

УДК [616.36-018-092.9:612.014.41:577.128]-053.31

© I.B. Тарасова, 2012.

ГІПОКСІЯ – ЧИННИК ДЕФІЦИТУ ТА ДИСБАЛАНСУ МІКРО-ЕЛЕМЕНТІВ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ

I.B. Тарасова

Медичний інститут, кафедра педіатрії з курсом медичної генетики (завідувач – д.м.н., проф. В.Е.Маркевич), Сумський державний університет м. Суми

HYPOXIA – A FACTOR THAT PROVOKE DEFICIENCY AND IMBALANCE OF MICROELEMENTS IN LIVER OF NEWBORN RATS

I. V. Tarasova

SUMMARY

A high saturation of liver with essential microelements is appropriate to newborn rats. By the seventh day of life the content of microelements (Fe, Cu, Cr, Zn, Co) decreases in 2,5 – 6 times. The content of manganese and toxic lead is stable during the whole early dairy period. Light degree of a hypoxia is characterized by decrease of the level of iron, manganese and zinc, by the stable content of cobalt and copper and the moderate increase of chrome. The severe degree of a hypoxia is characterized by the total insufficiency of microelements, which is more considerable in animals of early dairy period. Light degree of a hypoxia leads to increase of accumulation of lead in 3 times. During the hypoxia of severe degree the increase of content of lead is observed.

ГИПОКСИЯ – ФАКТОР ДЕФИЦИТА И ДИСБАЛАНСА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

И. В. Тарасова

РЕЗЮМЕ

Для новорожденных крысят свойственна высокая насыщенность печени МЭ. На седьмой день жизни содержание МЭ (Fe, Cu, Cr, Zn, Co) уменьшается в 2,5 – 6 раз. Содержание марганца и токсического свинца стабильное на протяжении раннего молочного периода. Легкая степень гипоксии характеризуется уменьшением уровня железа, марганца и цинка, стабильным содержанием меди и кобальта и умеренным увеличением хрома. Тяжелая гипоксия характеризуется тотальной микроэлементной недостаточностью, более значительной у животных раннего молочного периода. Гипоксия легкой степени приводит к увеличению накопления свинца в 3 раза. При тяжелой гипоксии наблюдается увеличение его содержания.

Ключові слова: печінка, гіпоксія, мікроелементи, новонароджені щури.

Постасфіктичні зміни, що виникають в організмі новонароджених дітей визначаються не лише ураженням ЦНС, а й дисфункцією інших органів, у тому числі і гепатобіліарної системи. Клініко-лабораторні прояви порушення функціонального стану гепатобіліарної системи діагностуються у 55,3% новонароджених, які мали асфіксію різного ступеня тяжкості при народженні [1]. Печінка є органом, що забезпечує функціонування багатьох ферментативних систем, до складу яких входять мікроелементи (МЕ). Окрім того, в ній депонуються мікроелементи [2, 3, 4]. Разом з тим, МЕ забезпечують перебіг біологічних реакцій у печінці та виступають каталізаторами багатьох із них. Роль МЕ в метаболічній адаптації новонароджених, особливо на фоні гіпоксії залишається не вивченою. Не досліджений стан МЕ забезпечення печінки у разі впливу гіпоксії різного ступеня важкості.

Мета роботи - дослідити особливості вмісту та балансу МЕ у тканинах печінки новонароджених

щурів у разі експериментальної гіпоксії різного ступеня важкості.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Вивчалась забезпеченість МЕ (залізо, мідь, цинк, марганець, хром та кобальт) та вміст свинцю в печінці в умовах експериментальної гіпоксії. Дослідження проведено на 60 лабораторних щурах на першу та сьому добу життя. Ці терміни життя у щурів відповідають періодам новонародженості та ранньому молочному. Утримання щурів та експерименти виконані відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсинської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2000). Використана гіпобарична модель гіпоксії [5]. Помірну гіпоксію створювали шляхом розміщення щурів в

герметичну камеру на 2 години, де створювали атмосферний тиск у 525 мм рт. ст., що відповідає парціальному тиску кисню у 110 мм рт. ст. Поглинання вуглекислого газу в камері здійснювалося за допомогою натронного вапна. Гіпоксію важкого ступеня створювали утриманням тварин протягом 2 годин у камері де атмосферний тиск становив 380 мм рт. ст., що відповідає парціальному тиску кисню у 80 мм рт. ст.

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації через 12 годин та на 7-му добу після виведення з експерименту. Визначення вмісту МЕ проводили на спектрофотометрі С115-М1 з полумєним атомізатором. [6, 7, 8]. Концентрацію наводили в мкг/г вологої тканини. Виміри та розрахунки проводили за допомогою програми AAS-SPECTR.

Аналіз та статистична обробка даних проводи-

лись з використанням програм STATISTICA 7.0 та MS Excel XP. Використовувалися придатні для медико-біологічних досліджень методи параметричної та непараметричної статистики [9, 10]. Для визначення взаємозв'язків між показниками використовували методи кореляційно-регресійного аналізу. Для виявлення факту і ступеня впливу контрольованих факторів (ступінь гіпоксії і вік тварин) на результуючі ознаки провели двофакторний дисперсійний аналіз (ДДА) [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У новонароджених вміст заліза в печінці становить $1058,44 \pm 11,87$ мкг/г. Через тиждень його рівень зменшується до $158 \pm 1,65$ мкг/г, що є наслідком активного використання тканинного заліза в окислювальних реакціях та процесах вивільнення енергії.

Таблиця 1

Вміст мікроелементів у печінці тварин контрольної серії

Період життя	Вміст мікроелементів (мкг/г)						
	кобальт	мідь	залізо	хром	цинк	марганець	свинець
Новонароджені	$0,93 \pm 0,11$	$24,55 \pm 0,54$	$1058,44 \pm 11,87$	$60,54 \pm 0,93$	$548,7 \pm 1,98$	$4,29 \pm 0,34$	$0,66 \pm 0,07$
7-й день	$2,31 \pm 0,17^*$	$5,88 \pm 0,09^*$	$158 \pm 1,65^*$	$27,12 \pm 0,34^*$	$138,3 \pm 0,87^*$	$3,54 \pm 0,28$	$0,54 \pm 0,09$

Примітка: * - $p \leq 0,001$ у порівнянні з новонародженими тваринами

За умов гіпоксії легкого ступеня у новонароджених зменшується вміст заліза майже вдвічі – до $681,66 \pm 3,65$ мкг/г, гіпоксія важкого ступеня призводить до його ще більшого зниження ($364,65 \pm 2,87$ мкг/г). У тварин семиденного віку, що перенесли гіпоксію легкого ступеня знаходили зменшення вмісту заліза до $69,5 \pm 1,83$ мкг/г, що майже вдвічі менше ніж у контрольній групі. Гіпоксія важкого ступеня викликає зменшення його вмісту у порівнянні з легким ступенем ще на 16,58 % ($p \leq 0,05$) – до $57,98 \pm 0,76$ мкг/г.

За результатами ДДА рівень заліза у разі гіпоксії як легкого, так і важкого ступеня змінюється у значних межах. Сила фактора ступеня гіпоксичного ураження переважає в печінці (68,65%). Концентрація металу має також вікову залежність з силою дії фактора 23,11%. Взаємодія зазначених чинників майже не має впливу.

Для міді властиве значне накопичення у новонароджених шурів. Так, її рівень в печінці складає $24,55 \pm 0,54$ мкг/г. Наприкінці першого тижня життя спостерігається зменшення - до $5,88 \pm 0,09$ мкг/г, що є свідченням використання печінки як депо цього МЕ.

Гіпоксія легкого ступеня не призводить до зменшення вмісту міді в тканинах печінки. Проте, важка гіпоксія у новонароджених тварин призводить до зменшення її вмісту. Різниця з контролем при цьому становить 32,63% ($p \leq 0,05$). У тварин семиденного

віку спостерігається зменшення рівня міді вже за умов гіпоксії легкого ступеня – на 31,64% ($p \leq 0,05$), у порівнянні з контрольною серією. В даній віковій групі тварин за умов гіпоксії важкого ступеня спостерігається подальше зменшення вмісту міді, порівняно з гіпоксією легкого ступеня на 18,16% ($p \leq 0,05$).

ДДА впливу контрольованих чинників на вміст міді, вказує на переважання сили фактора ступеня гіпоксії (76,3%) над фактором віку (22,4%) та відсутність впливу їх комбінації.

Вміст хрому в печінці у новонароджених ($60,54 \pm 0,93$ мкг/г) набагато перевищує його рівень у тварин семиденного віку ($27,12 \pm 0,34$ мкг/г), що свідчить про значне її насичення хромом у плода.

Гіпоксія легкого ступеня призводить до зростання вмісту хрому в печінці на 25,75% ($p \leq 0,05$), що ймовірно є свідченням пристосувальних механізмів. Натомість за умов гіпоксичного ураження важкого ступеня спостерігається значне зменшення рівня хрому. Різниця з контролем складає 21,30% ($p \leq 0,05$). Зменшення тканинної форми хрому свідчить про зрив адаптаційних механізмів за умов важкого гіпоксичного ураження.

У тварин віком 7-и днів в тканинах печінки вміст хрому за умов гіпоксії легкого ступеня зменшується в 5 разів. Важка гіпоксія порівняно з гіпоксичним ураженням легкого ступеня призводить до зменшен-

ня вмісту цього МЕ на 47,86% ($p < 0,05$).

ДДА вмісту хрому в органах тварин різного віку за умов гіпоксичного ураження легкого та важкого ступеня показав, що рівень елемента має виражену вікову залежність. Так, сила впливу фактора віку на рівень хрому в печінці становить 69,4%. Проте, чинник ступеня гіпоксії має також вплив на рівень хрому в печінці (27,6%).

На відміну від заліза, міді та хрому, вміст кобальту з віком зростає, що свідчить про відсутність його депо. Так, у новонароджених щурів його рівень в печінці складає $0,93 \pm 0,11$ мкг/г, а у щурів віком один тиждень - $2,31 \pm 0,17$ мкг/г, що свідчить про накопичення тканинної форми елемента.

Вивчаючи динаміку вмісту кобальту внаслідок дії гіпоксії легкого ступеня ми не знайшли вираженої закономірності. Так, його рівень в печінці достовірно не змінюється. Проте, за умов важкого гіпоксичного ураження відбувається зменшення вмісту кобальту в печінці порівняно з контрольними тваринами на 41,94% ($p \leq 0,05$).

Подібна тенденція зміни вмісту кобальту спостерігається у тварин віком 1 тиждень. Так, за умов гіпоксії легкого ступеня, рівень елемента зменшується в печінці на 29,01% ($p \leq 0,05$). В умовах важкої гіпоксії вміст кобальту зменшується порівняно з контролем на 49,79% ($p \leq 0,05$).

ДДА вказує на те, що в печінці на рівень кобальту переважний вплив має віковий фактор з силою дії 74,1%, при цьому вплив чинника ступеня гіпоксії складає лише 22,6%.

Вміст марганцю має залежність від терміну спостереження. Так, в печінці його рівень має тенденцію зменшення з $4,29 \pm 0,34$ мкг/г у новонароджених щурят до $3,54 \pm 0,28$ мкг/г – у тварин віком 1 тиждень.

Легкий ступінь гіпоксії у новонароджених характеризується зменшенням вмісту марганцю більше ніж у 4 рази. У тварин віком 1 тиждень також відбувається його втрата, але ступінь змін є меншим - 56,50% ($p \leq 0,05$), порівняно із контролем.

Гіпоксія важкого ступеня призводить до значних змін вмісту марганцю, проте характер зниження елемента має залежність від віку і більш виражений у семиденних щурів. У новонароджених тварин рівень марганцю зменшується у порівнянні з гіпоксичним ураженням легкого ступеня на 55,68% ($p \leq 0,05$), в той час як у щурів віком 7 днів – на 33,47% ($p \leq 0,05$). ДДА встановив, що вміст марганцю в печінці має залежність від ступеня гіпоксії, де сила його дії становить 54,8%. Проте, достовірний вплив має також віковий чинник (33,1%).

Відзначається значне насичення печінки цинком. Вміст елемента на першу добу життя складає $548,7 \pm 1,98$ мкг/г. Наприкінці першого тижня життя рівень його зменшується до $138,3 \pm 0,87$ мкг/г.

Гіпоксичне ураження легкого ступеня призводить до втрати цинку. У новонароджених щурят його рівень зменшується на 57,22% ($p \leq 0,05$). У

щурів віком 1 тиждень зміни рівня цинку дещо менші (25,76% ; $p \leq 0,05$), що може бути свідченням розвитку адаптаційних механізмів.

Важкий ступінь гіпоксії поглиблює зміни елементного складу особливо у новонароджених тварин. Порівняно з гіпоксичним ураженням легкого ступеня, вміст цинку зменшується в перший день життя на 20,12% ($p \leq 0,05$), в той час як у тварин семиденного віку – на 8,77% ($p \leq 0,05$).

ДДА свідчить, що зміни рівня цинку в печінці мають виражену залежність від ступеня гіпоксії (45,6%). Віковий чинник має незначний вплив на результуючу ознаку. Натомість, комбінація контрольованих факторів має вплив на рівень цинку (38,4%), що пояснює значні зміни його вмісту у новонароджених та незначну реакцію елемента у тварин семиденного віку.

Вміст свинцю в печінці залишається стабільним у новонароджених та тварин 7-ми денного віку і складає від $0,54 \pm 0,09$ мкг/г до $0,66 \pm 0,07$ мкг/г.

За умов експериментальної гіпоксії легкого ступеня печінка накопичує свинцю у три рази більше ніж у контролі. Зростання ступеня гіпоксії призводить до збільшення вмісту свинцю у порівнянні з легким гіпоксичним ураженням ще на 8,26% ($p \leq 0,05$).

На сьомий день життя внаслідок дії гіпоксії легкого ступеня відбувається перерозподіл свинцю між тканинами організму. Так, у печінці спостерігається зменшення його рівня на 53,71% ($p \leq 0,05$). Гіпоксичне ураження важкого ступеня призводить до зменшення вмісту свинцю на 57,33% ($p \leq 0,05$).

ДДА встановив, що зміни вмісту свинцю в печінці мають майже рівну залежність від фактора віку (41,3%) та ступеня гіпоксії (45,6%), при цьому сила впливу комбінації чинників є недостовірною.

ВИСНОВКИ

1. Для новонароджених тварин властива висока насиченість печінки МЕ. Наприкінці семиденного терміну життя щурів вміст МЕ (Fe, Cu, Cr, Zn, Co) у печінці зменшується у 2,5 – 6 разів. Вміст марганцю та токсичного свинцю у печінці стабільний протягом раннього молочного періоду.

2. За умов гіпоксичного ураження в тканинах печінки відбувається порушення елементного складу. Легкий ступінь гіпоксії характеризується значним зменшення рівня заліза, марганцю та цинку, стабільним вмістом міді та кобальту та помірним підвищенням хрому. Важкий ступінь гіпоксії характеризується тотальним зростанням мікроелементної недостатності, яка є більш значною у тварин раннього молочного періоду.

3. Дія гіпоксії легкого ступеня призводить у новонароджених тварин до зростання накопичення свинцю в печінці у 3 рази. У разі тяжкого ступеня гіпоксії спостерігається подальше зростання його вмісту.

4. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу контрольованих факторів на вміст МЕ

свідчить про те, що сила фактора ступеня гіпоксичного враження переважає в печінці для вмісту заліза, марганцю і цинку. Для міді сила дії гіпоксичного фактора досить слабка. Для хрому та кобальту провідну роль грає вікова залежність, проте і чинник ступеня гіпоксії має значний вплив на його рівень. Для свинцю його вміст в печінці має рівну залежність від фактора віку та ступеня гіпоксичного враження.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мавропуло Т.К. Клінічна значущість порушень функціонального стану гепатобіліарної системи у дітей, які мали асфіксію при народженні / Т.К. Мавропуло, Н.В. Дупленко // Педіатрія, акушерство і гінекологія.- 2007.- №4.- с. 38.
2. Погорелов М. В. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення. / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач та співав.- Суми.: Сумський державний університет, 2010.- 145 с.
3. Systemic Translocation of Particulate Matter – Associated Metals Following a Single intratracheal instillation in Rats / J.G. Wallenborn, J.K. Mcgee, M.C. Schlanweizer [et all.] // Toxicological sciences. – 2007. – Vol. 98(1). – P. 231-239.
4. Min K.S. Increased Hepatic Accumulation of Ingested Cd is Associated with Upregulation of Several Intestinal Transporters in Mice Fed Diets Deficient in Essential Metals / K.S.Min, H.Ueda, T.Kihara, K. Tanaka /

/ Toxicological sciences - 2008. - Vol. 106(1). - P. 284-289.

5. Середенко М.М. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. / М. М. Середенко. – К. : Наукова думка, 1987. – 200 с.

6. Electrothermal atomic absorption spectrophotometry of nickel in tissue homogenates / F.W.Sunderman, A.Marzouk, M.C.Crisostomo [et all] // Annals of Clinical and Laboratory Science. – 2001. - Vol. 15, Issue 4. – P.299-307.

7. Butala S.J. Atomic absorption spectrophotometry methodology for the quantitative analysis of mercury in fish and hair / S.J.Butala, L.P.Scanlan, S.N.Chaudhuri // J Food Prot November. – 2006. – Vol. 69(11). – P.2720-2728.

8. Zareba S. Determination of Fe (II) and Zn (II) by spectrophotometry, atomic absorption spectrophotometry and ions chromatography methods in Vitrum / S. Zareba, K. Szarwilo, A. Pomykalski // Farmaco May. – 2005. – Vol. 60(5). – 459-464.

9. Мінцер О. П. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині : навч. посібник / О. П. Мінцер, Ю. В. Вороненко, В. В. Власов. – К. : Вища школа, 2003. – 350 с.

10. Гойко О. В. Практичне використання пакета STATISTICA для аналізу медико-біологічних даних: навч. посібник / О. В. Гойко. – К. : Київська медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 2004. – 76 с.

11. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. - К.: МОРИОН, 2000.- 320 с.