

СТАТЕВИЙ ДИМОРФІЗМ ПАРАМЕТРІВ НЕЙРОЕНДОКРИННО-ІМУННОГО КОМПЛЕКСУ І МЕТАБОЛІЗМУ У ЩУРІВ

Скрининг базальних параметрів нейроендокринно-імунного комплексу і метаболізму у крыс виявил суцест-венные половые различия 25 из 70 зарегистрированных, при этом 12 параметров выше у самок, и 13 - у самцов.

ВСТУП

Статевий диморфізм - суттєві відмінності між особами жіночої і чоловічої статей - проявляється не лише стосовно статевих ознак і рівнів статевих гормонів, а й низки інших параметрів різних морфо-функціональних систем. Ми поставили перед собою мету праналізувати статеві відмінності між параметрами ендокринно-імунного комплексу і метаболізму щурів.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент поставлено на 20 білих щурах обох статей лінії Wistar масою 200-250 г. Стан вегетативної регуляції оцінювали методом варіаційної кардіоінтервалографії. Для цього під легким ефірним наркозом реєстрували ЕКГ, вводячи голчасті електроди під шкіру лапок, з наступним розрахунком параметрів: моди (Мо), амплітуди моди (АМо) і варіаційного розмаху (ΔX) - корелятив гуморального каналу регуляції, симпатичного і вагального тонусів відповідно [2].

Наступного дня спочатку брали пробу периферійної крові (шляхом надрізу кінчика хвоста), в якій підраховували лейкоцитограму, визначали параметри фагоцитозу та імунограми за тестами I і II рівнів ВООЗ [12]: відносний вміст в крові популяції Т-лімфоцитів за тестом спонтанного розеткоутворення із еритроцитами барана за Jondal M. et al. [16], їх теофілінрезистентної і теофілінчутливої субпопуляції (за тестом чутливості розеткоутворення до теофіліну за Limatibul S. et al. [17]), популяції В-лімфоцитів - за тестом комплементарного розеткоутворення із еритроцитами барана за Bianco [12]. Природні кіллери ідентифікували як великі грануловмісні лімфоцити. Природну кіллерну активність (ПКА) оцінювали в тесті лізису еритроцитів курки за Гордиенко С.М. [6].

Про стан фагоцитарної функції нейтрофілів (мікрофагів) і моноцитів (макрофагів) судили за фагоцитарним індексом, мікробним (фагоцитарним) числом та індексом кіллінгу стосовно *Staphylococcus aureus*, з обчисленням бактерицидної здатності (кількість мікробів, яку здатні знешкодити нейтрофіли чи муноцити, що містяться в одиниці об'єму крові) [12].

Експеримент завершували декапітацією тварин з метою збору максимально можливої кількості крові, в плазмі якої визначали показники гормонального статусу: кортикостерон, тироксин і трийодтиронін (імуноферментним методом [9]), а також метаболізму.

Про ліпідний обмін судили за рівнем в плазмі триацилгліцеридів (метаперіодатно-ацетилацетоновий колориметричний метод), загального холестерину (прямий метод за реакцією Златкіса-Зака) і розподілом його в складі α -ліпопротеїдів (застосовано ензиматичний метод Hiller G. [15]) та пре- β - і β -ліпопротеїдів (турбідометричний метод Бурштейна-Самая) [7].

Стан ліпопероксидації оцінено за вмістом в сироватці її продуктів: дієнових кон'югатів (спектрофотометрія гептанової фази екстракту ліпідів [5]) і маленового диальдегіду (тест з тіобарбітуровою кислотою [1]), та активністю ферментів антиоксидантного захисту: каталази сироватки і еритроцитів (за швидкістю розкладання перекису водню [11]), пероксидази еритроцитів (за швидкістю окислення *n*-фенілендіаміном перекису водню) і супероксиддисмутази еритроцитів (за ступенем гальмування відновлення нітросинього тетразолію в присутності *N*-метилфеназонію метасульфата і НАДН) [8, 13]. Про електролітний обмін судили за рівнем в плазмі кальцію (за реакцією з арсеназо III), фосфатів (фосфат-молібдатний метод), хлориду (ртутно-роданідний метод), калію і натрію (метод полум'яної фотометрії), останні електроліти визначали також в еритроцитах [7].

Загальну антипротеазну активність плазми (ЗАПА) оцінювали за гальмуванням трипсином естерази етилового ефіру N-бензоїл-L-аргініну [4], активність АлТ, АсТ, лужної і кислій фосфатази, креатинфосфокінази - уніфікованими методами [7].

Користувалися аналізаторами "Pointe-180" ("Scientific", USA), "Reflotron" ("Boehringer Mannheim", BRD) та полум'яним спектрофотометром.

Після декапітації у тварин видаляли селезінку і тимус. Імунні органи зважували і робили з них мазки-відбитки для підрахунку сплено- і тимоцитограми [3].

Цифровий матеріал піддано статистичній обробці на комп'ютері за програмою Statistica.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для зручності аналізу вся сукупність зареєстрованих параметрів (70) була розділена на 4 плеяди. Першу з них склали нейроендокринні і метаболічні параметри, практично однакові у осіб обох статей (табл. 1).

Таблиця 1. Нейроендокринні і метаболічні параметри щурів, для яких відсутні статеві розбіжності

№	Параметр		Самці	Самки
1	Симпатичний тонус (АМо), %	X	58	55
		m	7	5
2	Вагальний тонус (ΔX), Mc	X	45	46
		m	7	10
3	Гуморальний канал (Мо), Mc	X	173	168
		m	16	11
4	Трийодтиронін, нМ/л	X	67	68
		m	10	10
5	Тироксин, нМ/л	X	2,51	2,67
		m	0,15	0,21
6	Натрій плазми, мМ/л	X	132	134
		m	1	1
7	Натрій еритроцитів, мМ/л	X	21,5	22,5
		m	2,6	2,0
8	Калій еритроцитів, мМ/л	X	79	79
		m	5	6
9	Хлоридермія, мМ/л	X	96	99
		m	1	1
10	Фосфатемія, мМ/л	X	1,24	1,24
		m	0,01	0,01
11	Холестерин β-ліпопротеїдів, мМ/л	X	1,00	1,07
		m	0,15	0,05
12	Холестерин α-ліпопротеїдів, мМ/л	X	0,87	0,80
		m	0,06	0,07
13	Триацилгліцериди, мМ/л	X	1,08	1,06
		m	0,02	0,03
14	Дієнові кон'югати, E ²³⁰ /мл	X	1,47	1,48
		m	0,21	0,08
15	Малоновий диальдегід, мкМ/л	X	69	58
		m	10	4
16	Каталаза еритроцитів, пкат/л	X	63,9	62,5
		m	1,9	9,4
17	Каталаза плазми, пкат/л	X	40,8	38,6
		m	4,2	5,8
18	Пероксидаза еритроцитів, нкат/мг Hb	X	2,14	2,01
		m	0,23	0,31
19	Аланінова трансаміназа, мккат/л	X	0,58	0,48
		m	0,08	0,05
20	Креатинфосфокіназа, мккат/л	X	1,70	1,66
		m	0,03	0,20
21	Загальна антипротеазна активність, г/л	X	2,41	2,46
		m	0,08	0,07

Це стосується параметрів вегетативної регуляції, тироїдних гормонів, обміну електролітів і ліпідів, ліпопероксидації, а також активності низки ферментів.

Другу плеяду склали імунні параметри, однакові у самців і самок (табл. 2).

Таблиця 2. Імунні параметри щурів, для яких відсутні статеві розбіжності

№	Параметр		Самці	Самки
Лейкоцитограма крові				
1	Еозинофіли, %	X m	5,0 1,3	4,8 0,7
2	Сегментоядерні нейтрофіли, %	X m	34,8 1,4	34,6 1,8
3	Лімфоцити, %	X m	52,2 2,6	51,4 1,7
4	Моноцити, %	X m	5,4 1,0	7,0 1,0
Імуноцитограма				
1	Т-гелпери, %	X m	30,0 0,3	29,4 0,4
2	Т-кіллери, %	X m	15,6 1,7	15,0
3	Плазмоцити, %	X m	0,0 0,0	0,8 0,5
4	0-лімфоцити, %	X m	38,2 2,8	41,0 2,1
5	Натуральні кіллери, %	X m	1,6 0,8	1,6 0,1
6	Активність натуральних кіллерів, %	X m	39,3 2,9	40,7 2,3
Фагоцитоз нейтрофілів і моноцитів крові				
1	Мікробне число нейтрофілів, мікробів/мікрофаг	X m	5,8 0,5	5,2 0,5
2	Бактерицидна здатність нейтрофілів, 10 ⁹ мікробів/л	X m	7,70 1,78	7,38 2,35
3	Фагоцитарний індекс моноцитів, %	X m	5,7 0,7	6,0 0,9
4	Мікробне число моноцитів, мікробів/макрофаг	X m	4,5 0,3	4,4 0,4
Спленоцитограма				
1	Масовий індекс селезінки, мг/г маси тіла	X m	3,78 0,36	3,72 0,38
2	Лімфоцити, %	X m	70,3 2,6	67,0 2,0
3	Лімфобласти, %	X m	7,5 1,6	9,4 1,4
4	Плазмоцити, %	X m	1,75 0,22	1,60 0,40
5	Паличкоядерні нейтрофіли, %	X m	1,50 0,26	2,00 0,45
6	Сегментоядерні нейтрофіли, %	X m	11,3 0,8	13,2 1,5
Тимоцитограма				
1	Масовий індекс тимуса, мг/г маси тіла	X m	0,64 0,08	0,79 0,11
2	Тільця Гассаля, %	X m	1,0 0,0	1,0 0,0
3	Базофіли, %	X m	3,2 0,6	2,4 0,5
4	Фібробласти, %	X m	4,9 1,0	5,8 0,9

Це стосується більшості елементів лейкоцитограми та імуноцитограми периферійної крові, фагоцитозу, відносної маси селезінки та тимуса, а також приблизно половини елементів спленоцитограми і тимоцитограми.

Разом з тим, для 25 параметрів виявлено значущі статеві відмінності, оцінені як у відсотках, так і у сигмальних відхиленнях від спільної середньої. Останній критерій більш інформативний, тому що враховує варіабільність ознаки, а отже - вагомість відхилення.

При цьому 12 ознак виявились вищими у самок (табл. 3, рис. 1). Це, передовсім, масовий індекс наднирників. До слова, розбіжність між абсолютними масами наднирників дещо менша - 44%, тому що самки пересічно на 9% легші від самців: 1969 г проти 21610 г. Більша маса наднирників у самок асоціююється з вищим рівнем в плазмі кортикостерону - секрету фасцикулярного шару адреналової кори, а також вищою мінералокортикоїдною активністю, носієм якої у щурів є, окрім альдостерону, і кортикостерон. Наші дані, в принципі, узгоджуються з отриманими Резніковим О.Г. і співавт. [14]. В 6 серіях експериментів вони констатували перевагу самок на 10% (1685 проти 1535 нМ/л), 11% (1660 проти 1490 нМ/л), 28% (525 проти 409 нМ/л), 36% (450 проти 330 нМ/л), 68% (3,86 проти 2,30 мкМ/л) і 73% (1320 проти 762 нМ/л), і лише в одній серії за пересічним рівнем кортикостерону переважали самці (370 проти 500 нМ/л). Звертає на себе увагу дуже значна варіабільність ознаки, що може бути зумовлене сезонністю, температурою чи навіть методом аналізу.

Таблиця 3. Параметри ендокринно-імуного комплексу і метаболізму, значуще вищі у самок, ніж у самців

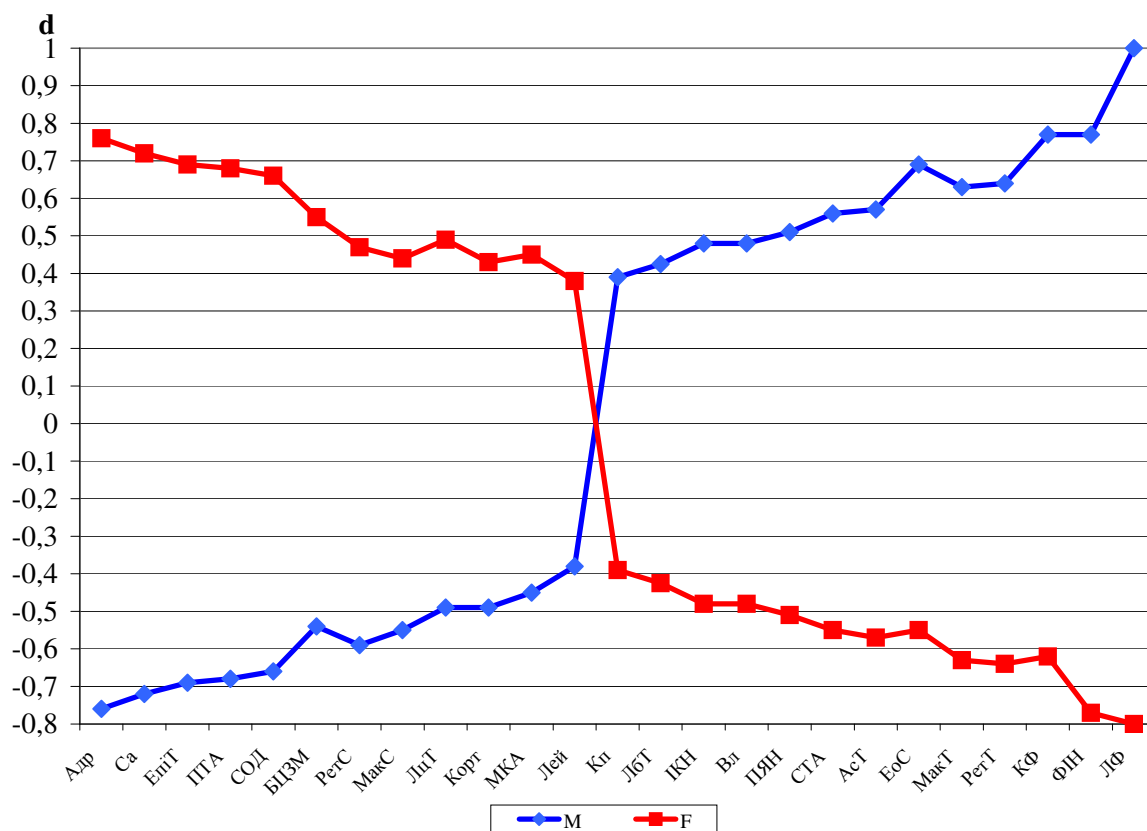
№	Параметр		Самці	Самки	Δ%	Δσ
1	Масовий індекс наднирників, мкг/г м. т.	X	21	33	+57	+1,38
		m	2	3		
2	Кортикостеронемія, нМ/л	X	337	449	+33	+0,92
		m	35	40		
3	Мінералокортикоїдна активність (Na/K)	X	30,4	36,3	+19	+0,90
		m	0,8	2,8		
4	Паратиринова активність (Ca/P)	X	1,42	1,75	+23	+1,36
		m	0,11	0,02		
5	Кальційемія, мМ/л	X	2,56	3,80	+48	+1,14
		m	0,37	0,07		
6	Супероксиддисмутаза еритроцитів, од/мл	X	51	73	+43	+1,32
		m	5	6		
7	Лейкоцити крові, 10 ⁹ /л	X	11,3	16,3	+44	+0,89
		m	1,7	1,8		
8	Бактерицидна здатність моноцитів крові, 10 ⁶ /л	X	144	273	+90	+1,09
		m	32	49		
9	Ретикулоцити селезінки, %	X	2,25	3,00	+33	+1,06
		m	0,20	0,31		
10	Макрофаги селезінки, %	X	2,00	3,00	+50	+0,99
		m	0,30	0,40		
11	Епітеліоцити тимуса, %	X	6,3	9,8	+56	+1,38
		m	0,8	0,8		
12	Лімфоцити тимуса, %	X	63,8	67,8	+6	+0,98
		m	1,6	1,6		

Вищою у самок виявилась і паратиринова активність, оцінена за співвідношенням рівнів в плазмі кальцію і фосфору, а також активність супероксиддисмутази.

З огляду на ключову роль кори наднирників в підвищенні стійкості до патогенних чинників, в тому числі інфекції, логічним видається вищий вміст в крові лейкоцитів та вища бактерицидна здатність моноцитів/макрофагів крові, як і вміст останніх, а також ретикулоцитів в селезінці. В цьому ж руслі слід розглядати і вищий вміст в тимусі самок епітеліоцитів - продуцентів тимічних гормонів, які відіграють важливу роль в імунитеті.

Іншою стороною переваги кортикостерону і, мабуть, естрогенів, є зниження низки інших параметрів імунітету та метаболізму у самок порівняно з самцями (табл. 4, рис. 1).

Рис. 1. Статевий диморфізм (сигмальні відхилення від середніх величин) ендокринно-імунних та метаболічних показників у щурів



Таблиця 4. Параметри ендокринно імунного комплексу і метаболізму, значуще нижчі у самок, ніж у самців

№	Параметр		Самці	Самки	Δ%	Δσ
1	Кальцитонінова активність (1/Ca-P)	X m	0,352 0,069	0,212 0,003	-40	-1,01
2	Калійемія, мМ/л	X m	4,34 0,10	3,85 0,20	-11	-0,78
3	Лужна фосфатаза, МО/л	X m	579 26	290 24	-50	-1,80
4	Кисла фосфатаза, МО/л	X m	36,0 2,7	27,8 0,9	-23	-1,39
5	Аспарагінова трансаміназа, мккат/л	X m	0,253 0,029	0,175 0,020	-31	-1,14
6	В-лімфоцити крові, %	X m	14,6 0,8	12,2 0,7	-16	-0,96
7	Паличкоядерні нейтрофіли крові, %	X m	2,6 0,2	1,8 0,3	-31	-1,02
8	Індекс кіллінгу нейтрофілів крові, %	X m	52,0 3,0	43,0 2,8	-17	-0,96
9	Лімфобласти тимуса, %	X m	8,8 1,1	6,2 0,6	-30	-0,85
10	Макрофаги тимуса, %	X m	6,4 0,7	4,4 0,2	-31	-1,26
11	Ретикулоцити тимуса, %	X m	5,7 1,0	2,7 0,5	-53	-1,28
12	Еозинофіли селезінки, %	X m	3,5 1,2	0,8 0,2	-77	-1,24
13	Фагоцитарна активність нейтрофілів, %	X m	59,6 1,7	50,8 1,4	-15	-1,54

ВИСНОВОК

Скринінг базальних параметрів нейроендокринно-імуного комплексу і метаболізму у щурів виявив значущі статеві розходження 25 із 70 зареєстрованих, при цьому 12 параметрів вищі у самок, а 13 - у самців. Статевий диморфізм слід враховувати при тестуванні активності біологічно активних чинників, зокрема бальнеологічних.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело.- 1988.- № 11.- С. 41-43.
2. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе.- М.: Наука, 1984.- 221 с.
3. Базарнова М.А. Цитологическое исследование пунктатов селезёнки // Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике.- К.: Вища школа, 1988.- С. 263-264.
4. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.Н. Протеолиз в норме и при патологии.- К.: Здоров'я, 1988.- 198 с.
5. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело.- 1983.- № 3.- С. 33-36.
6. Гордиенко С.М. Приемлемый для клинической практики метод оценки активности естественных и антителозависимых киллерных клеток // Лаб. дело.- 1983.- № 9.- С. 45-48.
7. Горячковский А.М. Клиническая биохимия.- Одесса: Астропринт, 1998.- 608 с.
8. Дубинина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Софронова Л.Н., Геронимус А.Л. Сравнительный анализ активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов и цельной крови у новорожденных детей при хронической гипоксии // Лаб. дело.- 1988.- №8.- С. 16-19.
9. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения кортикостерона, тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови человека (ТироидИФА-тироксин-01).- СПб.: ЗАО "Алкор Био" , 2000.- 33 с.
10. Ковальчук Г.Я., Попович І.Л., Івасівка С.В. Кортикостероїди як посередники біоактивності води Нафтуса // VIII Конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (Львів, Трускавець, 13-17 серпня 2000 р.).- Тези доп.- Львів, Трускавець, 2000.- С. 130.
11. Королюк М.А., Иванова М.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.- 1988.- №1.- С. 16-19.
12. Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д. Посібник з лабораторної імунології.- Львів, 2002.- 173 с.
13. Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени // Лаб. дело.- 1988.- № 11.- С. 48-50.
14. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология.- Черновцы: Медакадемія, 2004.- 351 с.
15. Hiller G. Test for the quantitative determination of HDL cholesterol in EDTA plasma with Reflotron © // Klin. Chem.- 1987.- 33.- P. 895-898.
16. Jondal M., Holm G., Wigzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells // J. Exp. Med.- 1972.- 136, № 2.- P. 207-215.
17. Limatibul S., Shore A., Dosch H.M., Gelfand E.W. Theophylline modulation of E-rosette formation: an indicator of T-cell maturation // Clin. Exp. Immunol.- 1978.- 33, № 3.- P. 503-513.

V.M. FIL', I.S. FLYUNT, G.Ya. KOVALCHUK, A.S. IVASIVKA

SEXUAL DIMORPHISM OF PARAMETERS OF NEUROENDOCRINE-IMMUNE COMPLEX AND METABOLISM AT RATS

Screening of basal parameters of neuroendocrine-immune complex and metabolism at rats has revealed essential sexual distinctions 25 of 70 registered, thus 12 parameters are higher at females, and 13 - at males.

Дрогобицький державний педагогічний університет ім. І. Франка, кафедра анатомії, фізіології та валеології; кафедра здоров'я людини; кафедра біології

Дата поступлення: 10.12.2009 р.