

Р.М.ШАЙХЫНБЕКОВА, Б.А.ДЖУСИПБЕКОВА

С.Д.Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті, Алматы

**«ЖЕЛЕ ПО-КАЗАХСТАНСКИ» ЖАҢА ТАҒАМДЫҚ ҚОСПАСЫНЫҢ АНТИОКСИДАНТТЫҚ ҚАСИЕТІН IN VIVO
ЖАҒДАЙЫНДА АНЫҚТАУ**

Иммобилизациялық стресстің әсеріне ағзаның төзімділігін және антиоксиданттардың белсенділігін жоғарылату мақсатында зерттеуге жаңа биопрепарат «желе по-Казахстанский» қолдандық, оның әсерін in vivo жағдайында зерттеп, бұл препараттың эритроциттердің стресске қарсы тұру мүмкіндігін арттырғанын байқадық.

Түйінді сөздер: Микронутриент, гиподинамия, иммобилизациялық стресс, антиоксидант, сапонин

Барлық әлеуметтік факторлардың ішінде тамақтану адам денсаулығына әсері жағынан алдыңғы орынды иемденеді. Ол құрылыс материалы және тіршіліктің көзі ретінде организмде жүріп жатқан химиялық үрдістердің өзара әрекеттестігінің негізі болып саналады. Қазіргі кезде тамақтану мәселесіне ерекше мән берілуде. Микронутриенттерді жеткілікті мөлшерде тұтынбау адам денсаулығына, толық бір ұлт өкілдерінің өмір сүру ұзақтығы мен өсіп-өнуіне кері әсері бар өзекті факторлардың бірі болып саналады [1].

Ғылым мен техниканың дамыған заманында адамның өмір сүру салтының жаңашыл өзгеруі нәтижесінде организмнің стресс факторларына төзімділігінің төмендеуі байқалады. Қоршаған ортаның қолайсыз факторлары липидтердің асқын тотығуы үрдісінің үдеуімен, мембрана байланыстырушы ферменттердің белсенуімен, әртүрлі заттарға мембрананың таңдамалы өткізгіштігінің бұзылуымен сипатталатын клетка мембранасының құрылымдық және қызметтік өзгерістеріне алып келеді.

Организмнің клеткалық деңгейінде патологиялық өзгерістердің пайда болуына себепші факторлардың бірі - гипокинезия. Сондықтан организмнің төзімділігін жоғарылатуға және де гиподинамияның патологиялық өзгерістерінің алдын алу мен төмендетуге бағытталған тиімді жолдар мен әдістерді іздестіру өзекті мәселелердің бірі саналады. Клетка мембранасы зақымдаушы агенттердің әрекетіне өте сезімтал болып келетіндіктен, оларға метаболиттік өзгерістер организмнің функционалды жағдайын бағалайтын басты алғы шарттардың бірі ретінде қолданылады.

Жұмыста иммобилизациялық стресстің әсерінен организмнің төзімділігі мен антиоксиданттық белсенділігін жоғарылату мақсатында Алматы технологиялық университетінде дайындалған «Желе по-казахстански» жаңа биопрепарат қолданылып зерттеу жүргізілді. Бұл қоспа құрамында тағамдық талшықтар мен дәрумендерден, ферменттер мен макро-микроэлементтер жиынтығы кездесетін 17 табиғи ингредиенттерден тұрады.

ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Қойылған мақсат пен міндеттерге жету үшін тәжірибеде in vivo жағдайында салмақтары 200 ± 20 г болатын, 240 лабораториялық ересек ақ егеуқұйрықтар эритроциттерінің физиологиялық және биохимиялық қасиеттері зерттелді. Зерттеу нысаны ретінде эритроциттерді алуымыздың себебі, эритроциттер мембранасының құрылымы басқа да ұлпалар мембранасының биохимиялық құрылысының ерекшеліктерімен сәйкес келеді [2] Тәжірибелік 2-топ егеуқұйрықтары стресс факторлары әсеріне ұшыратылды. Иммобилизациялық стресс тудыру үшін арнайы жасалынған тар торға егеуқұйрықтар 24 сағат бойы қимылсыз отырғызылды.

Биологиялық белсенді қосылыстар арқылы эритроциттер мембранасының стресс әсеріне төзімділігін арттыру үшін жасалынған тәжірибелерде жануарлар стресс әсеріне ұшыратылмас бұрын азығына, яғни асқорыту жолымен «Желе по Казахстански» қоспасы қосылып берілді.

Жануарлардың 100 г дене салмағына 10 мг «Желе по Казахстански» десерті қосылып беріліп, келесі күні жануарлар 1 тәулікке арнайы жасалынған тар торға қимылсыз отырғызылып, стресс факторы тудырылды.

Егеуқұйрықтардан алынған қанды 1000g жылдамдықпен центрифугада 10 мин айналдыру арқылы эритроциттер бөлініп алынды. Плазма мен қанның ақ клеткаларын бөліп алып, құрамында 150мМ NaCl, 5мМ Na_2HPO_4 (рН-7,4) бар инкубация ортасы (ИО) буферлі ерітіндімен эритроциттер екі қайтара шайылды. Тәжірибе жасалмас бұрын алдын ала эритроциттер 10 есе буферлі ерітіндімен сұйылтылып, 37°C температурада 5 мин термостатта қыздырылды.

Эритроциттердің осмотық төзімділігі натрий хлоридінің гипотониялық ерітінділеріндегі (0,9-0,35г/100мл, 4М) 20 мин термостатта 37°C температурада қыздырылған эритроциттер гемолиз деңгейі бойынша анықталды. Na_2CO_3 -тің 0,1г/100мл концентрациялы ерітіндідегі эритроциттердің толық гемолиз деңгейін 100%-ға бағалап, қанның қызыл түйіршіктерінің гемолиз деңгейі пайыздық қатынаста есептелінді. Оптикалық тығыздылығы 540 нм толқын ұзындығында тіркелді.

Сахарозаның гипертониялық ерітінділеріндегі эритроциттердің күйі аталмыш Адрасиловтың әдісімен [3] анықталды. Қанның қызыл клеткалары сахарозаның 0,3 және 0,4 М ерітінділеріне орналастырылып, 37 С температурада термостатта 60 мин қыздырылды.

Эритроциттерге гипертониялық қысым осмотық күші жоғары натрий хлоридінің 4М ерітіндісі арқылы тудырылды. Ол үшін 100 мкл сұйылтылған эритроциттер 2 мл натрий хлоридінің 4М ерітіндісіне қосылып, 37 С температурада 5 мин қыздырылды. Клеткалар центрифуга көмегімен тұндырылып, 540нм спектрофотометрлік толқын ұзындығында супернатанттағы гемоглобин мөлшері анықталды.

Эритроциттердің асқын тотықтық гемолизі (ЭАТГ) бұрыннан белгілі Покровский мен Абрарованың әдісін [4] өзіміздің лабораторияда өңдеп, жетілдіру барысында [5] анықталды. Сапониннің 0,1г/100мл концентрациялы ерітіндісіндегі эритроциттердің толық гемолиз деңгейін 100%-ға бағалап, қанның қызыл клеткасының асқын тотықтық гемолиз деңгейі пайыздық қатынаста есептелінді. Оптикалық тығыздығы 540нм толқын ұзындығында тіркелініп, эритроциттердің асқын тотықтық гемолиз деңгейі төмендегі формула бойынша анықталды:

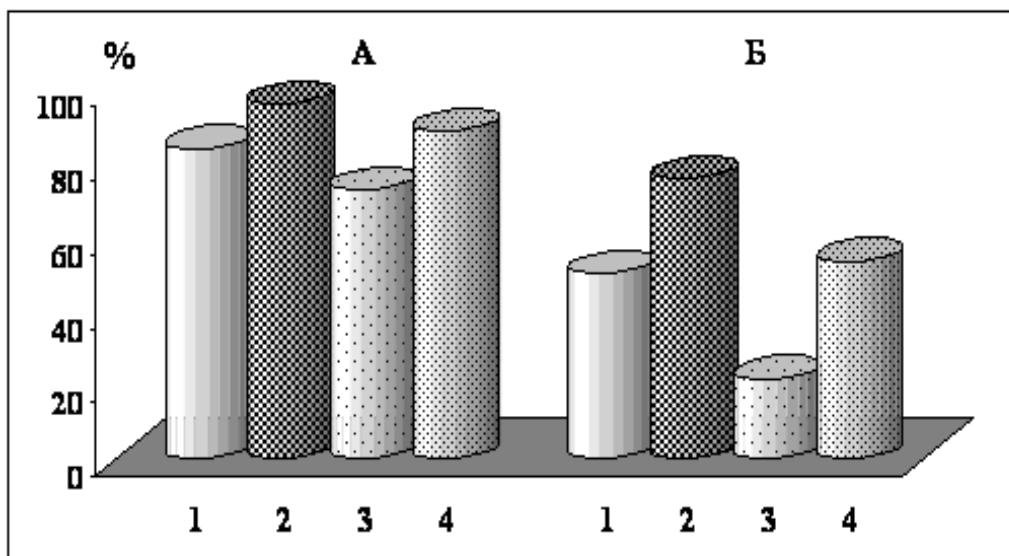
A = ТГ

ε – тәжірибе үлгісінің экстинкциясы, ТГ – толық гемолиз кезіндегі тәжірибе экстинкциясы.

Алынған нәтижелердің арифметикалық ортақ көрсеткіші, ортақ квадраттық ауытқуы, ортақ арифметикалық қатесі есептелініп, Microsoft Excel бағдарламасымен өңделді. Фишер-Стьюденттің критерийі ескерілді, параметрлер сенімділігі $P \leq 0.05$.

ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІН ТАЛҚЫЛАУ

«Желе по-казахстански» десертінің антиоксиданттық қасиетін анықтау мақсатында десертті 14 күн азығымен бірге қабылдаған егеуқұйрықтар эритроциттерінің натрий хлоридінің гипотониялық ерітінділеріндегі осмостық төзімділігін зерттеу нәтижелері 29 суретте берілді. Суреттен көрініп тұрғандай, бақылау тобымен (0,4 г/100 мл ерітіндісінде – $83,7 \pm 4,12\%$ -ға, 0,45 г/100 мл ерітіндісінде – $49,9 \pm 0,58\%$ -ға) салыстырғанда гиподинамия әсерінен (0,4 г/100 мл ерітіндісінде – $95,7 \pm 1,05\%$ -ға, 0,45 г/100 мл ерітіндісінде – $75,7 \pm 2,41\%$ -ға) жануарлар эритроциттерінен гемоглобиннің босап шығуы 11,9% және 25,8%-ға жоғарылады, ал күнделікті жеміне “Желе по Казахстански” қоспасы қосылған жануарлар (0,4 г/100 мл ерітіндісінде – $72,69 \pm 2,34\%$ -ға, 0,45 г/100 мл ерітіндісінде – $21,5 \pm 3,51\%$ -ға) эритроциттерінен гемоглобиннің босап шығуы 32,1% және 54,2%-ға азайды.



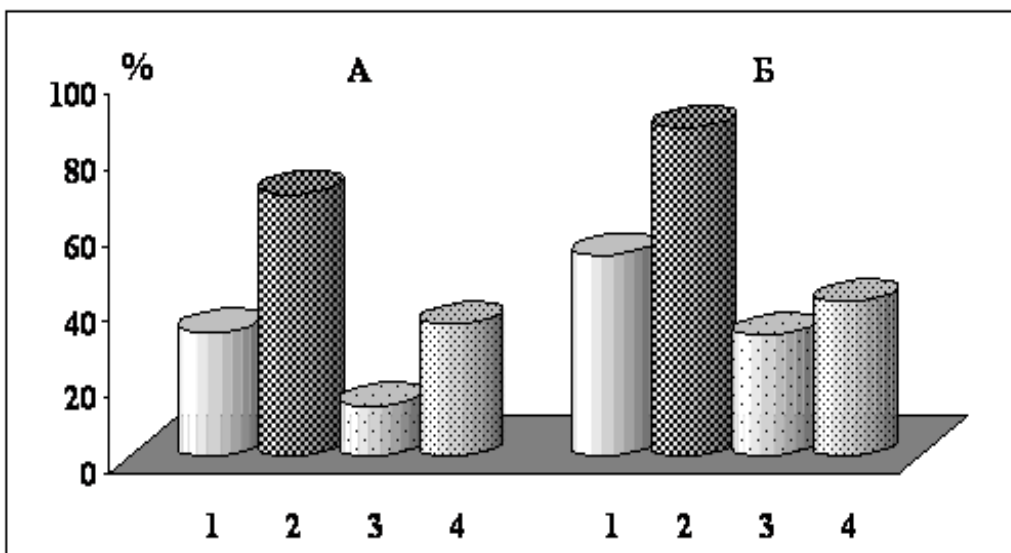
Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %. Абсцисс өсі: 1 - бақылау, 2 - ИС, 3 - “Желе по Казахстански” қоспасы, 4 - “Желе по Казахстански” қоспасы + ИС. А – 0,4г/100 мл NaCl, Б - 0,45г/100 мл NaCl.

29 сурет – Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің осмостық гемолизі

Эритроциттер мембранасына стресс фактордың зиянды әсерін “Желе по Казахстански” десерті (0,4 г/100 мл ерітіндісінде – $88,6 \pm 1,56\%$, 0,45 г/100 мл ерітіндісінде – $53,2 \pm 0,91\%$) 7,1% және 24,4%-ға төмендетті ($p \leq 0.001$).

Тәжірибе жұмысының келесі сатысында, бақылау және тәжірибелік топ жануарлары қанының қызыл клеткаларына сахарозаның 0,3 М және 0,4 М ерітінділерінде гипертониялық қысым тудырылды (30 сурет).

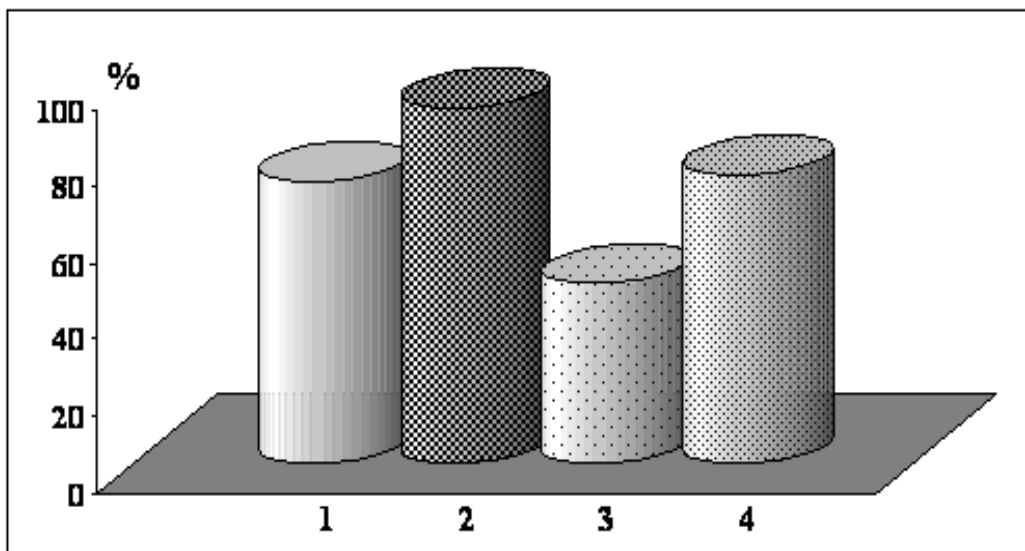
Бақылау тобымен (0,3М ерітіндісінде – $32,6 \pm 2,85\%$, 0,4М ерітіндісінде – $52,9 \pm 3,18\%$) салыстырғанда гипокинезия әсерінен жануарлар (0,3М – $13,1 \pm 4,12\%$, 0,4М – $31,6 \pm 1,88\%$) эритроциттерінен гемоглобиннің босап шығуы 36,6% және 33,4%-ға көбейсе, ал азығына десерт қосылған жануарлар (0,3М ерітіндісінде – $13,1 \pm 4,12\%$, 0,4М ерітіндісінде – $31,6 \pm 1,88\%$) эритроциттерінің гемолиз деңгейі 19,2% және 31,3%-ға азайды. Эритроциттер мембранасы төзімділігіне стресс фактордың зиянды әсерін “Желе по Казахстански” қоспасы (0,3М ерітіндісінде - $34,5 \pm 1,74\%$, 0,4М ерітіндісінде - $40,36 \pm 3,34\%$) 34,6% және 46,02%-ға төмендетті.



Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %. Абсцисс өсі: 1 - бақылау, 2 - ИС, 3 - “Желе по Казахстански” қоспасы 4 - “Желе по Казахстански” қоспасы + ИС. А – 0,3 М сахароза, Б – 0,4 М сахароза.

30 сурет – Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің сахароза ерітінділеріндегі гемолиз деңгейі

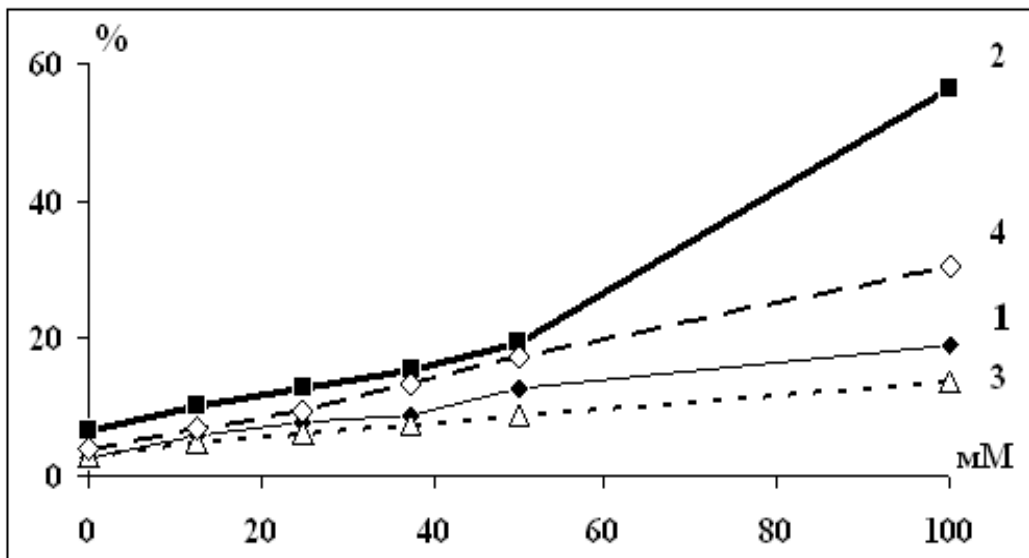
Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттері натрий хлоридінің 4М осмостық қысымы жоғары ерітіндісіне орналастырылды. Осы жағдайдағы эритроциттердің гемолизге ұшырау шамалары 31 суретте көрсетілді. Бақылау тобымен салыстырғанда (73,84±1,54%) стресс әсерінен эритроциттер гемолизі 19,9%-ға артты, ал азығына күнделікті қоспа қосылған жануарлар (47,12±4,22%) эритроциттерінің гемолизі 26,2%-ға кеміді. Стресс әсерін (92,97±2,45%) “Желе по Казахстански” қоспасы (75,39±2,04%) 17,5%-ға төмендетті ($p \leq 0.01$).



Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %. Абсцисс өсі: 1 - бақылау, 2 - ИС, 3 - “Желе по Казахстански” қоспасы, 4 - “Желе по Казахстански” қоспасы + ИС.

31 сурет – Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің NaCl-нің 4 М ерітіндісіндегі гемолиз деңгейі

Эритроциттердің асқын тотықтық төзімділігін анықтау нәтижесінде “Желе по Казахстански” биологиялық белсенді қоспаны тағамға қосып беру, бақылау тобының жануарларымен салыстырғанда эритроциттер гемолизінің төмендеуіне әкеліп, эритроциттердің стресске қарсы тұру мүмкіндігін арттыра түсті. Суретте көрсетілгендей, эритроциттер мембранасының асқын тотықтық гемолизінің көрсеткіштері бойынша иммобилизациялық стресс эритроциттер гемолизін екі еседей арттырса, ал алдын ала “Желе по Казахстански” қоспасымен қосымша азықтандыру стресс әсерін айтарлықтай шамада төмендетті (32 сурет).



Ординат өсі: гемолиз деңгейі, %. Абсцисс өсі: H₂O₂-нің концентрациясы, мМ. 1 - бақылау, 2 - ИС, 3 - “Желе по Казахстански” қоспасы, 4 - “Желе по Казахстански” қоспасы + ИС.

32 сурет - Бақылау және тәжірибелік топ эритроциттерінің асқын тотықтық гемолизі

Алынған көрсеткіштерді өзара салыстыра отырып, қоспа құрамындағы антиоксиданттық А, С, Д, Е витаминдері мен амин қышқылдарының толық жиынтығының болуы стресс әсерінің зақымдаушы әсерін азайтады, сонымен қатар, оның құрамында ферменттер мен цинк, мыс, кремний сияқты микроэлементтердің жиынтығы клеткалық деңгейде организмнің төзімділігін арттырып, белсенді тіршілік етуін қамтамасыз етеді деп болжауға болады [6,7,8,9,10,11].

Сонымен, жануарлар рационына “Желе по Казахстански” қоспасын енгізу эритроциттер мембранасының гипотониялық, гипертониялық ерітіндідегі осмотық және сутегінің асқын тотығындағы асқын тотықтық, сонымен қатар, иммобилизациялық стресс әсеріне төзімділігі жоғарылайтындығы зерттеу нәтижелерінен анықталды. Олай болса, отандық жаңа өнім - «Желе по-казахстански» десертті мембрана тұрақтандырушы, протекторлық биологиялық белсенді қоспалардың бірі болып табылады.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Спиричев В.Б. Дефицит микронутриентов и отечественные продукты лечебно-профилактического питания для его коррекции. - М.: 1998. - 32 с.
- 2 Черницкий Е.А., Воробей А.В. Структура и функции эритроцитных мембран. - Минск: Наука и техника, изд. - Минск: Наука и техника, 1981. - 216 с.
- 3 Абдрасилов Б.С. Молекулярные механизмы действия тритерпеновых гликозидов даммаранового ряда на структурно-функциональное состояние мембран и клеток. – Автореф. дисс....докт. биол. наук: 14.00.31., 03.00.02. - М.: 1997. - 44 с.
- 4 Покровский А.А., Абрарова А.А. К вопросу перекисной резистентности эритроцитов // Вопр. Питания. – 1964. - № 16. - С.44-49.
- 5 Мирошина Т.Н., Мурзахметова М.К., Утегалиева Р.С., Шайхынбекова Р.М., Михалкина Н.И. Корректирующее влияние индоламинов на состояние мембран эритроцитов при действии ионов кадмия // Вестник КазНУ. Сер.биол. – 2002. - № 3. – С.80-86.
- 6 Stahl W., Sies H. Antioxidant defence: vitamins E and C and carotenoids // Diabetes. – 1997. - Suppl 2. - P.14-18.; Diplock A.T. Will the ‘good fairies’ please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease // Free Radic. Res. – 1997. - Vol.27. - №5. - P.511-32.
- 7 Римарева Л.В. Биотехнологические и медико-биологические аспекты получения аминокислотных добавок на основе ферментативного гидролиза микробной биомассы // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2003. - №5. - С. 95-99.
- 8 Шарова. Н.Ю. Продукты микробного синтеза – новые пищевые добавки // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2003. - №5. - С. 101-104.
- 9 Aruoma O.I., Kaur H., Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases // J.R.Soc.Health. - 1991. - Vol.111, № 5. - P.172-177.
- 10 Brufau G., Quilez J., Angel Canela M. e.a. Evaluation of lipid oxidation after ingestion of bakery products enriched with phytosterols, beta-carotene and Спиричев В.Б. Дефицит микронутриентов и отечественные продукты лечебно-профилактического питания для его коррекции. М.: 1998. - 32 с. alpha-tocopherol // Clin Nutr. - 2004. - Vol.23, № 6. - P.1390-1393.
- 11 Sies H., Stahl W., Sundquist A.R. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids // Ann. N.Y.Acad.Sci. - 1992. - Vol.669. - P. 7-20.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО СВОЙСТВА НОВОГО ПИЩЕВОГО ПРЕПАРАТА "ЖЕЛЕ ПО КАЗАХСТАНСКИ"
В УСЛОВИЯХ IN VIVO

Резюме: при действии жесткого иммобилизационного стресса изучали протекторное действие нового препарата «Желе - по Казахстански» на осмотический резистентность эритроцитов и установили, что при добавке препарата на корм животным, существенно снижаются гемолиз эритроцитов.

Ключевые слова: Микронутриент, гиподинамия, иммобилизационный стресс, антиоксидант, сапонин.

DEFINITION OF ANTIOXIDIC QUALITIES OF NEW FOOD BASED MEDICINE "KAZAKH JAM" IN VIVO

Resume: Due to impact of immobilizing stresses, with a view to improving the sustainability and active antioxidants we developed new bio product "jelly on Kazakhstan", its impact has been investigated "in vivo".

We have noticed that using this drug erythrocytes can resist against stress.

Keywords: Mikronutrient, immobilizing stresses, antioxidants, saponin.