

УДК 616.24-001.36-092.4:612.017.1+612.121

А.С. АЛИПБЕКОВА

Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова, г. Алматы

АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО «ШОКОВОГО» ЛЕГКОГО

В данной статье представлены результаты цитохимического изучения активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови крыс через 1, 24, 72 часа после введения олеиновой кислоты.

Ключевые слова: сукцинатдегидрогеназа, активность фермента, цитохимические параметры, лимфоциты периферической крови крыс, динамика развития экспериментального «шокового» легкого.

Известно, что сукцинатдегидрогеназа представляет собой фермент цикла трикарбоновых кислот; он локализован на внутренней мембране митохондрий и играет важную роль в клеточном дыхании [1].

Цель исследования – цитохимическое изучение активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови крыс через 1, 24, 72 часа после введения олеиновой кислоты.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 240 белых беспородных крысах обоего пола массой 160-200 г, составивших 4 серии опытов, включая контрольных животных. Создание модели «шокового» легкого проводили путем введения олеиновой кислоты в ткань легких в дозе 0,27 мл на 100 г массы животного. Животных забивали путем массивного одноразового забора крови из правого желудочка сердца через 1, 24, 72 часа с момента введения токсического реагента. До введения олеиновой кислоты и забоя подопытных крыс осуществляли наркоз посредством интраперитонеального применения 0,3 мл 5% кетамина и 0,2 мл 2% ксилазина. Определение сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах проводилось по методу Нарциссова Р.П. [2]. Активность СДГ в мазках крови подсчитывали в виде процента ферментположительных клеток с последующим расчетом среднего цитохимического коэффициента.

Для более точной оценки активности СДГ в лимфоцитах определяли: а) количество интенсивно окрашенных гранул, приходящихся на 1 клетку; б) индекс относительной активности фермента (ИОАФ) – отношение количества окрашенных или крупных гранул к количеству слабо окрашенных или мелких гранул в 1 клетке; в) процентное содержание интенсивно окрашенных гранул от всего числа гранул в 1-й клетке. Вычислялись коэффициенты вариации (разнородность клеток по активности фермента) – V; асимметрии (сбалансированность пулов с высокой и низкой активностью) – A; эксцесса (достаточность клеток с типичной активностью фермента) – E.

Результаты и обсуждение

Как следует из таблицы 1, у интактных животных средняя активность фермента составляла 23,05±1,32 гранулы на 1 клетку, из которых интенсивную окраску имели 4,37±0,54 гранулы, что составило 18,9% от всего

количества. При этом величина индекса относительной активности фермента составляла 0,24±0,03 усл.ед.

В раннем постшоковом периоде (через 1 час после введения токсичного метаболита) происходило повышение общей активности сукцинатдегидрогеназы до 30,09±2,32 гранулы на 1 клетку по сравнению с ее контрольным уровнем (P < 0,05); число интенсивно окрашенных гранул в этот срок исследования не изменялось, величина индекса относительной активности фермента (ИОАФ) имела тенденцию к уменьшению при достоверно незначимых колебаниях процента гранул с высокой активностью энзима (табл. 1).

Рассчитанные по средней активности сукцинатдегидрогеназы дополнительные цитохимические параметры позволили получить информацию о состоянии популяции лимфоцитов. Так, отмечено возрастание коэффициента асимметрии (от -0,81 в исходном состоянии до +0,38) через 1 час, которое указывает на сверхсильную активацию отдельных клеточных пулов и которое можно трактовать в соответствии с литературными данными, как усиление иммунных функций, в частности, клеток антителопродуцентов [3]. Снижается коэффициент эксцесса (от -0,94 до -1,34), свидетельствующий о расхождении лимфоцитов с нормальной активностью фермента, который расценивается как мобилизация резерва их популяций в циркулирующем русле, увеличивается коэффициент вариации (от +0,14 до +0,20), указывающий в пользу гетерогенности лимфоцитов по содержанию фермента, и интерпретируемый как признак начала иммуногенеза [4].

Наблюдаемые сдвиги цитохимических показателей активности сукцинатдегидрогеназы являются реакцией на клеточную гипоксигению, и она связана с интенсификацией клеточного дыхания [5]. Как считают авторы, такая активизация СДГ не зависит от того, по какому механизму развивается гипоксия.

Таблица 1 – Активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови в динамике развития экспериментального «шокового» легкого

Опытные группы	Контроль	Через 1 час	Через 24 часа	Через 72 часа
Кол-во всех гранул/клетка	23,05±1,32	30,09±2,32*	23,78±1,32	27,39±1,05*
Кол-во интенсивно окрашенных гранул/клетка	4,37±0,54	4,39±0,55	2,89±0,57*	4,88±0,43
ИОАФ/клетка, усл. ед.	0,24±0,03	0,17±0,02	0,14±0,03*	0,21±0,017
% интенсивно окрашенных гранул/клетка	18,89±1,85	14,65±1,66	12,13±2,28*	17,72±1,19
Коэффициент асимметрии	-0,81	+0,38	+1,40	-0,66
Коэффициент эксцесса	-0,94	-1,34	+0,53	-0,67
Коэффициент вариации	+ 0,14	+0,20	+0,14	+0,09
Примечание: * P < 0,05; n – количество животных 20				

Через 24 часа после воспроизведения «шокового» легкого общее количество гранул в лимфоцитах восстанавливалось до нормального уровня, однако число интенсивно окрашенных гранул имело четкую тенденцию к уменьшению по сравнению с показателем в исходном состоянии и при 1-часовой экспозиции ($2,89 \pm 0,57$). Индекс относительной активности фермента и доля интенсивно окрашенных гранул снижались соответственно до $0,14 \pm 0,03$ усл.ед. и $12,1 \pm 2,28\%$ ($P < 0,05$) по сравнению с данными у интактных животных. Обнаруженные изменения свидетельствуют об истощении запасов фермента и угнетении его активности, несмотря на «нормальное» число гранул в клетке. Причем повышение коэффициента асимметрии (по сравнению с контролем и 1-часовым экспериментом), указывающее на усиленную активацию отдельных клеток на фоне ингибирования окислительно-восстановительных процессов, расценивается как метаболическая реакция, направленная на поддержание уменьшающегося энергообеспечения клеток популяции [6, 7]. Увеличение коэффициента эксцесса относительно отрицательных его значений в норме и предыдущей опытной группе является доказательством накопления клеток с атипичной активностью. Последнее, как правило, обусловлено развитием гипоксических явлений в клеточных структурах [8].

По истечении 72-часового периода после начала развития острой легочной недостаточности колебания показателей активности сукцинатдегидрогеназы были несущественными по отношению к контрольным значениям, но достоверно отличались от таковых при 24-часовой экспозиции: имелась тенденция к увеличению индекса относительной активности фермента и процента интенсивно окрашенных гранул ($p < 0,1$). Коэффициент асимметрии оставался сниженным по сравнению с его значением в предыдущих опытных группах и приобретал, как и в исходном состоянии ($-0,81$), отрицательный знак, но с меньшей абсолютной величиной ($-0,66$), то есть его превышение контрольной величины было не столь заметным, как при более ранних сроках. Величина коэффициента эксцесса ($-0,67$) по отношению к контрольным значениям ($-0,94$) находилась в зоне отрицательных значений, коэффициент вариации относительно исходного был меньше, но эти различия были статистически незначимыми.

Выводы

Полученные результаты изменений цитохимических показателей активности сукцинатдегидрогеназы в динамике развития экспериментального «шокового» легкого и их анализ позволяют сделать вывод о выраженной защитно-приспособительной реакции организма в ранние сроки (24 часа) после применения «шокового» раздражителя и напряжении защитных механизмов метаболической активности фермента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки – М.: Мир, 1974. – 956 с.
- 2 Нарциссов Р.П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека // Арх. анатом., гистолог. и эмбриол. – 1969. – №5. – С. 85-91
- 3 Баранец Н.И., Долгих В.М., Суслова Г.Ф. и др. Использование показателя активности сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов для прогнозирования течения постреанимационного периода // Бюл. экспер. биол. и мед. – 1985. – №11. – С. 541-543
- 4 Matthay M.A., Zemans R.L. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment // Annu. Rev. Pathol. – 2011. – V. 28(6). – P. 147-163
- 5 Васин М.В., Королева Л.В. Активизация сукцинатоксидазной системы клеток при патофизиологических состояниях организма // Митохондрии в патологии: Материалы Всероссийского рабочего совещания. – Пущино, 2001. – С. 25-27
- 6 Оганисян А.О., Оганесян К.Р., Минасян С.М. и др. Влияние солодки на активность сукцинатдегидрогеназы при воздействии вибрации // Гигиена и сан. – 2006. – №4. – С. 76-77
- 7 Хундерякова Н.В., Захарченко М.В., Захарченко А.В. и др. Гиперактивация сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах крови новорожденных крысят // Биохимия. – 2008. – Т. 73. – №3. – С. 414-419
- 8 Yuan Yu-Lin, Zhou Xu-Hong, Zhou Xin-Hua, Dai Ji-Bin, Yuan Hua Выявляемые электронномикроскопическим цитохимическим анализом изменения лектина и сукцинатдегидрогеназы у крыс при предварительной гипоксии // Jiepoixue zazhi=Chin. J. Anat. – 2003. – Vol. 26. – №4. – С. 331-334

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

А.С. ӘЛІПБЕКОВА

С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық Медицина Университеті, Алматы қ.

ТӘЖІРІБЕЛІК ЖЕҢІЛ «ЕСЕҢГІРЕУДІҢ» ДАМУ ҚАРҚЫНЫНДА ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДЫҢ ПЕРИФЕРИЯЛЫҚ ҚАНЫНДАҒЫ ЛИМФОЦИТТЕРДЕ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗДАРДЫҢ БЕЛСЕНДІЛІГІ

Сукцинатдегидрогеназ дегенімзүш карбондыққышқыл циклі фермент, жасушалық дем алуында маңызды рөл атқарады.

Материалдар және әдістер

Тәжірибе салмағы 160 – 200 г болатын екі жынысты ақ тексіз 240 егеуқұйрыққа жасалды. Жеңіл «есеңгірету» моделін құру жануардың 100 г салмағына 0,27 мөлшерінде олеин қышқылын енгізу жолымен жүргізілді. Лимфоциттерде сукцинадегидрогеназдарды анықтау Р.П. Нарциссов әдісі бойынша жасалды.

Нәтижелері және талқылау

Уытты метаболитті енгізген соң 1 сағаттан кейін 1 жасушаға $30,09 \pm 2,32$ түйіршекке дейін жалпы белсенділігінің артуы болды; қарқынды боялған түйіршектердің саны өзгерген жоқ, ферменттің қатысты белсенділігі индексінің (ФҚБИ) көлемі азайды. 24 сағаттан кейін лимфоциттағы түйіршектердің жалпы саны қалыпты деңгейге дейін орнына келді, қарқынды боялған түйіршектер саны азайды. ФҚБИ және қарқынды боялған түйіршектер үлесі сәйкесінше $0,14 \pm 0,03$ шартты бірлікке дейін және $12,1 \pm 2,28\%$ ($P < 0,05$) төмендеді. 74 сағаттық мерзім өткеннен кейін ФҚБИ және қарқынды боялған түйіршектер пайызы ($p < 0,1$) артты.

Қорытынды

«Есеңгірету» қозғышын қолданғаннан кейін алғашқы мерзімде (24 сағат) ағзаның айқын қорғаныстық-қолданбалы реакциясы және ферменттің метаболизмдік белсенділігінің қорғаныстық тетігінің кернеуі байқалады.

Негізгі сөздер: сукцинатдегидрогеназа, егеуқұйрықтар перифериялық қанындағы лимфоциттер, тәжірибелік жеңіл «есеңгіретудің» дамуы.

SUMMARY

A.S. ALIPBEKOVA

Kazakh national medical university
n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c.

THE ACTIVITY OF SUCCINATE DEHYDROGENASE IN THE PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF RATS IN THE DYNAMICS OF THE DEVELOPMENT OF THE EXPERIMENTAL “SHOCK” LUNG

Succinate dehydrogenase is an enzyme of the tricarboxylic acid cycle; it plays an important role in the cellular respiration.

Material and methods

The experiments were carried out on 240 outbred albino rats of both sexes, with the weight of 160 – 200 grams. Creating the model of “shock” lung was performed by introducing oleic acid in the lung tissue at a dose of 0.27 ml for 100 g of the animal body weight. The determination of succinate dehydrogenase in the lymphocytes was performed according to R. P. Nartsissov’s method.

Results and discussion

In 1 hour after the introduction of the toxic metabolite, there was an increase in the total activity of succinate dehydrogenase up to 30.09 ± 2.32 granules for 1 cell; the number of intensely colored granules did not change; the value of the enzyme relative activity index (ERA) decreased.

After 24 hours, the total number of granules in the lymphocytes was restored to a normal level, the number of intensely colored granules decreased. The ERA and portion of intensely colored granules decreased to 0.14 ± 0.03 c.u. and $12.1 \pm 2.28\%$ ($P < 0.05$), respectively. After the 72-hour period, the ERA and the percentage of intensely colored granules increased ($p < 0.1$).

Conclusions

There was a pronounced defense and adaptive response of the body in the early period (24 hours) after the application of the “shocking” stimulant and the tension of the defense mechanisms of the enzyme metabolic activity.

Key words: succinate dehydrogenase, peripheral blood lymphocytes of rats, the dynamics of the development of the experimental “shock” lung.

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК 618.1

А.Т. РАЙСОВА, Р.Г. НУРХАСИМОВА, Д.С. ЖУНУСОВ, А.Ж. ЗУЛПУХАРОВ,
А.Ш. БАХТИЯРОВА, Ж.Е. ТОРГАУЫТОВА

Международный Казахско-Турецкий университет им. Х. А. Ясави, г. Туркестан

РЕЗУЛЬТАТЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

В статье представлены особенности и удельный вес метаболических нарушений у пациенток с СПКЯ и бесплодием. Установлены корреляционные взаимосвязи инсулинорезистентности и гиперинсулинемии с функциональным состоянием нейроэндокринного звена репродуктивной системы при СПКЯ. Представлены клинико-лабораторные маркеры инсулинорезистентности у пациенток с СПКЯ и бесплодием. Обоснована патогенетическая роль метформина гидрохлорида из группы бигуанидов, в комплексной терапии больных с СПКЯ и инсулинорезистентностью при восстановлении менструальной и генеративной функций.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников (СПКЯ), бесплодие, инсулинорезистентность, гиперинсулинемия, метаболический синдром.

Восстановление репродуктивного здоровья у пациенток с бесплодием имеет важное медико-социальное значение, поскольку определяет решение демографических проблем и сохранение генофонда.

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является наиболее распространенной формой эндокринопатий и ведущей причиной ановуляторного бесплодия [1, 2]. Большинство научных исследований свидетельствует о низкой реабилитации генеративной функции у больных с СПКЯ, при этом результаты гормональной и хирургической стимуляции овуляции не превышают 25-30%, в программе же экстракорпорального оплодотворения частота наступления беременности у таких пациенток еще меньше и составляет менее 10% на цикл стимуляции, что значительно ниже результатов вспомогательных репродуктивных технологий при других формах бесплодия [3, 4]. Значительная сложность в восстановлении фертильности у больных с СПКЯ обусловлена нарушением ряда уровней нейроэндокринной регуляции, задействованных в развитии патологии. Большинство исследователей считает, что наибольшая сложность в реабилитации генеративной функции при СПКЯ отмечается на фоне метаболических нарушений, сопровождающихся инсулинорезистентностью (ИР), гиперинсулинемией (ГИ), являющихся ключевым фактором в усугублении овариальной гиперандрогении, обменных

нарушений, хронической ановуляции и дисбаланса в системе регуляторов фолликулогенеза [5, 6, 7].

Данные о клинико-лабораторных маркерах инсулинорезистентности, являющихся факторами, способствующими резистентности организма к стимулирующей терапии и снижающими эффективность лечения бесплодия при СПКЯ малочисленны, в региональном аспекте вообще отсутствуют. В этой связи вопросы, касающиеся характера и частоты метаболических нарушений при СПКЯ, их взаимосвязи с функциональным состоянием нейроэндокринного звена репродуктивной системы, представляются весьма актуальными.

Цель исследования – оценка характера и удельного веса метаболических нарушений с обоснованием лечебных мероприятий по восстановлению репродуктивной функции у больных с СПКЯ и инсулинорезистентностью.

Материал и методы

Для реализации указанной цели исследования было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 94-х пациенток с диагностированным синдромом поликистозных яичников и бесплодием.

В соответствии с критериями ESHRE/ASRM, 2004 [8], диагноз СПКЯ верифицировали при наличии 2 из 3 характерных признаков:

- 1) нарушение менструального цикла по типу олигоменореи, аменореи и/или хроническая ановуляция;
- 2) гиперандрогения, проявляющаяся повышенным