

СТЕПЕНЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛИМЕНТАРНОМ ОЖИРЕНИИ

Мялюк О. П., Осинчук Р. Р.*

Ровненский государственный базовый медицинский колледж

**ГБУЗ «Тернопольской государственной медицинской университет им. И.Я. Горбачевского», кафедра функциональной и лабораторной диагностики*

Ключевые слова: трансмембранный потенциал, аминотрансферазы, ожирение, эксперимент

Резюме: В статье представлены данные о степени повреждения клеточных мембран при экспериментальном ожирении. Установлено инициацию митохондриального пути клеточной гибели из-за снижения трансмембранного потенциала ($p < 0,001$), что сопровождается развитием цитолитического синдрома при исследуемой патологии, который характеризуется ростом активности аминотрансфераз.

Resume: The article presents data on the degree of the cell membranes damage in experimental obesity. The initiation of the mitochondrial pathway of cell death due to a decrease in the transmembrane potential ($p < 0,001$) is established, which is accompanied by the development of cytolytic syndrome in the pathology studied, which is characterized by an increase of aminotransferases activity.

Актуальность. С каждым годом растет интерес ученых и врачей-практиков к алиментарному ожирению как серьезной угрозы здоровью населения [1]. Сегодня избыточная масса тела встречается в более 30% населения экономически развитых стран и эта тенденция быстро распространяется в развивающихся странах [2]. Поэтому ожирение рассматривается как глобальная эпидемия, охватившая различные слои населения [3], широко варьирует у представителей разных рас и этнических групп [4] и зависит от социально-экономического развития и уровня образования [5]. Наличие алиментарного ожирения повышает риск развития сахарного диабета 2 типа, гипертонии, ишемической болезни сердца, некоторых видов рака, остеоартрита, заболеваний дыхательных путей, а также нарушений репродуктивной функции и является причиной значительного роста заболеваемости и смертности [6]. Поэтому специалисты заинтересованы в более глубоком изучении различных аспектов ожирения с целью лучшего понимания факторов и процессов, вызывающих его развитие и прогрессирование, а также в разработке путей решения этой важной медико-социальной проблемы.

Поэтому, целью нашего исследования было исследовать показатели системы митохондриального окисления и состояния мембранных структур у животных с экспериментальным ожирением.

Задачи: 1. смоделировать глутамат–индуцированное алиментарное ожирение у крыс; 2. исследовать уровень потенциала митохондриальных мембран и активность аминотрансфераз при экспериментальном ожирении.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проводили на половозрелых нелинейных белых крысах-самцах массой 160,0 - 200,0 г в соответствии с Женевской конвенцией "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Geneva, 1990) и в соответствии с Общими принципами экспериментов на животных, одобренными на Национальном конгрессе

по биоэтике (Киев, Украина, 2001).

Экспериментальная модель алиментарного ожирения воспроизводилась путем применения индуктора пищевого влечения - натриевой соли глутаминовой кислоты в соотношении 0,6:100,0 и высококалорийной диеты, которая состоит из стандартной пищи (47%), сладкого концентрированного молока (44%), кукурузного масла (8 %) и растительного крахмала (1%). Контроль воспроизведения алиментарного ожирения осуществляли путем взвешивания животных, измерения назально-анальной длины и расчета индекса массы тела (ИМТ) (деления массы тела в килограммах на длину в метрах в квадрате) [7].

Животных разделили на три группы: контрольная группа - интактные животные (6 крыс); первая опытная группа - срок наблюдения через 14 дней после начала эксперимента при ИМТ > 25 (12 крыс); вторая опытная группа - через 28 дней после начала эксперимента при ИМТ > 30 (12 крыс).

Животных декапитировали под легким эфирным наркозом. Для определения количества лейкоцитов с пониженным уровнем потенциала митохондриальных мембран ($\Delta\psi$) в исследовании использовали набор «MitoScreen» («BD Pharmingen», США). Активность АлАТ и АсАТ в сыворотке крови определяли спектрофотометрически.

Статистическую обработку цифровых данных осуществляли с помощью программного обеспечения «Excel» (Microsoft, США) и «STATISTICA» 6.0. («Statsoft», США) с использованием непараметрических методов оценки полученных данных. Для всех показателей рассчитывали значение средней арифметической выборки (M), ее дисперсии и ошибки средней (m). Достоверность различий значений между независимыми количественными величинами определяли с помощью критерия Мана-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Исследование степени повреждения мембран изучали с помощью индикаторных ферментов АлАт и АсАт, которые также характеризуют степень поражения печени. Известно, что независимо от фактора, который инициирует реакции окисления, происходит рост проницаемости мембран и ряд изменений внутри клетки, что мы исследовали цитофлюориметрически с помощью флюорохрома JC-1.

Проведенное нами исследование указало на то, что при экспериментальном ожирении в крови крыс уже через 14 дней опыта наблюдалась тенденция к росту, а через 28 суток – достоверное повышение количества лейкоцитов с пониженным $\Delta\psi$, относительно данных контроля ($p < 0,001$) (рис. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что при алиментарном ожирении инициируется митохондриальный путь апоптоза через снижение трансмембранного потенциала.



Рис. 1. Количество лейкоцитов с пониженным митохондриальным трансмембранным потенциалом в крови при алиментарном ожирении (* -разность достоверная по сравнению с контролем ($p < 0,001$)).

Накопление реакционно способных свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов, снижение митохондриального трансмембранного потенциала при условии экспериментального ожирения ведет к развитию цитолитического синдрома, что проявляется выборочным повышением активности аминотрансфераз в крови и печени крыс.

При экспериментальном диет-индуцированном ожирении активность АлАт в течении времени наблюдения статистически значимо уменьшилась в гомогенате печени, но выросла в сыворотке крови ($p < 0,05$). Также отмечен рост активности АсАт в гомогенате печени на 25,00 % в первой группе и на 40,91 % - во второй группе, относительно контроля ($p < 0,05$). Тенденция к снижению активности АсАт в сыворотке крови на 11,76 % через 14 дней эксперимента со статистически значимым уменьшением активности исследуемого показателя на 43,14 % через 28 суток опыта свидетельствует, очевидно, о связывания фермента по двум его активным центрам с SH -группами. Нарушение ферментного обмена было связано с вовлечением печени в патологический процесс, сопровождающийся повышением проницаемости клеточных мембран, что способствовало выходу ферментов из клеточных структур в кровь. Поскольку АлАт является органоспецифическим ферментом печени, то в результате повреждения плазматических мембран гепатоцитов и повышении их проницаемости, соответственно, росла его активность в плазме крови.

Выводы: При алиментарном ожирении инициируется митохондриальный путь клеточной гибели из-за снижения трансмембранного потенциала ($p < 0,001$), что сопровождается развитием цитолитического синдрома при исследуемой патологии, который характеризуется ростом активности АсАт в гомогенате печени и АлАт - в сыворотке крови.

Литература

1. Nguyen D. M. The Epidemiology of Obesity / D. Nguyen, H. El-Serag // Gastroenterol. Clin. North. Am. – 2010. – № 39 (1). – P. 1–7.
2. Crowley V. E. Over view of human obesity and central mechanisms regulating energy

homeostasis. / V. E. Crowley // *Ann. Clin. Biochem.* – 2008. – № 45(Pt 3). – P. 245–255.

3. Wang Y. The obesity epidemic in the United States – gender, age, 480 socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: a systematic review and 481 meta-regression analysis / Y. Wang, M. Beydoun // *Epidemiol. Rev.* – 2007. – № 29. – P. 6–28.

4. Obesity and socioeconomic status in adults / C. L. Ogden, M. M. Lamb, M. D. Carroll, K. M. Flegal. – United States 2005–2008 : NCHS Data Brief., 2010. – Vol. 50. – P. 1–8.

5. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals / A.J. German, V. H. Ryan, A. C. German [et al.] // *The Veterinary Journal.* – 2010. – Vol. 185. – P. 4–9.

6. Prevalence of overweight and obesity in the United States 1994–2004 / C. L. Ogden, M. D. Carroll, L. R. Curtin, M. A. McDowell, C. J. Tabak, K. M. Flegal // *JAMA* 295 (13). – 2006. – P. 1549–1555.

7. Jeyakumar S.M, Vajreswari A., Giridharan N.V. Chronic dietary vitamin A supplementation regulates obesity in an obese mutant WNIN/Ob rat model. *Obesity.* 2006; 14: 52-59.

Репозиторий БГМУ