

УДК 617.741-007:577

Т. В. Коломійчук, ст. викл., **Л. І. Сьомік**, канд. біол. наук, доц.,
Ф. П. Ткаченко, канд. біол. наук, доц., **Т. В. Гладкій**, канд. біол. наук,
доц.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини та тварин, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

АДАПТОГЕННА ДІЯ ВОДРОСТЕВИХ ЕКСТРАКТІВ — ВІДНОВЛЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

Хронічний ситуаційний стрес моделювали у дорослих щурів на протязі одного місяця шляхом постійної зміни у випадковій послідовності режимів годування, пиття, освітленості, утримання в перенаселених клітках зі зміною складу тварин. Встановлено, що у периферійній крові піддослідних тварин за умов хронічного стресу відбувається зниження вмісту гемоглобіну в еритроцитах, збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та зменшення кількості лімфоцитів. Введення щурам екстракту водоростей сприяє нормалізації деяких показників периферійної крові: кількості еритроцитів, гемоглобіну та кольорового показника. Збільшення в складі крові кількості лейкоцитів свідчить про певну адаптацію щурів до умов стресу.

Ключові слова: стрес, периферійна кров, лейкограма, водорості

Відомо, що негативні емоції, перенапруження нервової системи викликають стресові ситуації і є причиною багатьох захворювань внутрішніх органів. Вивчення механізмів розвитку патологічних процесів, що виникають за стрес-реакцій організму і розробка профілактичних засобів набуває все більшої ваги [1, 2, 3].

Стрес-реакція організму проявляється, в першу чергу, порушеннями гомеостазу. Функція крові як одна із складових гомеостазу відіграє важливу роль у перебігу неспецифічних та специфічних реакцій захисту організму від несприятливих чинників і визначає його резистентність та реактивність [4]. Пошук засобів, що сприяють нормалізації морфології та функцій клітин крові, є актуальним завданням. Для його вирішення пропонуються спеціальні харчові добавки природного походження з широким спектром лікувально-профілактичної дії [5]. Одними з них можуть бути морські водорості-макрофіти.

Морські рослинні продукти дуже багаті на різні біологічно активні речовини. Вони містять велику кількість неорганічних (йод, калій, кальцій, залізо) та органічних речовин. За амінокислотного аналізу водоростей *Enteromorpha intestinalis* та *Cladophora vagabunda* виявлено велику кількість лізіну, аланіну, гліцину та валіну. У білках цих водоростей знайдено 16 амінокислот, з яких 8 – незамінні [6]. Використання в їжу деяких видів

водоростей сприяє нормалізації вуглеводного, білкового та ліпідного обмінів, виявляє антисклеротичну, кровоспинну та гіпотензивну дію. Крім того, в клітинах водоростей синтезуються різноманітні вторинні метаболіти (сульфатовані полісахариди, ненасичені жирні кислоти, фенольні сполуки, вітаміни тощо), які є важливими біологічно активними речовинами. Водорості утворюють також значні кількості органічного йоду та бромиду [7, 8, 9]. З огляду на проблему адаптації організму до стресових ситуацій водоростеві броміди калію і натрію, а також бромфеноли, відомі своєю седативною дією, можуть бути використані з профілактичною метою. Відомо, наприклад, що у зелених водоростей загальний вміст бромиду в сухій біомасі коливається в межах від 0,0247 до 0,247% [7].

В зв'язку з цим метою наших досліджень було вивчення адаптогенних властивостей водоростевих екстрактів, оцінюваних за зміною складу периферійної крові щурів, які перебували у стані хронічного ситуаційного стресу.

Матеріали і методи

Дослідження провадили на 7-місячних щурах-самцях лінії Вістар вагою 280-320 г. У піддослідних тварин протягом одного місяця створювали модель хронічного ситуаційного стресу (ХСС) шляхом постійного порушення у випадковій послідовності режимів годування, пиття, освітленості, утримуванням у перенаселених клітках з нерегулярною зміною їх складу [10]. Тварини знаходились в умовах віварію на стандартному раціоні. Щурів було поділено на три групи: 1 – інтактні; 2 – такі, що перебували у стані стресу і отримували щодобово за допомогою внутрішньошлункового зонда по 2 мл дистильованої води; 3 – такі, що перебували у стані стресу і аналогічним чином отримували по 2 мл 5% водного екстракту водоростей. У досліді використано екстракт із суміші зелених водоростей (70% - *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. і 30% - *Cladophora vagabunda* (L.) Hoek). Кров відбирали з хвостової вени щурів до початку досліду, а також на 15 та 30 добу експерименту з попередньою реєстрацією маси тварин. В зразках крові визначали загальну кількість лейкоцитів та еритроцитів. Підрахунок елементів крові вели за допомогою камери Горяєва [11]. Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом [12] та розраховували кольоровий показник крові (КП) за загальновідомими формулами [11]. Абсолютну кількість окремих форм лейкоцитів (нейтрофілів, лімфоцитів) підраховували у фіксованих та забарвлених мазках крові щурів під імерсійним збільшенням світлового мікроскопа. Статистичну обробку даних провадили згідно з t-критерієм Ст'юдента [13].

Результати досліджень та їх аналіз

Дослідження динаміки маси щурів контрольної (інтактної) та експериментальної груп щурів, що знаходилися в умовах стресових ситуацій показали, що на 30 добу експерименту маса тварин контрольної групи збільши-

лась на 33% по відношенню до початкової ваги. У тварин другої групи, що знаходилися в умовах ситуаційного стресу, було зафіксовано зменшення їх маси: на 10% на 15 добу та на 15% на 30 добу експерименту. У групі тварин, що отримували екстракт водоростей за умов стресу, було відзначено вірогідне збільшення їх маси на 18% на 30 добу, а не зменшення, як це мало місце у тварин другої групи (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка маси щурів контрольної та експериментальних груп (г)

Варіанти досліджу	Показники	Строки досліджень (добу)		
		До початку досліджу	15	30
Контроль n = 5	M ± m	300,0 ± 9,7	340,7 ± 2,1*	400,0 ± 22,6*
	%	100	114	133
ХСС+дист. вода n = 5	M ± m	318,0 ± 15,3	286,2 ± 16,1	270,0 ± 11,6*
	%	100	90	85
ХСС+екстракт водоростей n = 5	M ± m	280,5 ± 13,3	300,7 ± 12,5	331,7 ± 16,1*
	%	100	107	118

* p < 0,05 порівняно з вихідними даними

В другій частині досліджень вивчали стан периферійної крові щурів за умов хронічного ситуаційного стресу (ХСС). Спостережено незначне зменшення (на 5%) кількості еритроцитів на 15 добу з подальшим відновленням їх кількості до рівня вихідних даних на 30 добу експерименту (табл. 2).

У тварин, що отримували екстракт водоростей у стані стресу (третя група), встановлено вірогідне збільшення (на 13 %) кількості еритроцитів на 30 добу експерименту.

Вивчення вмісту гемоглобіну в крові щурів, що знаходились у стані стресу, показало, що цей показник вірогідно зменшується на 10 % на 15 добу та на 16 % на 30 добу експерименту (табл. 3).

Важливим показником якості крові є ступінь насиченості еритроцитів гемоглобіном, тобто кольоровий показник (КП) крові (табл. 4).

Дослідження показало, що за умов впливу стресових ситуацій в крові щурів на 30 добу КП вірогідно зменшується (на 21%). У щурів, що отримували за цих умов екстракт водоростей, спостерігалось лише незначне зменшення КП (на 8 %) на 15 добу з подальшим відновленням його до вихідного рівня (30 доба).

Таблиця 2

Вміст еритроцитів у периферійній крові щурів контрольної та експериментальних груп (10^{12} клітин на літр)

Варіанти досліджу	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліджу	15	30
Контроль n = 5	M ± m %	5,37 ±0,23 100	5,31 ±0,42 99	5,33 ±0,33 99
ХСС+дист.вода n = 5	M ± m %	5,54 ±0,41 100	5,26 ±0,20 95	5,92 ±0,20 107
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	5,07 ±0,28 100	5,19 ±0,18 102	5,72 ±0,14* 113

* p < 0,05 порівняно з вихідними даними

Таблиця 3

Динаміка вмісту гемоглобіну в крові щурів контрольної та експериментальних груп (г/л)

Варіанти досліджу	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліджу	15	30
Контроль n = 5	M ± m %	148,6 ± 4,70 100	145,1 ± 2,56 98	147,4 ± 3,13 99
ХСС+ дист. вода n = 5	M ± m %	147,7 ± 1,76 100	133,3 ± 3,49* 90	124,5 ± 1,20* 84
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	138,5 ± 3,35 100	129,8 ± 2,99 94	154,4 ± 3,04* 112

* p < 0,05 порівняно з вихідними даними

Таблиця 4

Динаміка кольорового показника периферійної крові щурів контрольної та експериментальних груп (відн. од.)

Варіанти досліджу	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліджу	15	30
Контроль n = 5	M ± m %	0,83 ± 0,03 100	0,82 ± 0,04 99	0,83 ± 0,05 100
ХСС+ дист. вода n = 5	M ± m %	0,80 ± 0,05 100	0,76 ± 0,02 95	0,63 ± 0,01* 79
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	M ± m %	0,82 ± 0,06 100	0,75 ± 0,03 92	0,81 ± 0,03 99

* p < 0,05 порівняно з вихідними даними

Зазначене збільшення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та стабільність кольорового показника периферійної крові тварин, які отримували екстракт водоростей у стані стресу, зумовлені наявністю у використаних препаратах водоростей фізіологічно активних речовин, перш за все вітамінів групи В, макро- і мікроелементів - йоду, заліза, бромю та ін. [7]. Це сприяло їх адаптації до умов експерименту. З літературних джерел відомо, що різні види стресу по-різному впливають на показники імунної системи [5]. В нашому досліді в крові щурів другої групи (за умов стресу) спостерігалось зменшення кількості лейкоцитів на 9 % на 30 добу експерименту (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст лейкоцитів у периферійній крові щурів контрольної та експериментальних груп (10^9 клітин на літр)

Варіанти досліді	Показники	Строки досліджень (доби)		
		До початку досліді	15	30
Контроль n = 5	$M \pm m$ %	11,0 \pm 1,5 100	11,3 \pm 1,3 102	11,1 \pm 1,0 101
ХСС+ дист.вода n = 5	$M \pm m$ %	14,1 \pm 1,9 100	15,2 \pm 2,4 108	12,8 \pm 1,1 91
ХСС+ екстракт водоростей n = 5	$M \pm m$ %	9,4 \pm 1,0 100	16,8 \pm 2,7* 179	12,0 \pm 1,6 128

* $p < 0,05$ порівняно з вихідними даними

У щурів, що отримували водорості за умов стресу (третья група), відмічено збільшення кількості лейкоцитів на 80% на 15 добу та на 29% на 30 добу дослідження, що свідчить про кращу адаптацію та більшу резистентність цих тварин до несприятливих умов експерименту.

Аналізуючи показники абсолютної кількості окремих форм лейкоцитів в периферійній крові щурів за умов стресу слід зазначити, що на 30 добу експерименту спостерігалось вірогідне збільшення (на 22 %) кількості сегментоядерних нейтрофілів на фоні зменшення кількості лімфоцитів на 25% (рис. 1).

Згідно даних літератури [14, 15] зміни показників периферійної крові можуть бути зумовлені перерозподілом клітин у циркулюючому пулі завдяки глюкокортикоїдам, рівень яких підвищується під впливом стресових чинників. В той же час у крові тварин, що отримували екстракт водоростей, на 15 добу експерименту спостережено лише зменшення (на 15%) кількості лімфоцитів, та несуттєве збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів, які на 30 добу дослідження кількісно були на рівні вихідних даних.

Таким чином, у щурів, що перебувають у стані хронічного ситуаційного стресу, виникають певні зміни складу периферійної крові. Введення в їх раціон екстракту водоростей сприяє нормалізації деяких показників периферійної крові: кількості еритроцитів, гемоглобіну та кольорового показ-

ника. Несуттєве збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та зменшення кількості лімфоцитів у щурів, що отримували екстракт водоростей, свідчить про певну адаптацію щурів до умов стресу.

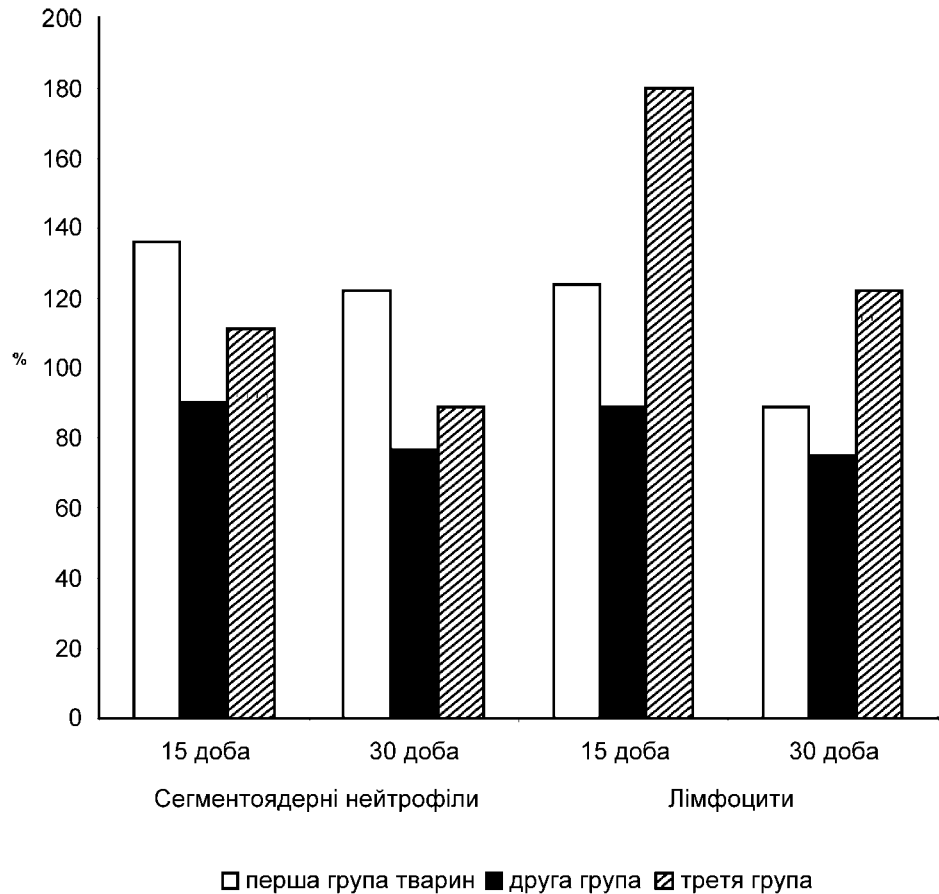


Рис. Вміст абсолютного числа нейтрофілів та лімфоцитів периферійної крові щурів (по відношенню до вихідних даних)

Література

1. Заводская И. С., Морева Е. В. Фармакологический анализ механизма стресса и его последствий. – Л.: Медицина, 1981. – 212 с.
2. Berlett B. S., Stadtman E. R. Protein Oxidation in Aging, Disease and Oxidative Stress // J. Biol. Chem. – 1997. – V. 272, № 33. – P. 20313 – 20316.
3. Коломійчук С. Г., Коломійчук Т. В. Вплив хронічного ситуаційного стресу на активність ферментів антиоксидантної системи мозку щурів // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 34, № 4а (додаток). – С. 144 – 145.
4. Горизонтов П. Д. Общая характеристика и значение реакции стресса // Вестн. АМН СССР. – 1975. – № 8. – С. 81 – 83.

5. Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотова М. И. Стресс и система крови — М.: Медицина, 1983. — 240 с.
6. Ткаченко Ф. П., Коваль В. Т. Биохимический состав массовых бентосных водорослей Черного моря // Гидробиол. журн. — 1990. — Т. 26, № 5. — С. 33–36.
7. Сиренко Л. А., Козицкая В. Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды. — Киев: Наук. думка, 1988. — 256 с.
8. Катвалюк А. А. Новые технологии питания в санаторно-курортной системе // Диагностика и профилактика негативных последствий радиации. — Киев: Наук. думка, 1997. — С. 127–128.
9. Казьмин В. Д. Морские сокровища. — М.: Пищевая промышленность, 1972. — 138 с.
10. Фролькис и др. Модель хронического ситуационного стресса и его влияние на темп старения и продолжительность жизни крыс // Физиолог. журн. — 1998. — Т. 44, № 5–6. — С. 7–14.
11. Справочник. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 289 с.
12. Горячковский А. М. Справочное пособие по клинической биохимии. — Одесса: ОКФА, 1994. — 391 с.
13. Плохинский Н. А. Математические методы в биологии. — М.: Изд-во Моск. ун-та. — 1978. — 266 с.
14. Butte C., Kakhana R., Farnham M. L., Noble E. P. The relationship between brain and plasma corticosterone stress in developing rats // Endocrinology. — 1973. — V. 92, № 2. — P. 1775–1779.
15. Walker C.-D., Scribner K. A., Cascio C. S., Dallman M. F. The pituitary- adrenocortical system of neonatal rats is responsive to stress throughout development in a time- dependent and stressor- specific fashion // Endocrinology. — 1991. — V. 128, № 3. — P. 1385–1395.

Т. В. Коломийчук, Л. И. Сёмик, Ф. П. Ткаченко, Т. В. Гладкий

Одесский национальный университет, кафедра физиологии человека и животных
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ ВОДОРΟΣЛЕЙ — ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Резюме

Хронический ситуационный стресс моделировали у взрослых крыс в течение одного месяца путем постоянной смены в случайной последовательности режимов питания, поения, освещенности, содержания в перенаселенных клетках со сменой состава животных. Установлено, что в периферической крови подопытных животных в условиях хронического стресса происходит снижение содержания гемоглобина в эритроцитах, увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов и уменьшение количества лимфоцитов. Введение крысам экстракта водорослей способствует нормализации некоторых показателей периферической крови: количества эритроцитов, гемоглобина и цветного показателя. Увеличение в составе крови количества лейкоцитов свидетельствует об адаптации крыс к условиям стресса.

Ключевые слова: стресс, периферическая кровь, водоросли

T. V. Kolomiychuk, L. I. Semik, F. P. Tkachenko, T. V. Gladky
Odessa National I.I. Mechnikov University,
Department of Human Physiology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**ADAPTOGENIC ACTION OF ALGAE EXTRACTS – RESTORATION
OF SOME PERIPHERAL BLOOD CHARACTERISTICS OF RATS
UNDER THE CONDITION OF CHRONIC STRESS**

Summary

Chronic situational stress was modeled in adult rats by one month's permanent randomized changing of feed routine, drinking, illumination, keeping them in the overpopulated cages with permanent changing of animals composition. It was determined that in the peripheral blood of experimental animals under the chronic stress content of hemoglobin in erythrocytes is decreasing, number of segmentonuclear neutrophils is increasing, number of lymphocytes is decreasing. Introduction of algae extract to rats contributes to the normalizing of peripheral blood characteristics: number of erythrocytes, hemoglobin and color index. Increasing in leukocytes number is an evidence of moderate adaptation of rats to stress conditions.

Key words: stress, peripheral blood, algae