

DOI: 10.26693/jmbs02.05.188

УДК 591.111.1+616+092.9+613.3

Парцей Х. Ю., Артиш М. Б., Литвинюк Н. І.,
Слободян З. О., Ерстенюк А. М.

СТАН ЕРИТРОЦИТАРНИХ МЕМБРАН ТА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ІНДЕКСИ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПОЖИВАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНОГО НАПОЮ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

hrustuna012y@gmail.com

Представлена робота висвітлює зміни периферійної ланки еритроциту та стан еритроцитарних мембран експериментальних тварин, які споживали енергетичний напій протягом місяця. У результаті проведених досліджень встановлено, що в крові дослідних щурів, знижується загальна кількість еритроцитів, показник гематокриту та рівень загального гемоглобіну. При цьому середній об'єм еритроцитів, вміст гемоглобіну в еритроциті та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті зростає. У популяції еритроцитів периферійної крові тварин, які споживали енергетичний напій, рівень низькостійких клітин збільшувався, а вміст еритроцитів підвищеної стійкості знижувався порівняно з показниками контрольної групи. Дослідження стану про- та антиоксидантних систем еритроцитів показали істотне накопичення продуктів пероксидації ліпідів (ПОЛ) в еритроцитах тварин дослідної групи, та зниження активності антиоксидантного захисту (АОЗ). Отримані результати вказують на порушення зі сторони периферійної ланки еритроциту при споживанні енергетичного напою.

Ключові слова: лабораторні щурі, енергетичний напій, гематологічні показники, кислотна резистентність еритроцитів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР «Розробка методів діагностики, лікування та профілактики стоматологічних захворювань у населення, що проживає в екологічно несприятливих умовах», № державної реєстрації 0111U003681.

Вступ. Так звані «енергетики», що набирають все більшої популярності серед молоді, зумовлюють тонізуючий ефект за рахунок кофеїну, вітамінів та легкозасвоюваних вуглеводів [3]. Згідно з дослідженнями австралійських медиків, популярні енергетичні напої можуть стати причиною інсульту або інфаркту [7]. Інтерес до вивчення впливу енергетичних напоїв найперше на периферійну ланку еритроциту є закономірним, оскільки еритроцити займають важливе місце в системі міжклітинних взаємо-

дій, є інтегративною регулюючою системою і разом з нервовою та імунною системами забезпечують адаптацію організму до впливу екзо – і ендогенних факторів різної природи.

У науковій літературі [5, 8] існують поодинокі дані стосовно впливу енергетиків на гематологічні показники та розвиток оксидативного стресу.

Важливе значення для підтримання структурно-функціонального стану еритроцитів, киснево-транспортної функції має стан еритроцитарних мембран, збалансованість процесів пероксидації біомолекул та АОЗ.

Метою даної роботи було дослідження змін периферійної ланки еритроциту та стану еритроцитарних мембран експериментальних тварин, які споживали енергетичний напій.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження було проведено на щурах лінії Вістар, які перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Піддослідні тварини були розділені на дві групи: 1-а група – самці, які отримували питну воду (контрольна група); 2-а група – самці, які отримували енергетичний напій протягом місяця.

Вивчення параметрів гемограми: визначення рівня загального гемоглобіну, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті та середній об'єм еритроциту проводили за допомогою гематологічного аналізатора «MYTHIC 18». Функціональний стан плазматичних мембран еритроцитів оцінювали за допомогою визначення кислотної резистентності еритроцитів кінетичним методом [2, 6]. Рівень дієвих кон'югатів визначали спектрофотометрично за методом Гаврилова В.Б [1]. Вміст ТБК-активних продуктів визначали за методикою Коробейникової Е.Н. [4]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за рівнем гальмування процесу відновлення нітросиньоготетразолію у присутності НАДН і феназинметасульфату. Активність каталази (КАТ) визначали за кількістю перекису, що вступив в реакцію титруванням перманганатом калію. Всі дослідження на тваринах проводили з дотримання вимог Європейської конвенції з захисту хребетних тва-

рин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», прийнятий парламентом 21 лютого 2006 року в новій редакції. Згідно Статті 26 Правил поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі, виробництві біологічних препаратів, а також рекомендації Першого Національного конгресу України з біоетики (2001 р.).

Аналізи були проведені на базі акредитованого МОЗ України Центру біоеlementології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (атестат акредитації №037/14). Одержані цифрові дані статистично обраховували з використанням програми STATISTICA 8 з урахуванням критерію t Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

У результаті проведених досліджень нами встановлено, що в крові щурів, які споживали енергетичний напій зменшується загальна кількість еритроцитів та показник гематокриту (табл. 1), відповідно до: $5,71 \pm 0,61 \cdot 10^{12}/л$ та $31,24 \pm 3,09\%$ при $6,71 \pm 0,20 \cdot 10^{12}/л$ та $38,48 \pm 1,95\%$ у контрольній групі ($p < 0,001$). При цьому середній об'єм еритроцитів і вміст гемоглобіну в еритроциті у цей період досліджень збільшується відповідно до: $55,32 \pm 0,65$ фл та $17,32 \pm 0,41$ пг при $53,75 \pm 1,15$ фл та $16,39 \pm 0,37$ пг в інтактних тварин. У той же час рівень загального гемоглобіну при споживанні енергетика знижується до $97,37 \pm 6,67$ г/л, а середня концентрація гемоглобіну в еритроциті зростає до $312,70 \pm 3,44$ г/л при $115,00 \pm 5,50$ г/л та $301,3 \pm 5,72$ ($p < 0,001$) в порівнянні з контрольними тваринами.

Такі дані можуть вказувати на порушення процесів кровотворення у цих тварин або на гемоліз еритроцитів, порушення структурно-функціонального стану гемоглобіну.

Таблиця 1 – Гематологічні показники крові експериментальних тварин за умов споживання енергетичного напою

Досліджувані показники	Групи тварин	
	Інтактні	Дослідні
Кількість еритроцитів $\cdot 10^{12}/л$	$6,71 \pm 0,20$	$5,71 \pm 0,61^{***}$
Концентрація гемоглобіну, г/л	$115,00 \pm 5,50$	$97,37 \pm 6,67^{***}$
Середній вміст гемоглобіну в еритроцитах, пг	$16,39 \pm 0,37$	$17,32 \pm 0,41^{***}$
Середній об'єм еритроциту, фл	$53,75 \pm 1,15$	$55,32 \pm 0,65^*$
Показник гематокриту, %	$38,48 \pm 1,95$	$31,24 \pm 3,09^{***}$
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, г/л	$301,3 \pm 5,72$	$312,7 \pm 3,44^{***}$

Примітки: * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$ - достовірність порівняно з показниками інтактної групи тварин.

Для характеристики стану мембран еритроцитів нами проведено вивчення параметрів кислотної резистентності. Мірою стійкості еритроцита є тривалість його існування в середовищі з гемолітиком. Результати дослідження розподілу популяції еритроцитів за стійкістю до дії іонів H^+ при споживанні енергетика представлені в табл. 2.

Таблиця 2 – Параметри кислотних еритрограм за умов споживання енергетичного напою, % ($M \pm m$) ($n=7$)

Показники	Групи тварин	
	Інтактні	Дослідні
Сферуляція	$4,09 \pm 1,65$	$7,01 \pm 2,18^*$
Низькостійкі еритроцити	$25,52 \pm 4,92$	$45,21 \pm 15,16^{**}$
Середньостійкі еритроцити	$64,41 \pm 5,19$	$54,32 \pm 4,37^{**}$
Еритроцити підвищеної стійкості	$2,36 \pm 0,53$	$1,37 \pm 0,2^{***}$
Високостійкі еритроцити	$0,75 \pm 0,15$	$0,29 \pm 0,09^{***}$

Примітки: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ - достовірність порівняно з показниками інтактної групи тварин.

Як свідчать наведені дані, у популяції еритроцитів периферійної крові тварин, які споживали енергетичний напій, зростає рівень низькостійких клітин в 1,8 рази порівняно з показниками контрольної групи, показник сферуляції - в 1,7 рази. Стосовно середньостійких еритроцитів, слід відмітити зниження в 1,3 рази, підвищеної стійкості - в 1,7 рази. Особливо істотних змін зазнавали еритроцити високої стійкості – їх рівень знижується у 2,6 рази. Отримані результати вказують на порушення стійкості мембран еритроцитів тварин, які споживали енергетик. Такий перерозподіл еритроцитів може бути зумовлений змінами колоїдно-осмотичних параметрів внаслідок порушення вибіркової проникності мембран. Функціонування еритроцитів великою мірою визначається збалансованістю процесів окисації ліпідів та білків мембран і активністю АОС. Дослідження показників ПОЛ та АОС показали зростання в 2,3 рази співвідношення між інтенсивністю накопичення продуктів ПОЛ в еритроцитах, і можливістю їх знешкодження у дослідних тварин порівняно з інтактними. Такі дані можуть частково пояснити отримані нами результати кислотної стійкості еритроцитів дослідних тварин.

Висновок. Отже, при споживанні енергетичного напою в експериментальних тварин спостерігаються зміни гематологічних показників та еритроцитарних мембран. Такі зміни можуть бути спричинені розвитком оксидативного стресу, накопиченням продуктів ПОЛ та зниженням активності АОС еритроцита.

Перспективи подальших досліджень. В наступних експериментах планується дослідити вплив енергетичних напоїв на структурно-функціональний стан і метаболічні процеси в еритроцитах та середовищі їх існування.

References

1. Gavrilova VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of diene conjugates in blood plasma by UV absorption of heptane and isopropanol extracts [Izmerenie dienovykh konyugatov v plazme krovi po UF-pogloshcheniyu heptanovykh i izopropanolnykh ekstraktov]. *Labor delo*. 1988; 2: 60-3. [Russian].
2. Zavodnik IB, Pyletskaya TP. Acid lysis of human erythrocytes [Kislotnyy lizis eritrotsitov cheloveka]. *Biophysics*. 1997; 42 (5): 1106-12. [Russian].
3. Kalinina AG, Torkhovskaya TI, Zabiroya IG. The influence on the organism of the use of components of "energy" drinks [Vliyaniye na organizm upotrebleniye komponentov "energeticheskikh" napitkov]. *Voprosy narcology*. 2013; 2: 92-105. [Russian].
4. Korobejnikova E.N. Modification of the determination of peroxidation products of lipids in reaction with thiobarbituric acid [Modifikatsiya opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v reaktsii s tiobarbiturovoy kislotoy]. *Labor delo*. 1989; 7: 6-10. [Russian].
5. Mikhailichenko SI, Shivkova EA, Kuznetsova NE, et al. Influence of energy drinks on the organism of experimental animals [Vliyaniye energeticheskikh napitkov na organizm eksperimentalnykh zhivotnykh]. Available from: www.russian-scientists.ru. [Russian].
6. Sibirna NO, Velykii MM. *Cytological and physical-chemical methods of blood research* [Tsytolohichni ta fizyko-khimichni metody doslidzhennya krovi]. Method. posibnyk. Lviv, 1997. 70 p. [Ukrainian].
7. Breda JJ, Whiting SH, Encarnazo R, Norberg S, Jones R, Reinap M, Jewell J. Energy drink consumption in Europe: a review of the risks, adverse health effects, and policy options to respond. *Frontiers in Public Health Public Health Education and Promotion*. 2014; 2: 134. PMID: PMC4197301. doi: 10.3389/fpubh.2014.00134
8. Khayyat LI, AE Essawy, Al Rawy MM, Sorour JM. Comparative study on the effect of energy drinks on haematopoietic system in Wistar albino rats. *J Environ Biol*. 2014 Sep; 35 (5): 883-91. PMID: 25204063

УДК 591.111.1+616+092.9+613.3

СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ КРЫС ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО НАПИТКА

Парцей Х. Ю., Артыш М. Б., Литвинюк Н. І., Слободян З. О., Ерстенюк А. М.

Резюме. В работе предоставлены результаты изменения периферического звена эритроцитоза и состояние эритроцитарных мембран экспериментальных животных, которые употребляли энергетический напиток в течение месяца. В результате проведенных исследований установлено, что в крови экспериментальных крыс снижается общее количество эритроцитов, показатель гематокрита и уровень общего гемоглобина. При этом средний объем эритроцитов, содержание гемоглобина в эритроците и средняя концентрация гемоглобина в эритроците возрастает. В популяции эритроцитов периферической крови животных, которые употребляли энергетический напиток, уровень не устойчивых клеток увеличивался, а содержание эритроцитов повышенной устойчивости снижалось по сравнению с показателями контрольной группы. Исследование состояния про- и антиоксидантных систем эритроцитов показало существенное накопление продуктов перекисаации липидов (ПОЛ) в эритроцитах животных экспериментальной группы, и снижение активности антиоксидантной защиты (АОЗ). Полученные результаты указывают на нарушение со стороны периферического звена эритроцитоза при употреблении энергетических напитков.

Ключевые слова: лабораторные крысы, энергетический напиток, гематологические показатели, кислотная резистентность эритроцитов.

UDC 591.111.1+616+092.9+613.3

State of Erythrocytic Membranes and Hematological Indices of Rats under Conditions of Energy Drinks Consumption

Partsei K., Artysh M., Lytvyniuk H., Slobodian Z., Ersteniuk A.

Abstract. Energy drinks belong to non-alcoholic beverages group. It is important to study the influence of energy drinks primarily on the peripheral chain of erythron, since erythrocytes occupy an important place in the system of intercellular interactions. They are an integrative regulatory system and, together with the nervous and immune systems, provide the adaptation of the organism to the influence of exo- and endogenous factors of different nature. There is no such information regarding the influence of energy drinks on hematological parameters and the development of oxidative stress in scientific literature. It is important to maintain the structural and functional state of erythrocytes, the oxygen-transport function which reflect the state of erythrocytic membranes and balance the processes of peroxidation of biomolecules and ROS.

The purpose of the research was study the changes of the peripheral part of erythron and the state of erythrocytic membranes of experimental animals that consumed an energy drink.

Materials and methods. The study was conducted on the Wistar line rats. Experimental animals were separated into two groups: 1st group – males receiving drinking water (control group); Group 2 – males who received an energy drink within a month. Study of hemogram parameters: determination of the level of total hemoglobin, the means of hemoglobin content in erythrocyte and the average volume of erythrocytes were performed using the hematologic analyzer "MYTHIC 18". The functional state of erythrocyte plasma membranes was evaluated by determining the acid resistance of erythrocytes by the kinetic method.

Results and discussion. During our research we found out that in the rat's, who consumed energy drink, blood the total number of red blood cells and the hematocrit index decreased, according to: $5.71 \pm 0.61 \times 10^{12}/l$ and $31.24 \pm 3.09\%$ at $6.71 \pm 0.20 \times 10^{12}/l$ and $38.48 \pm 1.95\%$ in the control group ($p < 0.001$). At the same time, the average amount of erythrocytes and hemoglobin content in the erythrocyte during this period of research increased according to: 55.32 ± 0.65 fl and 17.32 ± 0.41 pg at 53.75 ± 1.15 fl and 16.39 ± 0.37 pg in intact animals. At the same time, the level of total hemoglobin in energy drink consumptions is reduced to 97.37 ± 6.67 g/l, while the average concentration of hemoglobin in erythrocyte increases to 312.7 ± 3.44 g/l at 115 ± 5.50 g/l and 301.3 ± 5.72 ($p < 0.001$) compared to control animals. Such data may indicate a violation of hematopoiesis processes in these animals or on the hemolysis of red blood cells, a violation of the structural and functional state of hemoglobin. To characterize the state of erythrocytes membranes, we have studied the parameters of acid resistance. The degree of erythrocytes resistance is the duration of its existence in environment with hemolytic. The results had shown the redistribution of red blood cells in the resistance to the action of H^+ ions when consuming energy. According to the data, the amount of peripheral red blood cells of animals consuming an energy drink, the level of low-density cells was raised in 1.8 times than the control group, and the index of spherule increased by 1.7 times. In case of medium-grade red blood cells, decreased of 1.3 times, an increased in resistance of 1.7 times has been noticed; especially significant changes were observed in erythrocytes of high resistance – their level decreased by 2.6 times. The obtained results indicate a violation of the resistance of erythrocytes membranes of animals' consumed energetic. Such redistribution of erythrocytes may be due to changes in colloid-osmotic parameters because of the violation of sample membrane permeability. The function of erythrocytes is largely determined by the balance of the processes of lipids and proteins membranes oxidation and the activity of ROS. The study of LPO and ROS indices showed a 2.3-timed increasing with correlation between the intensity of accumulation of LPO products in erythrocytes and the possibility of their elimination in experimental animals compared with intact ones. Such data may partly explain the results we obtained from the acid resistance of erythrocytes of experimental animals.

Conclusion. Changes in hematological parameters and erythrocytic membranes were observed when energy drink is consumed by experimental animals. Such changes can be caused by the development of oxidative stress, the accumulation of products of LPO and decreased activity of ROS erythrocytes. The obtained data require further investigations of energy drinks influence on the structural and functional state and metabolic processes in erythrocytes and their habitat.

Keywords: laboratory rats, energy drink, hematological parameters, acid resistance of RBC.

Стаття надійшла 29.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування