в гіпофізі - на 44% ($p < 0,001$), на 43% ($p < 0,001$) у В-інсулоцитах, на 48% ($p < 0,05$) у клітинах Панета і на 47% ($p < 0,05$) в клітинах простати.

При введенні адреналектомованим щурам адреналіну вміст цинку в клітинах був знижений відносно контролю: у гіпокампі на 23% ($p < 0,05$), у гіпоталамусі на 29% ($p < 0,05$), у гіпофізі на 26% ($p < 0,05$), у В-інсулоцитах на 23% ($p < 0,05$), у клітинах Панета - на 16% ($p > 0,05$), клітинах простати на 16% ($p > 0,05$). Введення дексаметазону також викликало зниження вмісту цинку: у гіпокампі на 55% ($p < 0,05$), у гіпоталамусі - на 30% ($p < 0,05$), у гіпофізі - на 24% ($p < 0,05$), у В-інсулоцитах - на 14%, клітинах Панета на 13%, клітинах простати - на 23% ($p > 0,05$) відповідно.

При цьому значення коефіцієнтів кореляції між змінами вмісту цинку в клітинах (які були розраховані для усіх цих клітин в усіх можливих сполученнях) коливались таким чином для контролю від 0,52 ($p < 0,01$) до 0,85 ($p < 0,001$), при адреналектомії від 0,73 ($p < 0,001$) до 0,88 ($p < 0,01$), при поєднанні адреналектомії з введенням адреналіну - від 0,50 ($p < 0,05$) до 0,86 ($p < 0,001$) при поєднанні адреналектомії з введенням дексаметазону - від 0,72 ($p < 0,001$) до

0,86 ($p < 0,001$). Це свідчить, що наднирники впливають на вміст цинку в клітинах, оскільки адреналектомія викликає розвиток дефіциту цинку, який зменшується у випадку введення аналогів гормонів наднирників.

Таблиця 1 – Вміст хелатоутворюючого цинку (забарвлення 8-ТСХ) у гіпокампі, гіпоталамусі, гіпофізі, В інсулоцитах, клітинах Панета і простаті щурів після адреналектомії та її сполучення з введенням адреналіну і дексаметазону ($M \pm m$).

Група тварин	Вміст цинку, мкг/г					
	гіпокамп	гіпоталамус	гіпофіз	В-інсулоцити	Клітини Панета	простата
Контроль (n=16)	53,7±4,2	21,8±1,6	27,8±2,1	21,5±1,6	79,2±6,3	75,5±6,2
Адреналектомовані тварини (n=18)	29,2±1,8***	12,4±0,9***	15,3±1,2***	10,3±0,7*	41,4±3,6*	40,6±2,7*
Тварини, які отримали адреналін (0,05 мг/кг) після адреналектомії (n=18)	41,4±3,6*	15,2±1,7*	20,1±1,8*	19,2±0,8***	66,7±6,2*	63,7±5,8*
Тварини, які отримали дексаметазон (0,1 мг/кг) після адреналектомії (n=17)	40,6±3,2*	14,3±1,1*	21,4±1,7*	18,1±0,7*	69,1±6,2*	58,2±6,3*

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем.

У таблиці 2 показано, як змінюється вміст цинку в різних клітинах у щурів під впливом адреналектомії та сполученні її з гострим стресом.

Таблиця 2 – Зміни вмісту хелатоутворюючого цинку (забарвлення 8-ТСХ) у гіпокампі, В-інсулоцитах, клітинах Панета, простати, гранулоцитах крові щурів при адреналектомії в сполученні з гострим стресом на прикладі гіпоксії ($M \pm m$)

Група тварин	Вміст цинку, мкг/г				
	гіпокамп	Клітини В	Клітини Панета	Простата	Гранулоцити
Контроль (n=16)	53,1±4,2	21,2±1,6	95,1±7,3	68,7±5,2	33,0±0,06
Адреналектомія (n=12)	29,4±1,8**	12,7±0,9**	63,3±5,8**	39,2±3,7*	20,0±0,04**
Адреналектомія + гострий стрес (n=11)	30,0±2,1*	61,6±5,9***	61,6±5,9**	40,8±4,5**	23,0±0,05**

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

Адреналектомія викликає зниження вмісту цинку в гіпокампі на 45% ($p < 0,001$), у В-інсулоцитах на 48% ($p < 0,001$), клітинах Панета на 36% ($p < 0,001$), простати – на 43% ($p < 0,001$), гранулоцитах – 41% ($p < 0,001$).

При адреналектомії в сполученні з гострим стресом отримані дані відповідно: гострий стрес в поєднанні з адреналектомією зменшує дефіцит цинку, який вона викликала, при цьому вміст цинку був зменшений на 43% ($p < 0,001$) в гіпокампі, на 32% ($p < 0,001$) у В-інсулоцитах, на 43% ($p < 0,001$) – в клітинах Панета, в клітинах простати на 59% ($p < 0,001$), на 30% ($p < 0,001$) в гранулоцитах крові.

При підрахунку коефіцієнта кореляції між усіма цими клітинами в усіх можливих сполученнях, цей показник коливався в таких межах: для контролю від 0,49 до 0,98 ($p < 0,01$), для адреналектомії – від 0,45 до 0,75 ($p < 0,05$), для поєднання адреналектомії з гострим стресом – від 0,50 до 0,95 ($p < 0,01$).

Отже, стресовий вплив викликає несуттєві зміни вмісту в клітинах в адреналектомованих тварин. Аналогічність змін у клітинах свідчить про їх взаємозв'язок, а їх неспецифічність вказує, що вони є проявами НАСКС.

Це свідчить, що наднирники як ефектор стресу є також регулятором металолігандного гомеостазу.

У таблиці 3 наведені порівняльні дані про вміст секреторного матеріалу в гранулоцитах крові і клітинах Панета при адреналектомії і дії стресорів і корегуючих речовин.

Таблиця 3 – Зміни вмісту секреторного матеріалу в гранулоцитах крові (забарвлення МФФ) в клітинах Панета (забарвлення флоксином) адреналектомованих щурів та її сполученні з гострим стресом (на прикладі гіпоксії) ($M \pm m$)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.		r
	МФФ	Флоксин	
Контроль (n = 16)	0,9 ± 0,05	1,2 ± 0,08	0,87
Адреналектомія (n = 12)	0,5 ± 0,06***	0,8 ± 0,07***	0,75
Адреналектомія + гострий стрес (n = 13)	0,6 ± 0,05***	0,9 ± 0,09**	0,95

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, r – коефіцієнт кореляції між вмістом секреторного матеріалу в гранулоцитах крові і клітинах Панета.

При сполученні адреналектомії з гострим стресом не досягається значна корекція дефіциту секреторного матеріалу, яку викликала адреналектомія, про що свідчить інтенсивність забарвлення МФФ, яке знижується на 33% ($p < 0,001$), флоксину в клітинах Панета – на 25% ($p < 0,01$).

Отже, гострий стрес також не викликає значної корекції дефіциту цинку в клітинах, що спостерігається при адреналектомії. Таким чином, гормони наднирників викликають підвищення вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах. Тому при адреналектомії спостерігається дефіцит цих компонентів у клітинах.

У наступній серії дослідів показаний вплив наднирників на вміст хелатоутворюючих металів в гранулоцитах.

Таблиця 4 – Зміни вмісту цинку (забарвлення сульфарсазеном), магнію (забарвлення люмомагнезоном) і міді (забарвлення дитиооксамідом) у гранулоцитах крові адреналектамованих (АЕ) щурів при введенні адреналіну та інсуліну ($M \pm m$) та їх взаємозв'язок (r)

Група тварин	Інтенсивність реакції, ум. од.			r, Zn/Mg	r, Zn/Cu	r, Mg/Cu
	Цинк	Магній	Мідь			
Контроль (n = 16)	1,01 ± 0,06	0,82 ± 0,06	0,52 ± 0,05	+0,48	-0,49	-0,53
Адреналектомія (n = 12)	0,62 ± 0,04***	0,21 ± 0,01***	0,83 ± 0,05***	+0,6	-0,78	-0,52
Адреналектомія + дексаметазон 0,1 мг/кг (n = 14)	0,91 ± 0,07###	0,73 ± 0,06	0,41 ± 0,03	+0,78	-0,45	-0,35
Адреналектомія + інсулін 0,1 ОД/кг (n = 13)	0,73 ± 0,06***	0,67 ± 0,05*	0,62 ± 0,02*	+0,71	-0,84	-0,9

Примітка: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем; ### – $p < 0,001$ у порівнянні з адреналектомованими тваринами.

У таблиці 4 наведені результати визначення хелатоутворюючих цинку, магнію і міді в гранулоцитах крові щурів при наднирниковій недостатності і введенні речовин, що впливають на ефектори стресу.

АЕ викликала в щурів зниження вмісту цинку в гранулоцитах крові на 40% ($p < 0,001$), магнію – на 75% ($p < 0,001$) та підвищення концентрації міді – на 60% ($p < 0,001$).

Введення дексаметазону щурам після адреналектомії зменшувало відхилення вмісту металів від норми: концентрація цинку була на 10% ($p > 0,05$) нижче, магнію – на 12% ($p > 0,01$) нижче, а міді – на 20% ($p > 0,05$) вище норми. Аналогічні, але менш виражені, зміни спостерігалися при введенні інсуліну. При цьому отримані дані відповідно 30% ($p < 0,001$) для цинку, 25% ($p < 0,05$), магнію – 20% ($p < 0,05$) – для міді.

При сполученні АЕ з гострим стресом у таких щурів отримані дані становили відповідно 40% ($p < 0,001$), 25% ($p < 0,05$), 20% ($p < 0,05$).

Отже, АЕ викликала зниження вмісту цинку та магнію і підвищення міді в гранулоцитах крові. Введення адреналіну та інсуліну та вплив гострого стресу послабляли ці зміни. Це вказує на те, що такі зміни неспецифічні та є проявами НАСКС і те, що цинк і магній мають синергічні співвідношення, а мідь їх антагоніст.

Перспективи подальшого дослідження є з'ясування механізмів впливу ефекторів стресу на металолігандний гомеостаз та знаходження нових засобів корекції наслідків мікро- та макроелементозів, що викликані стресами різної природи.

ВИСНОВКИ

1. Адреналектомія викликає зниження вмісту в цинку та магнію та підвищення концентрації купруму в гранулоцитах крові. У випадку дії гострого стресу в сполученні з адреналектомією послаблюють ці коливання металів у клітинах, в усіх цих випадках вміст міді різноспрямовано змінюване відносно вмісту магнію і цинку (коефіцієнт кореляції від 0,4 до 0,78)
2. Введення інсуліну, адреналіну та стан гострого стресу майже повністю корегували недостатність цинку і магнію і знижували до нормальних показників вміст міді. Усе це підтверджує гіпотезу про антагоністичні реципрокні взаємовідношення між цинком/магнієм з одного боку та міді - з іншого. Також це свідчить про те, що зміни металів при дії різних чинників неспецифічні і є проявами НАСКС.
3. Наднирники як ефектор стресу впливають на металолігандний гомеостаз, оскільки адреналектомія викликає цинкдефіцитний стан. Недостатність одного із ефекторів стресу (наднирників) можливо компенсувати діяльністю інших ефекторів стресу. Спроба корегувати цинкдефіцитний стан, який виникає після адреналектомії синтетичними аналогами стресових гормонів, не дозволяє повністю нормалізувати рівень хелатоутворюючого цинку в клітинах, що містять хелатоутворюючі метали. Вилучення із організму органа-регулювальника (наднирників), який не є органом «депо» хелатоутворюючого цинку, незворотно порушує металолігандний гомеостаз.

ЛІТЕРАТУРА

1. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса / Панин Л.Е. – Новосибирск: Наука, 1983. – 232 с.
2. Шульговский В.В. Основы нейрофизиологии / Шульговский В.В. – М.: Аспект Пресс, 2000. – 277 с.
3. Zoumakis E. Corticotropine-releasing hormone receptor antagonists / E. Zoumakis, D.K. Grammatopoulos, G.P. Chrousos // Eur. J. Endocrinol. – 2006. – Vol. 55. – P. 585-589.

4. Єщенко Ю.В. Стрес і метаболізм металів / Єщенко Ю.В. – Запоріжжя: ЗНУ, 2010. – 268 с.
5. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology. / B.L. Vallee // Biofactors. - 1988. – Vol. 1. – P. 31-36.
6. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. / [Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С.]. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
7. Вейн А.М. Лекции по неврологии неспецифических систем мозга./ А.М. Вейн – М.: МЕДпресс-информ, 2010. – 112 с.
8. Ведяев Ф.П. Влияние эмоционального стресса на некоторые показатели системы крови. / Ф.П. Ведяев // Нейрофизиол. эндокринно-вегетативные корреляты эксперимент. эмоцион. стресса. – Х., 1988. – С. 5-12.
9. Браун А.Д. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы / А.Д. Браун, Т.П. Моженок. – Л.: Наука, 1987. – 230 с.
10. Zalups R.K. Cellular and molecular biology of metal / R.K. Zalups, J. Koropatnick. – N.Y.: CRC Press, 2010. – 442 p.
11. Зміни вмісту цинку в крові та клітинах різних органів при стресових впливах / [Берегова Т.В., Григорова Н.В., Єщенко Ю.В., та інш.] // Фізіол. журн. – 2007. – Т. 53, № 6.– С. 29-33.
12. Зайчик А. Ш. Основы общей патологии. – Ч 2. Основы патохимии /А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – СПб.: ЭЛБИ, 1999 — 688 с.
13. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии / Соколовский В.В. – Л.: Медицина, 1971. – 176 с.
14. Хейхоу Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хейхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 319 с.

REFERENCES

1. Panin L.E. Biokhimicheskie mekhanizmy stressa / Panin L.E. – Novosibirsk: Nauka, 1983. – 232 s.
2. Shulgovskiy V.V. Osnovy neyrofiziologii / Shulgovskiy V.V. – М.: Aspekt Press, 2000. – 277 s.
3. Zoumakis E. Corticotropine-releasing hormone receptor antagonists / Zoumakis E., Grammatopoulos D.K., Chrousos G.P. // Eur. J. Endocrinol. – 2006. – Vol. 55. – P. 585-589.
4. Eshchenko Yu.V. Stres i metabolizm metaliv / Eshchenko Yu.V. – Zaporizhzhya: ZNU, 2010. – 268 s.
5. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology. / B.L. Vallee // Biofactors. – 1988. – Vol. 1. – P. 31-36.
6. Mikroelementozy cheloveka: etiologiya, klassifikatsiya, organopatologiya / [Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S.]. – М.: Meditsina, 1991. – 496 s.
7. Veyn A.M. Lektzii po nevrologii nespetsificheskikh sistem mozga/ A.M. Veyn – М.: MEDpress-inform, 2010. – 112 s.
8. Vedyayev F.P. Vliyanie emotsionalnogo stressa na nekotorye pokazateli sistemy krovi. / F.P. Vedyayev // Neyrofiziol. endokrinno-vegetativnye korrelyaty eksperiment. emotsion. stressa. – Kharkov, 1988. – S. 5-12.
9. Braun A.D. Nespetsificheskii adaptatsionnyy sindrom kletochnoy sistemy / A.D. Braun, T.P. Mozhenok. – L.: Nauka, 1987. – 230 s.
10. Zalups R.K. Cellular and molecular biology of metal / R.K. Zalups, J. Koropatnick. – N.Y.: CRC Press, 2010. – 442 p.
11. Zmini vmistu tsinku v krovi ta klitinakh riznikh organiv pri stresovikh vplivakh / [Beregova T.V., Grigороva N.V., Eshchenko Yu.V. ta insh.] // Fiziол. zhurn. – 2007. – Т. 53, № 6. – S. 29-33.

12. Zaychik A. Sh. Osnovy obshey patologii. Ch 2. Osnovy patokhimii. /A.Sh. Zaychik, L.P. Churilov. – SPb.: ELBI, 1999 – 688 s.
13. Sokolovskiy V.V. Gistokhimicheskie issledovaniya v toksikologii / Sokolovskiy V.V. – L.: Meditsina, 1971. – 176 s.
14. Kheykhou F. Gematologicheskaya tsitokhimiya / F. Kheykhou, D. Kvaglino – M.: Meditsina, 1983. – 319 s.

УДК 796.015.1:537.3-056.2

THE COMPLEX ANALYSIS OF PULSE LOW-FREQUENCY ELECTRIC CURRENT INFLUENCE ON ORGANISM FUNCTIONAL CONDITION IN TRAINED AND UNTRAINED YOUNG PEOPLE IN CONDITIONS OF PHYSICAL REST

Kovalyova A.V., Shkopinskii E.A., *Kivenko V.V., Dyomin A.N.

Zaporozhian national university

69600, Ukraine, Zaporozhye, Zhukovskogo street, 66

** Zaporozhian state clinical hospital №8*

69000, Ukraine, Zaporozhye, Pischevaya street, 2

kovaleva_aleksan@mail.ru

The short characteristic of functional condition of trained and untrained young men in conditions of physical rest is given in the paper following the analysis of unitary pulse low-frequency electric current influence on the specified processes. The aim of the study was to compare the characteristics of a pulse low-frequency electric current influence on cardiovascular system functional condition in trained and untrained persons in conditions of physical rest. The study included 56 healthy young men (23 trained and 33 untrained) 17-24 years old, who were divided into the main group (11 trained and 16 untrained persons) and control group (12 trained and 17 untrained persons) and 46 healthy young women (28 trained and 18 untrained) 17-20 years old, who were divided into the main group (14 trained and 9 untrained persons) and control group (14 trained and 9 untrained persons). The study included two stages: the first stage – the baseline functional condition was estimated; the second stage – the functional condition state reaction to pulse low-frequency electric current in conditions of physical rest was recorded. The pulse low-frequency electric current influence was produced using the device “LEIT”. The results suggest that the pulse low-frequency electric current carries out regulating influence on physiological systems of young people even in conditions of physical rest and has the character of cardiovascular system activity optimization and vegetative functions optimization.

Key words: pulse low-frequency electric current, functional condition, trained young men, untrained young men, trained young women, untrained young women, physical rest

КОМПЛЕКСНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ІМПУЛЬСНОГО НИЗЬКОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ОРГАНІЗМУ ТРЕНОВАНИХ І НЕТРЕНОВАНИХ МОЛОДИХ ОСІБ У СТАНІ ФІЗИЧНОГО СПОКОЮ

Ковальова О.В., Шкопинський Є.О., *Ківенко В.В., Дьомін О.М.

Запорізький національний університет

69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66

**Запорізька міська клінічна лікарня №8*

69000, Україна, Запоріжжя, вул. Харчова, 2

kovaleva_aleksan@mail.ru

У роботі надана стисла характеристика функціонального стану тренованих і нетренованих осіб в умовах фізичного спокою з впливом імпульсного низькочастотного електричного струму. Метою дослідження було порівняти особливості впливу імпульсного низькочастотного електричного струму на функціональний стан серцево-судинної системи тренованих і нетренованих осіб в умовах фізичного спокою. Дослідження включало 56 здорових молодих осіб (23 треновані і 33 нетреновані)