

*Р. С. ӨТЕФАЛИЕВА*

## **ОРГАНИЗМГЕ ИММОБИЛИЗАЦИЯЛЫҚ СТРЕСС ӘРЕКЕТІ КЕЗІНДЕ КЛЕТКА МЕМБРАНАСЫ ТӨЗІМДІЛІГІН ЖОҒАРЫЛАТУДА БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІ ҚОСПАЛАРДЫ ҚОЛДАНУ**

(ҚР БҒМ БЗО Адам және жануарлар физиологиясы Институты)

*Токоферол және отандық биологиялық белсенді қосылыстардың эритроцит мембраналарының осмос-тық және асқын тотығу резистенттілігіне әсері зерттелді. Аталған биопрепараттардың иммобилизациялық стресс әсерін төмендетіп, эритроцит мембраналарын қорғау мүмкіншілігі анықталды.*

Күнделікті өмірде қозғалыс белсенділігінің азаюына және оған байланысты организмдегі туындайтын патологиялық өзгерістерге ғалымдардың назар аударуына тура келіп отыр. Қимыл-қозғалыстың шектелуі дене және ой еңбегінің төмендеуіне әкеледі. Стресс факторлары, атап айтқанда, гипокинезия орталық жүйке жүйесін зақымдайды, қан айналу мен тыныс алу үрдісі бұзылып, бұлшық еттің жұмысы

қиындай түседі [1,2].

Әдебиеттерде дене қозғалысы белсенділігін шектеудің тәжірибелік қатаң түрі, жануарларды тек тар клеткаларда ұстау ғана емес, оларды қимылсыздандыру жөнінде де мәліметтер бар. Осындай қимылсыздандыру иммобилизациялық стресске (ИС) жатады. Тәуліктік иммобилизациялық стресс кезінде салмақтың азаюы, ферменттердің

протеолиздік белсенділігінің артатындығы, клеткалардың зат алмасу субстраттарымен тез қанығуын қамтамасыз етуші инсулиннің әсері күшейе түсетіндігі анықталды [3].

Гипокинезия ферменттік тотығудың қарқынын төмендетуші фактор ретінде, әсіресе энергия субстраттары (май, көмірсулар) организмге бір мезетте көп мөлшерде түскен кезде олардың ұлпалардағы мөлшерінің артуынан болуы мүмкін [4]. Денсаулықты сақтау және нығайту мақсатында организмнің стресс әсеріне төзімділігін арттыруға бағытталған арнайы әдістерді жетілдірудің маңызы зор. Кез келген стрестің зиянды әсері клеткалық және молекулалық деңгейде мембрана қызметі мен құрылымының бұзылуынан, белоктардың қайтымсыз өзгерістерінен байқалады. Антиоксиданттық жүйелердің белсенділігін арттыруда табиғи реттеушілер – витаминдер, минералды тұздар және микроэлементтердің бірлескен әсерінің тиімділігін атап өту керек. Бос радикалдардың әсерінен организмде жүретін тотығу гемолизін Е витамині және басқа да антиоксиданттар төмендететіндігі жайлы мәліметтер бар [5, 6, 7].

Соңғы жылдары биологиялық белсенді қосылыстарды (ББҚ) тұтыну кеңінен насихатталуда. Антиоксиданттық жүйенің жоғары белсенділігін толық сақтап тұруда тамақтану факторы елеулі рөл атқарады, сондықтан ББҚ-ны пайдалану – патологиялық ауытқулардың алдын алудың тиімді әдістерінің бірі [8,9].

Организм үшін ауыр стрестердің бірі болып саналатын иммобилизациялық стресс әсеріне организмнің қарсы тұру қабілетін арттыруға арналған биологиялық белсенді қосылыстар мен витаминдердің антиоксиданттық және протекторлық қасиетін зерттеудің мәні зор. Аталған жұмыста иммобилизациялық стресс әсеріне эритроциттердің төзімділігін арттыру үшін бірнеше заттар – табиғи антиоксидант токоферол және отандық биопрепараттар “Маскам” (тас майы), “Эликсир жизни”, “Желе по Казахстански” десертті, “Селевит” қолданылды.

Осыған байланысты жұмыстың мақсаты иммобилизациялық стресс әрекетіне қарсы құрамында түрлі витаминдер, макро- және микроэлементтер мен ферменттердің жиынтығы бар тағамдық биологиялық белсенді қоспалардың әсерін зерттеу болды.

#### ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Тәжірибе жұмыстарында салмақтары 150-200 г лабораториялық 40 ақ ересек егеуқұйрықтар эритроциттерінің биохимиялық қасиеттері зерттелді.

Қалыпты жағдайдағы егеуқұйрықтар бақылау тобы ретінде қарастырылды. ББҚ енгізу арқылы эритроциттер мембранасының стресс әсеріне төзімділігін арттыру тәжірибелерінде аскорыту жолымен жануарлар азығына тәулігіне бір рет 100 г дене салмағына 10 мг-нан а-токоферол, “Маскам”, «Эликсир жизни», «Желе по Казахстански» десертті, «Селевит» қосылып беріліп, кейіннен иммобилизациялық стресс әсеріне ұшыратылды. Иммобилизациялық стресс жануарларды қимылсыз 24 сағат бойы арнайы жасалған тар клеткаларға отырғызылып жүргізілді.

Эритроциттерді бөліп алу үшін қан 1000g жылдамдықпен центрифугада 10 мин айналдырылды. Плазма мен қанның ақ клеткаларын бөліп алып, құрамында 150мМ NaCl, 5мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH-7,4) бар инкубация ортасы (ИО) буферлі ерітіндімен эритроциттер екі қайтара шайылды. Тәжірибелер алдында эритроциттер 10 есе буферлі ерітіндімен сұйылтылып, 37 °С температурада 5 мин термостатта қыздырылды.

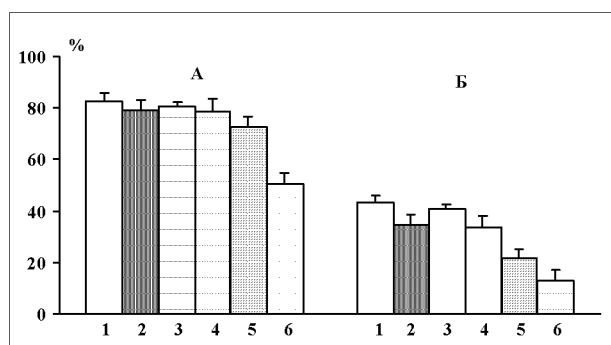
Эритроциттердің осмостық төзімділігі натрий хлоридінің гипотониялық ерітінділеріндегі (0,9-0,35g/100мл, 4М) 20 мин термостатта 37°С температурада қыздырылған эритроциттер гемолиз деңгейі бойынша анықталды. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-тің 0,1g/100мл концентрациялы ерітіндісіндегі эритроциттердің толық гемолиз деңгейін 100%-ға бағалап, қанның қызыл түйіршіктерінің гемолизі пайыздық қатынаста есептелінді. Оптикалық тығыздылығы 540 нм толқын ұзындығында тіркелді. Эритроциттердің асқын тотықтық гемолизі Покровский мен Абрарованың әдісін [10] өзіміздің лабораторияда өңдеп, жетілдіру жолымен анықталды. Эритроциттер 5 есе сұйылтылып, 37°С температурада 2 сағат термостатта қыздырылды. Сапониннің 0,1g/100мл концентрациялы ерітіндісіндегі эритроциттердің толық гемолиз деңгейін 100%-ға бағалап, сутегі асқын тотығының 1М ерітіндісі қолданылды. Оптикалық тығыздық 540 нм толқын ұзындығында тіркелді.

#### ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ МЕН ОНЫ ТАЛҚЫЛАУ

Тәжірибеде қолданған биологиялық препараттардың егеуқұйрық эритроциттері мембранасының осмостық гемолизіне салыстырмалы әсері 1-суретте көрсетілген. ББҚ екі апта бойы жануарлар тамағына қосып беру тәжірибелерінің нәтижелерінен аталған қоспалардың барлығы да бақылау тобы жануарларымен салыстырғанда эритроциттердің осмостық гемолизінің төмендеуіне әкеліп, олардың стресске қарсы тұру мүмкіндігін арттырды. Биопрепараттар-

дың қорғаушылық қасиеті NaCl 0,45г/100мл ерітіндісінде айқын көрінді. Эритроциттердің осмотық резистенттілігін токоферол – 8,61% “Тас майы” – 2,62%, “Эликсир жизни” – 9,45% “Желе по Казахстански” десерті – 21,68%, “Селевит” – 30,27 % арттырды.

Тәжірибенің келесі сатысында аталған биопре-



1 сурет. Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің осмотық гемолизі. Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %.

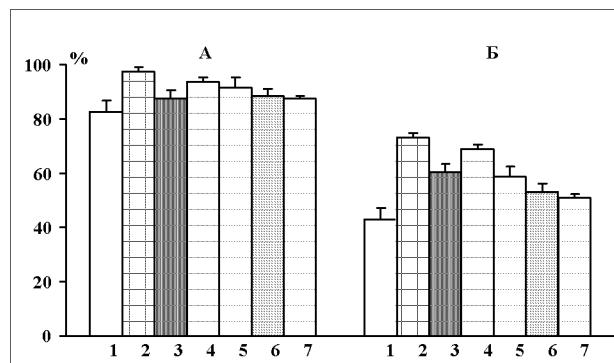
Абсцисс өсі: 1 – бақылау,

2 – токоферол, 3 – “Тас майы”, 4 – “Эликсир жизни”, 5 – “Желе по Казахстански” десерті, 6 – “Селевит”.

А – 0,4г/100 мл NaCl, Б – 0,45г/100 мл NaCl

параттарды жануарларға екі апта бойы беріп, содан соң иммобилизациялық стресске ұшыратылған егеуқұйрықтар эритроциттерінің осмотық гемолиз шамасы анықталды (2-сурет). Суретте көрсетілгендей, бақылауға карағанда иммобилизациялық стресс эритроциттердің осмотық гемолиз деңгейін NaCl-дың екі концентрациясында да жоғарылатты, ал азық рационына 14 күн биологиялық белсенді қоспаларды енгізіп, кейіннен иммобилизациялық стресс тудырылған жануарлар тобы эритроциттерінің стресске ұшыратылған егеуқұйрықтарға карағанда гемолиз деңгейінің төмендегенін байқауға болады. Бұл жағдайда да натрий хлоридінің жоғарғы концентрациясында эритроциттердің резистенттілігі жоғарылады. Натрий хлоридінің біз пайдаланған екі ерітіндісінде де әсіресе 0,45г/100 мл ең жоғары протекторлық қасиет көрсеткен “Селевит” (30,27%) және “Желе по Казахстански” десерті (21,68%) биологиялық қоспасы болды.

Біздің тәжірибелерде аталған ББҚ эритроциттердің асқын тотығу төзімділігіне әсері зерттелді. Зерттеу нәтижелері бойынша қолданған 1М сутегінің асқын тотығының 50 және 100мМ концентрацияларында тағы да токоферол, “Тас майы”, “Эликсир жизни” биологиялық белсенді қосылыстарына карағанда “Селевит” пен “Желе по Казахстански” десертінің әсері жоғары болды. Алынған

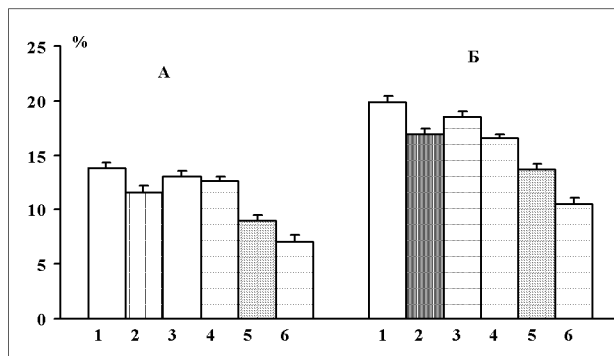


2-сурет. Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің осмотық гемолизі. Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %.

Абсцисс өсі: 1 – бақылау, 2 – ИС, 3 – токоферол + ИС, 4 – “Тас майы” + ИС,

5 – “Эликсир жизни” + ИС, 6 – “Желе по Казахстански” десерті + ИС, 7 – “Селевит” + ИС.

А – 0,4г/100 мл NaCl, Б – 0,45г/100 мл NaCl



3-сурет. Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің 1 М Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> ерітіндісіндегі асқын тотығу гемолизі. Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %.

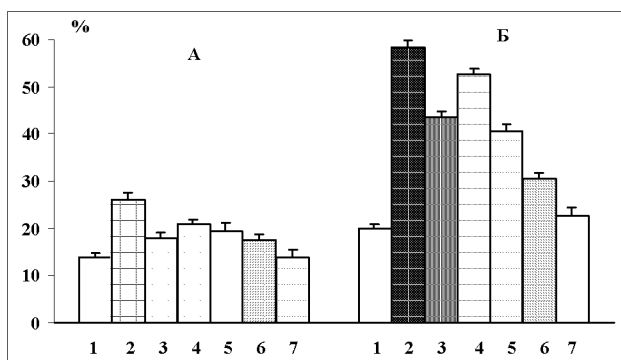
Абсцисс өсі: 1 – бақылау, 2 – токоферол, 3 – “Тас майы”,

4 – “Эликсир жизни”, 5 – “Желе по Казахстански” десерті,

6 – “Селевит”. А – 50 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>, Б – 100 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>

көрсеткіштер “Селевиттің” Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>-ның 100мМ концентрациясында да бақылау тобы жануарлар эритроциттерінің асқын тотығу резистенттілігімен салыстырғанда екі есеге жуық арттырса, ал “Желе по Казахстански” десерті – 6,18%, ал токоферол, “Тас майы” және – “Эликсир жизни” биопрепараттары тек – 3,02% 1,35% және 3,5% жоғарылатты. Жасалған тәжірибелерден аталған биологиялық белсенді қоспалардың сутегінің асқын тотығының 50мМ ерітіндісіне карағанда 100 мМ ерітіндісінде протекторлық қасиеті басым болды.

Эритроциттер мембранасының асқын тотықтық төзімділігін анықтау көрсеткіштері бойынша иммобилизациялық стресс эритроциттер гемолизін сутегі асқын тотығының 50мМ концентрациясында екі есе, ал 100мМ концентрациясында 3 есеге жуық арттырды. Ол организмге стресс әрекеті кезінде мембра-



4-сурет. Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің 1М Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> ерітіндісіндегі асқын тотығу гемолизі. Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %. Абсцисс өсі: 1 – бақылау, 2 – ИС, 3 – токоферол + ИС, 4 – “Тас майы” + ИС, 5 – “Эликсир жизни” + ИС, 6 – “Желе по Казахстански” десерті + ИС, 7 – “Селевит” + ИС.

А – 50 мм Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>, Б – 100 мм Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>

налық фосфолипидтердің асқын тотығу жылдамдығы жоғарылауының нәтижесінде болуы ықтимал. Ал алдын ала биологиялық қоспалармен егеуқұйрықтарды қосымша азықтандыру сутегі асқын тотығының екі концентрациясында да стресс әсерін айтарлықтай төмендетті. Бұл тәжірибеде де “Селевит” және “Желе по Казахстански” десертінің эритроциттердің асқын тотығу төзімділігін біршама жоғарылатындығы анықталды. Құрамында витамин – антиоксиданттар және селен микроэлементі бар “Селевит” биопрепаратының организмнің стресс факторға қарсы резистенттілігін арттыруда, бейімделу үрдісіне жақсы жағдай туғызады [11]. Ал отандық өнім “Желе по Казахстански” десертінің құрамына кіретін 17 табиғи қосындылар мен биофлавоноидтар, клетчатка, минералды заттар, ферменттер жинағы организмді стрестен, эритроцит мембранасын оттегінің белсенді түрімен зақымдауынан қорғайды.

Зерттеу нәтижелері бойынша алынған көрсеткіштер, иммобилизациялық стресс әсерінен эритроциттердің осмостық және асқын тотығу резистенттілігін арттыруда биологиялық белсенді қосылыстарды төмендегідей ретпен қоюға болады: “Селевит”, “Желе по Казахстански” десерті, “Эликсир жизни”, а-токоферол, “Маскам”. Е витаминінің табиғи антиоксиданттық қасиеті бұрыннан белгілі және көптеген микроэлементтер жиынтығынан тұратын отандық ББҚ “Маскам” препаратының да анти-тотықтырғыш қасиеті жөнінде әдеби деректер бар [12,13]. Біздің тәжірибелердің нәтижелері бойынша эритроциттердің резистенттілігін а-токоферол мен “Маскам” басқа ББҚ-ға қарағанда аз шамада жоғарылатты. Мұндай көрсеткіш, қолданылған өзге

қосылыстардың құрамында Е витаминімен қоса басқа да көптеген микроэлементтер мен биофлавоноидтар, минералды заттар, ферменттер мен витаминдердің жиынтығының болуынан, ал тас майының тек микроэлементтерден ғана тұратындығынан болуы мүмкін. Кейінгі уақытта жазылған әдеби мәліметтер бойынша бірнеше антиоксиданттардың бірлескен әсері, олардың жеке әсеріне қарағанда тиімділігінің жоғары болатындығы да анықталған [13].

Алынған көрсеткіштерді өзара салыстыра отырып, ББҚ құрамындағы антиоксиданттық А, С, Д, Е витаминдері мен амин қышқылдары, цинк, мыс, кремний сияқты макро- және микроэлементтердің толық жиынтығының болуы иммобилизациялық стрестің зақымдаушы әсерін жұмсартады, клеткалық деңгейде организмнің төзімділігін арттырып, белсенді тіршілік етуін қамтамасыз етеді деп болжауға болады [14,15,16].

Сонымен, жануарлардың азығына қосымша енгізілген биологиялық белсенді заттар мембрана тұрақтандырушы және тек антиоксиданттық қасиет көрсетіп қоймай, эритроцит мембраналарының төзімділігін арттырып, мембрананы зақымдаудан қорғайды. Эритроциттердің осмостық және асқын тотығу резистенттілігінің жоғарылауы, оған сәйкес гемолиз деңгейінің төмендеуі ББҚ әсерінен эритроцит мембраналары липидтерінің асқын тотығу үрдісінің басытқылануына байланысты болуы мүмкін.

#### ӘДЕБИЕТТЕР

1. Саенко Д.Г., Саенко И.В., Шестаков М.Р. и др. Эффект 120-дневной антиортостатической гипокинезии на статус системы регуляции позы // Авиакосм. эколог. мед. 2000. Т.34, № 5. С.6-10.
2. Zorbas Y.G., Petrov V.L., Yarullin V.L. Effect of fluid and salt supplementation on body hydration of athletes during prolonged hypokinesia // Acta astronaut. 2002. V. 50, N 10. P. 641-651.
3. Манукян А.А. Перекисное окисление липидов при гипокинезии и возможные механизмы действия гамма-аминомасляной кислоты // Мед. наука Армении. 2001. №3. С. 37-41.
4. Воскресенский О.Н., Жумаев И.А., Бобырев В.Н., Безуглый Ю.В. Антиоксидантная система, онтогенез и старение // Вопр. мед хим. 1982, №1. С. 14-27.
5. Niki E., Komuro E., Takahashi M., Urano S., Terao K. Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers // J.Biol. Chem. 1988. V. 263, N 36. P. 19809-19814.
6. Sandhu I.S., Ware K., Grisham M.B. Peroxyl radical-mediated hemolysis: role of lipid, protein and sulfhydryl oxidation // Free radic red commun. 1992. V. 16, N 2. P. 111-122.

7. Koga T., Moro K., Terao J. Protective effect of a vitamin E analog, phosphatidylchranol, agains oxidative hemolysis of human erythrocytes // *Lipids*. 1998. N 33(6). P. 589-595.

8. Тутельян В.А. Биологические активные добавки профилактическом и лечебном питании. Эволюция взглядов и подходов // Биологические активные добавки к пище и проблемы здоровья: Материалы пятого Международного симпозиума. Красноярск, 2001. С. 3–5.

9. Шарманов Т.Ш. Государственная политика в области улучшения здоровья населения путем использования биологически активных добавок к пище и функциональных продуктов питания // *Здоровье и болезнь*. 2005. № 3. С. 5-9.

10. Покровский А.А., Абрарова А.А. К вопросу перекисной резистентности эритроцитов // *Вопр. питания*. 1964. № 16. С. 44-49.

11. Уметова М. Д., Синявский Ю. А., Сулейменова Ж. М., Цой И.Г., Крайсман В.А. Биологические активные добавки к пище и функциональные продукты питания-искоренение микронутриентной недостаточности // Материалы Международной научно-практической конференции. Алматы, 2005. С. 237-239.

12. Мурзахметова М.К., Турмухамбетова В.К., Утегалиева Р.С. и др. Влияние препарата “Маскам” (каменное масло) на состояние клеточных мембран // *Изв. МН-АН РК. Сер. биол. и мед.* 2002. №2. С.62-67.

13. Turan B., Dalay N., Afrasyap L., e.a. The effects of selenium supplementation on antioxidative enzyme activities and plasma and erythrocyte selenium levels // *Acta physiologica*. 1993. V. 81, N 1. P. 87-93

14. Aruoma O.I., Kaur H., Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases // *J.R.Soc.Health*. 1991. V.111, N 5. P.172-

177.

15. Brufau G., Quilez J., Angel Canela M. e.a. Evaluation of lipid oxidation after ingestion of bakery products enriched with phytosterols, beta-carotene and alpha-tocopherol // *Clin Nutr*. 2004. V. 23, N 6. P.1390-1393.

16. Sies H., Stahl W., Sundquist A.R. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids // *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1992. V. 669. P. 7-20.

### Резюме

Исследовано влияние токоферола и биологически активных добавок отечественного производства на осмотическую и перекисную резистентность мембран эритроцитов крыс. Показано, что биопрепараты защищают мембраны эритроцитов и снижают эффект иммобилизационного стресса.

### Summary

The effects of tocopherol and biologically active supplements to osmotic and peroxic resistance of rat erythrocyte membrane were investigated. It was shown that the preparations protect erythrocyte membranes and decrease the effect of immobilization.