

О. О. Маркова

ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ Na^{+} -, K^{+} - АТФАЗИ В ЕРИТРОЦИТАХ ВИВОДКА, ОТРИМАНОГО ВІД ТОКСИЧНО УРАЖЕНИХ ПЕРЕД СПАРЮВАННЯМ САМЦІВ І САМОК ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Процеси трансмембранного транспорту іонів Na^{+} та K^{+} через плазматичні мембрани, як відомо [1], є однією із необхідних умов життєдіяльності клітин. Встановлено [2], що градієнт концентрації Na^{+} , який підтримується Na^{+} -, K^{+} - АТФазою, не тільки створює можливість для функціонування за допомогою Na -насоса системи вторинноактивного транспорту, але є також необхідною умовою для реалізації багатьох фізіологічних процесів. Саме тому дослідження механізмів функціонального стану Na^{+} -, K^{+} - АТФази за умов дії несприятливих факторів навколишнього середовища є важливим для розуміння патогенезу зрушень, що виникають. Цьому присвячена неабияка кількість наукових робіт, в яких описано дію різноманітних токсичних та фізичних факторів [3]. У доступній літературі майже відсутні дані про зміни активності Na^{+} -, K^{+} - АТФази в тканинах тварин, які перед спарюванням зазнали впливу факторів довкілля. Відсутність таких даних певною мірою негативно впливає не тільки на генетичні аспекти розвитку наступних поколінь, але має важливе соціальне значення щодо збереження здорового генофонду держави та запобігання вад розвитку.

Мета роботи — з'ясувати особливості активності Na^{+} -, K^{+} - АТФази в еритроцитах щурів, отриманих від токсично

уражених самців і самок на різних етапах їх онтогенезу.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 60 щурах-самцях віком від 2 тиж до 24 міс. Згідно з метою та завданням дослідження, всіх тварин було розподілено на дві групи: 1-ша група — інтактні тварини (контроль), 2-га група — тварини, отримані від самців і самок, які перед спарюванням зазнали токсичного впливу CCl_4 . Токсичне ураження статевозрілих щурів спричинювали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення за допомогою зонда 50%-го олійного розчину CCl_4 із розрахунку 2,5 мг/кг маси. Об'єктом для експериментального дослідження були еритроцити периферичної крові. Тварин спарювали через 12 діб після завершення дії токсичного фактора. Це зумовлене тим, що для щурів-самців 12-денний термін є періодом дозрівання сперматозоїдів, здатних до запліднення. Експериментальних тварин забивали під ефірним наркозом шляхом швидкої декапітації, після чого кров збирали до центрифужних пробірок, попередньо оброблених гепарином. Потім кров центрифугували, відбирали еритроцитарну масу, яку тричі промивали в охолоджену фізіологічному розчині та піддавали гемолізу в двох об'ємах бідистильованої води. Отримані мембрани еритроцитів використо-

ували для визначення активності ферментів. Активність Na^{+} -, K^{+} - АТФази визначали за різницею активності при відсутності строфантину К і при його додаванні.

Внаслідок гідролізу АТФ під впливом АТФази відбувається нагромадження неорганічного фосфату. Активність АТФази розраховано за нагромадженням неорганічного фосфату в середовищі інкубації, що містить $2 \cdot 10^{-3}$ ммоль АТФ, 4 ммоль MgCl_2 , 0,5 М трис- HCl , рН — 7,4, а також 100 ммоль мМ NaCl і 20 ммоль KCl або 4 ммоль CaCl_2 та $1,5 \cdot 10^{-4}$ ммоль строфантину К. Загальний об'єм проби дорівнює 4 мл. Інкубацію проведено в термостаті протягом 15 хв при $t = 37^\circ\text{C}$. Реакцію зупиняли додаванням 1 мл 10%-го розчину трихлороцтової кислоти. Вміст неорганічного фосфату визначено за допомогою методу В. П. Скулачева [4].

Результати дослідження та їх обговорення

Внаслідок проведених досліджень було встановлено, що в еритроцитах тварин, отриманих від інтактних самців і самок, спостерігалися досить істотні відмінності активності ферменту (таблиця) на різних етапах онтогенезу. Так, наприклад, активність Na^{+} -, K^{+} - АТФази в еритроцитах одномісячних щурів була вищою на 45,6 % порівняно з аналогічними показниками у двотижневих щурят. У тримісячних щурів активність ферменту посилювалася порівняно з анало-



Особливості активності Na⁺-, K⁺- АТФази в еритроцитах тварин на різних етапах фізіологічного онтогенезу

Вік тварин	Народжені від інтактних тварин	Народжені від токсично уражених тварин
Двотижневі щурята	2,44 ± 0,23 (100 %)	1,47 ± 0,15 (60,3 %)
Одномісячні щури	3,55 ± 0,20 (145,6 %)	1,55 ± 0,20 (43,6 %)
Тримісячні щури	4,04 ± 0,18 (165,6 %)	1,64 ± 0,19 (40,5 %)
Шестимісячні щури	2,93 ± 0,11 (120,4 %)	2,22 ± 0,23 (74,5 %)
12-місячні щури	2,46 ± 0,14 (101,2 %)	1,94 ± 0,16 (78,9 %)
24-місячні щури	1,72 ± 0,12 (70,5 %)	0,57 ± 0,10 (33,4 %)

гічними даними попередніх двох груп і переважала показники одномісячних тварин на 20 %. У шестимісячних щурів активність Na⁺-, K⁺- АТФази в еритроцитах вірогідно знижувалася відносно одномісячних та тримісячних тварин, але була вищою за показники двотижневих на 20,4 %. Зниження активності ферменту в еритроцитах крові відносно двотижневих щурят спостерігали й у 12- та 24-місячних тварин. Тож необхідно зазначити, що у 24-місячних щурів активність Na⁺-, K⁺- АТФази була нижчою від показників двотижневих щурят на 29,5 %. Наведені факти та існуючі літературні дані [5] дозволяють висловити припущення, що за умов фізіологічного онтогенезу спостерігаються різнобічно спрямовані зміни активності ферменту, які віддзеркалюють особливості інволюційних змін в організмі тварин.

Дослідження активності Na⁺-, K⁺- АТФази в еритроцитах крові виводка, отриманого від токсично уражених попередників, виявили досить істотні відхилення її значень від показників одновікового контролю. Встановлено, що в еритроцитах крові двотижневих щурят активність Na⁺-, K⁺- АТФази була нижчою за контроль на 39,7 %. В одномісячних щурят активність ферменту в еритроцитах крові продовжувала знижуватись як відносно показників двотижневих щурів, так і її значень стосовно одновікових інтактних тварин і була нижчою від останніх на 56,4 %. У тримісячних щурів активність Na⁺-, K⁺- АТФази практично не відрізнялася від показників попередньої вікової групи тварин і водночас була нижчою на 59,5 % порівняно з контролем. У подальших дослідженнях виявлено, що у 6- та 12-місячних щурів, отриманих від токсично уражених попередників, активність Na⁺-, K⁺- АТФази посилювалася відносно показників усіх попе-

редніх вікових груп, але тим же часом залишалася нижчою у першому випадку на 25,5 % і в другому — на 21,1 %. У 24-місячних щурів, отриманих від попередників, які перед спарюванням зазнали токсичного ураження CCl₄, вона різко знижувалася стосовно інтактних тварин цього віку і дорівнювала 33,4 %. Отже, результати нашого дослідження, як і дані літератури [6], свідчать, що токсичне ураження будь-якого походження імовірно негативно впливає на активність геномного апарату клітин, що в свою чергу викликає зміни в трансмембранному транспорті іонів Na⁺ та K⁺. Вважаємо, що такі зміни зумовлені як порушенням біосинтезу мембранозв'язаних ферментів, так і енергетичним забезпеченням клітин.

Висновки

1. За умов фізіологічного онтогенезу, починаючи з двотижневого і до тримісячного віку, активність Na⁺-, K⁺- АТФази в еритроцитах крові зростала. Після шестимісячного віку активність Na⁺-, K⁺- АТФази в інтактних тварин поступово знижується і досягає мінімальних значень у 24-місячних щурів. Можливо, такі зміни віддзеркалюють інволюційні процеси в організмі щурів.

2. У щурів, отриманих від токсично уражених самців і самок, на всіх етапах онтогенезу спостерігається зниження активності Na⁺-, K⁺- АТФази

стосовно показників одновікового контролю, що є ознакою порушення трансмембранного транспорту іонів Na⁺ і K⁺.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вавілова Г. Л., Аколова О. В., Сагач В. Ф. Ендотеліальні фактори в регуляції активності Na⁺-, K⁺- АТФази // Фізіол. журнал. — 2000. — Т. 46, № 4. — С.101-111.
2. Вавілова Г. Л., Прокопенко О. М., Харламова О. М. Участь L-аргініну в корекції активності мембранних транспортних ферментів Na⁺-, K⁺-, Ca²⁺-, Na⁺- АТФаз за умов експериментальної гіперхолестеринемії // Там же. — № 1. — С. 25-31.
3. Струтинський Р. Б., Мойбенко О. О. Моделювання активності АТФ-залежних калієвих каналів у аорті нормотензивних і гіпертензивних тварин // Там же. — № 6. — С. 54-60.
4. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. — М., 1962. — С. 152-153.
5. Состояние репродуктивной системы и печени у крыс-самцов после фракционного облучения в малой дозе и у их потомства / Е. Ф. Конопля, Г. Г. Верещако, А. М. Ходосовская и др. // Радиц. биология. Радиоекология. — 2003. — Т. 43, № 2. — С. 221-222.
6. Куралова Т. Н., Вистунова И. Е., Пасечник М. Ф. Антиокислительные свойства сыворотки крови крыс в условиях интоксикации CCl₄, применения производных пиридинкарбоновых кислот // Укр. біохім. журнал. — 2000. — Т. 72, № 6. — С.126-128.

