

ORIGINAL ARTICLE

Biocrystallomics Methods in Estimation of the Action of Different Stress Factors

A.K. Martusevich¹, A.A. Martusevich², L.K. Kovaleva³

¹ Department of experimental medicine, Privolzhsky Federal Medical Research Centre; 603155, Nizhny Novgorod, Verhnevolzhskaya nab., 18/1, Russia.

² Department of biochemistry and physiology, National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevskiy; 603000, Nizhny Novgorod, Gagarin av., 23, Russia.

³ Laboratory of biocrystallomics and free radical medicine, Kirov State Medical University; 610027, Kirov, Karl Marx st., 112, Russia

*E-Mail: cryst-mart@yandex.ru

Received May 24, 2016

Background: it is well-known that in critical conditions the general response on stimulation is common adaptation syndrome, which includes the mobilization of organism reserves and restructuring of homeostatic mechanisms. However, the action of particular agents has some specific features even under the universal adaptive response. This determines relevant features of the response of the organism, which transform the manifestation of the adaptation syndrome.

Aim: The aim of this investigation is study of action of short-term physical load and epinephrine administration on crystallogenic properties of rats' blood serum.

Results: it is stated that swimming and epinephrine administration causes increasing of crystallogenic activity of rats' blood serum. This trend is more pronounced for the first impact. In addition, both factors increase the degree of destruction of elements of the sample. Maximal elevation of facia destruction degree was fixed for the administration of epinephrine.

Conclusion: we show the uniformity of response of the organism to stress stimuli of different etiology, which is manifested in the development of typical pathological processes implemented by a single algorithm regardless of the primary initiating agent.

Key words: biocrystallomics, stress factors, blood serum

Известно, что в условиях чрезвычайной ситуации единой реакцией на раздражитель является общий адаптационный синдром, направленный на мобилизацию резервных возможностей и перестройку гомеостатических механизмов (Селье, 1979; Кидалов *с соавт.*, 2004). Важно, что даже в рамках универсальной адаптационной реакции воздействие конкретных агентов несет в себе различные по выраженности черты специфичности, что детерминирует соответствующие особенности ответа организма, в той или иной степени трансформирующие проявления адаптационного синдрома (Судаков, 1999; Рязанцева *с соавт.*, 2004).

В связи с этим, целью работы служило изучение влияния кратковременной физической нагрузки и адреналина на состояние системы крови крыс.

MATERIALS AND METHODS

Исследование проведено на 30 нелинейных белых крысах-самках массой 200 – 250 г. Животные прошли карантин и акклиматизацию в условиях вивария в течение 14 суток.

Крысы были разделены на 3 равные по численности группы:

1 группа – интактные крысы;

2 группа – крысы, подвергнутые физической нагрузке в виде плавания продолжительностью 15 минут с грузом, составляющим 10% от массы тела животного (температура воды 26-28°C) (Епифанов, 2007);

3 группа – крысы, которым проводили внутрибрюшинное введение адреналина (однократная дозировка – 0,1 мг/кг) (Перетягин *с соавт.*, 2011).

Забор крови производили из подъязычной вены через 15, 30, 60, 120 минут после воздействия и через сутки.

В целях изучения кристаллогенных свойств сыворотки крови животных приготавливали ее кристаллоскопические микропрепараты (фации) (Мартусевич, 2011). В качестве наиболее информативных параметров оценки кристаллограмм применяли кристаллизуемость и степень деструкции структур фации (Мартусевич, Камакин, 2007; Мартусевич, 2011).

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики.

RESULTS AND DISCUSSION

Интегральным показателем, характеризующим физико-химические свойства жидких сред организма человека и животных, в том числе сыворотки крови, является их кристаллогенная стабильность, оцениваемая с применением технологий диагностической биокристалломики (Мартусевич *с соавт.*, 2010; Мартусевич, 2011). Наиболее четкая визуализация сдвигов кристаллогенного потенциала биожидкости возможна при использовании количественных параметров описания результата ее собственного кристаллогенеза (Мартусевич, Камакин, 2007).

Кристаллизуемость, являясь основным количественным маркером способности биологического субстрата к формированию кристаллов, отражает активность процесса

кристаллогенеза (рис. 1). Воздействие стрессирующих факторов на организм животного приводит к повышению уровня данного параметра в выполненном эксперименте относительно интактных крыс, причем менее значимое усиление кристаллогенеза наблюдается при моделировании адреналовой токсемии, что может быть объяснено с позиций суммации эффектов.

Так, адреналин, способствуя развитию типичной адаптационной реакции системы крови на стрессирующее воздействие (адреналовую токсемию), одновременно обладает выраженным антиагрегационным действием (Громова, 2005), что вызывает умеренное повышение уровня кристаллизуемости рассматриваемой биосистемы по сравнению с аналогичным у интактных животных. Плавание в холодной воде привело к выраженному усилению кристаллизации, что может быть вызвано целым комплексом факторов, в числе которых общий адаптационный синдром; каскад реакций, ассоциированных с низкотемпературным стрессом, связанный с выделением белков холодового шока, способствующих структуризации биосреды, а также повышением двигательной активности крыс с нарастанием лактатемии. Последнее обусловлено тем обстоятельством, что для лактата натрия продемонстрировано стимулирующее действие на кристаллогенный потенциал биожидкостей (Мартусевич, 2011).

Правильность протекания процессов кристаллизации изучалась с помощью оценки степени деструкции кристаллоскопической фазы (рис. 2). Данный параметр в экспериментальных группах (тест

плавание и введение адреналина) оставался выше аналогичного показателя интактных животных на протяжении всего эксперимента. В группе, животные которой подверглись кратковременной физической нагрузке, максимальная деструкция образца регистрировалась на 30-60-й минутах эксперимента с последующим снижением уровня параметра к суткам с момента начала эксперимента. Введение адреналина вызывало резкое усиление процессов деструкции уже через 15 минут после воздействия с дальнейшей редукцией значений к окончанию суток с момента наблюдения, однако изучаемый показатель оставался в рассматриваемой группе самым высоким на протяжении всего эксперимента.

В целом, динамика вариаций кристаллогенного потенциала визуализирует типичность ответа организма крысы на принципиально различные стрессирующие воздействия. В то же время адреналовая токсемия и плавание в холодной воде сохраняют черты специфичности воздействия. Речь в данном случае идет об общих закономерностях реагирования клеток на различные патогенные воздействия, а также о развитии типовых патологических процессов, реализуемых по единому алгоритму практически независимо от первичного иницирующего агента (Кидалов с соавт., 2004). Предполагается, что воздействие на клетки тканей и органов разных повреждающих факторов (токсические соединения, свободные радикалы, продукты липопероксидации, гипергликемия и т.д.) вызывает запуск универсального ответа вследствие действия сходных молекулярных механизмов повреждения при различных причинах, его вызвавших

(Волчецкий *с соавт.*, 1999; Тризно *с соавт.*, 2003; Кулмагамбетов *с соавт.*, 2007). К их числу относятся, прежде всего, интенсификация ПОЛ, окислительная модификация белковых молекул, активация эндогенных фосфолипаз и протеаз, снижение

активности системы антиоксидантной защиты клетки (Судаков, 1999). Инициация этих механизмов сопровождается неспецифическими изменениями структуры и функции клеточных мембран.

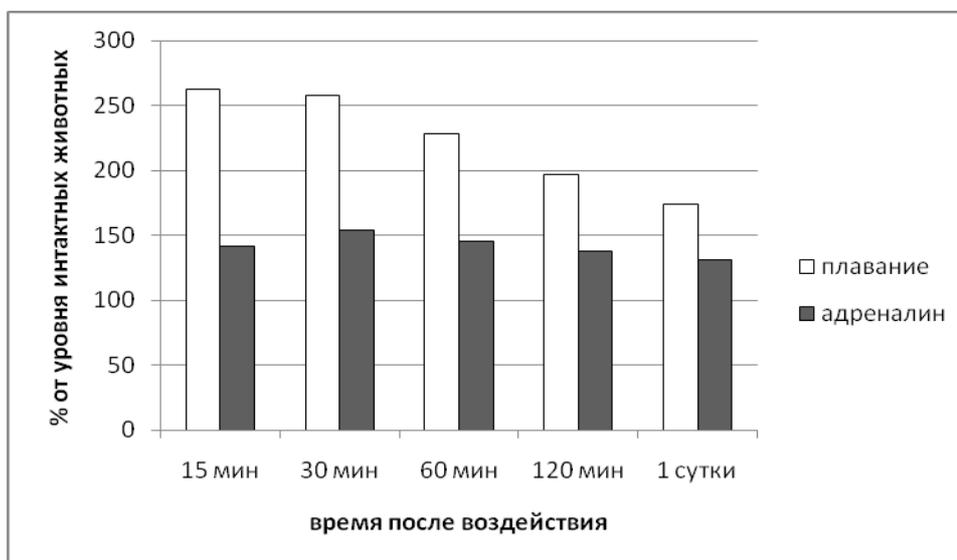


Figure 1. Изменение уровня кристаллизуемости сыворотки крови крыс в постстрессовом периоде

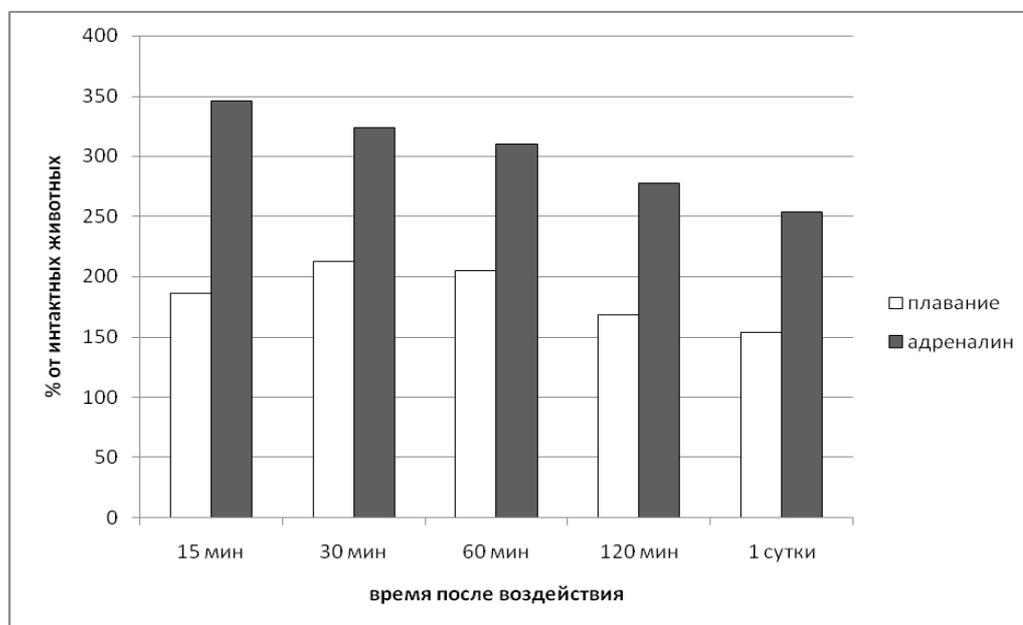


Figure 2. Динамика степени деструкции фации сыворотки крови крыс при проведении теста плавания и моделировании адреналовой токсемии

CONCLUSION

Таким образом, очевидно, что развитие различных

по механизму альтерирующих процессов и состояний сопровождается молекулярными изменениями

плазматических мембран клеток, являющихся как непосредственной мишенью повреждающего действия патогенных факторов, так и вовлеченных в патологический процесс в связи с инициацией универсальных механизмов повреждения клетки (дефицит энергопродукции, интенсификация процессов свободнорадикального окисления, активация фосфолипаз, протеаз, нарушение ионного гомеостаза и др.). Сложность установления причинно-следственных связей между различными параметрами, характеризующими состояние мембран и метаболизм клеток, а также оценки удельного веса отдельных молекулярных механизмов в реализации мембранодеструктивных процессов обусловлены тесной взаимосвязью данных факторов между собой. Однако получение обобщающих положений о базисных механизмах и общих закономерностях реагирования разнообразных клеточных систем при патологии разного генеза не только сулит успех для понимания общебиологических законов развития патологических процессов, но и позволяет по-новому взглянуть на методологию их коррекции. Эта информация может быть получена с помощью методов изучения кристаллогенных свойств биологических субстратов, в том числе сыворотки крови, о чем однозначно свидетельствуют результаты данного экспериментального исследования.

REFERENCES

- Волчецкий А.Л., Рувинова Л.Г., Спасенников Б.А. с соавт. (1999) Кристаллизация и кристаллография: медико-биологические аспекты. Архангельск, 374 с.
- Громова И.П. (2005) Кристаллоскопический способ изучения сыворотки крови в токсиколого-гигиеническом эксперименте методом «открытая капля». *Гигиена и санитария*. **2**. 66-69.
- Епифанов В.А. (2007) Лечебная физкультура и спортивная медицина. М, 568 с.
- Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Якушина Г.Н., Яшин А.А. (2004) Фрактальность и вурфы крови в оценках реакции организма на экстремальные воздействия. *Вестник новых медицинских технологий*. **11(3)**. 20-23.
- Кулмагамбетов И.Р., Муравлева Л.Е., Койков В.В., Абдрахманова Ю.Э. (2007) Состояние окислительного метаболизма и кристаллообразующие свойства крови экспериментальных животных при интоксикации несимметричным диметилгидразином. *Биомедицинская химия*. **53(3)**. 276-283.
- Мартусевич А.К. (2011) Биокристалломика в молекулярной медицине (Под ред. В.Л. Эмануэля). СПб.: Издательство СПбГМУ – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 112 с.
- Мартусевич А.К., Воробьев А.В., Гришина А.А., Русских А.П. (2010) Физиология и патология кристаллостаза: общая парадигма и перспективы изучения. *Вестник Нижегородского университета им Н.И. Лобачевского*. **1**. 135-139.
- Мартусевич А.К., Камакин Н.Ф. (2007) Унифицированный алгоритм исследования свободного и иницированного кристаллогенеза биологических жидкостей. *Клиническая лабораторная диагностика*. **6**. 21-24.

- Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Гришина А.А.,
Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. (2011) Лабораторные
животные в экспериментальной медицине.
Нижний Новгород: ФГУ «ННИИТО» МЗСР РФ,
300 с.
- Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Степовая Е.А.,
Ткаченко С.Б. (2004) Эритроцит при патологии:
размышления у электронного микроскопа *Архив
патологии*. **66(3)**. 53-61.
- Селье Г. (1979) Стресс без дистресса. М.: Прогресс,
123 с.
- Судаков К.В. (1999) Нормальная физиология. Курс
физиологии функциональных систем. М.:
«Медицинское информационное агентство», 718
с.
- Тризно Н.Н., Беднов И.А., Резаев А.А. (2003)
Морфологические особенности биожидкостей
организма крыс при хроническом воздействии
серосодержащего газа. *Вестник новых
медицинских технологий*. **10(1-2)**. 23-24.