

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XIX, 50

SECTIO D

1964

Katedra i Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Jarosław Billewicz-Stankiewicz

Jarosław BILLEWICZ - STANKIEWICZ
i Zenon SZCZEKALA

Wpływ czynników stresu na „adrenalinooksydazę” osocza krwi

Влияние факторов стресса на „адренолинооксидазу” плазмы крови

Beeinflussung der „Adrenalin-Oxydase” des Blutplasmas durch
„Stressoren”

Różnorodne czynniki obciążenia ustroju (stressory), poza charakterystycznymi objawami w obrębie kory nadnerczy, układu chłonnego i przewodu pokarmowego, mogą powodować szereg innych zmian, które są przedmiotem uwagi badaczy (7). Postanowiliśmy przekonać się, czy po zadziałaniu różnych stressorów zachodzą zmiany aktywności „adrenalinooksydazy” (AdO) osocza krwi. AdO osocza utlenia adrenalinę w obecności nadtlenu wodoru i jak stwierdziliśmy (1) nie jest identyczna z ceruloplazminą, ferrytyną, katalazą, nie zdaje się być peroksydazą, cytochromem i oksydazą cytochromu i jest zawarta w β -globulinach.

METODYKA

Aktywność AdO oznaczaliśmy przy pomocy mikrometody (3, 6) wyrażając w μ M utlenionej adrenaliny na 1 ml osocza i na godzinę w temp. 37°C. Białko surowicy oznaczane było refraktometrycznie.

Pomiary wpływu czynnika emocjonalnego przeprowadziliśmy u 19 studentów i studentek przed i po egzaminie. Odstęp między pomiarami wynosił 1—5 godz. (średnio 3 godz.). Krew pobierana była z palca. Resztę oznaczeń wykonaliśmy na 81 dojrzałych białych szczurach wagi 195—220 g samcach i samicach, które były od 12 godz. po ostatnim karmieniu. Celem oznaczenia aktywności AdO krew pobierana była z naczyń ogona przed i po zadziałaniu czynnika badanego.

Grupy zwierząt, u których oznaczono koncentrację białka surowicy były wykrawiane przez dekapitację, ze względu na konieczność pobrania do pomiaru większej ilości krwi. Ponieważ możliwe było tylko jednorazowe pobranie krwi, zwierzęta podzielono na grupę kontrolną, która nie była poddawana stessowi i grupę wystawioną na działanie badanego czynnika.

Obciążanie ustroju ciepłem dokonywaliśmy przez umieszczenie grup 5—7 zwierząt w cieplarnie o pojemności 338 l i temp. 43°C na okres 1 godziny.

Oziębianie zwierząt przeprowadzaliśmy przez 1 godzinę w lodówce o pojemności 90 l w temp. 3°C. Zarówno w cieplarnie, jak i w lodówce zabezpieczony był dopływ świeżego powietrza.

Poddawanie działaniu hiperkapnii i hipoksji zachodziło w przestrzeni szczelnie zamkniętej o poj. 29,6 l, w której umieszczaliśmy na okres 2 godzin grupy 7—8 szczurów. Izolowane działanie hipoksji uzyskiwaliśmy przez postępowanie podobne, z tym że w przestrzeni zamkniętej umieszczany był ług potasowy jako pochłaniacz dwutlenku węgla. Szczur o ciężarze 210 g zużywa średnio 154 ml tlenu na godzinę (5), z czego można obliczyć, że w końcu okresu dwugodzinnego powietrze wdychane przy hiperkapnii z hipoksją zawierało w przybliżeniu 11,7 % O₂, 8,3 % CO₂, 80 % N₂, zaś przy samej hipoksji 11,7 % O₂, 88,3 % N₂, przy czym ciśnienie w komorze obniżało się do mniej więcej 91,7% aktualnego ciśnienia barometrycznego.

Odpowiednie wartości średnie ($\bar{x}_1$ = średnia aktywność początkowa, $\bar{x}_2$ = średnia aktywność końcowa) były porównywane przy zastosowaniu testu dla wyników uzyskanych parami $t = \bar{x}_d : S_{x_d}$, gdzie $\bar{x}_d$ = średnia różnica, S_{x_d} = średni błąd średniej różnicy, n = liczba par pomiarów w danej grupie. Test ten mógł być zastosowany do zwierząt, u których oznaczano aktywność AdO i nie zachodziła potrzeba ich zabijania. Ponieważ wartości średnie koncentracji białka pochodziły od grupy kontrolnej zwierząt i grupy „badanej”, przy porównywaniu wartości średnich posługiwaliśmy się testem „Studenta” dla małej próby, populacji częściowo niezależnych $t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) : \sqrt{S_{\bar{x}_1}^2 + S_{\bar{x}_2}^2}$

WYNIKI

1. Aktywność AdO u 18 osób po przebytych napięciu emocjonalnym wyraźnie obniżyła się, a tylko u jednej pozostała bez zmian, w wyniku czego średnia aktywność enzymatyczna zmniejszyła się bardzo znacznie ($\bar{x}_1 = 3,97$, $\bar{x}_2 = 6,21$, $\bar{x}_d = 2,76$, $t = 6,76$, $P < 0,001$, $n = 19$).

2. W grupie zwierząt kontrolnych (15 sztuk) znajdujących się w zwykłych warunkach laboratorium aktywność AdO mierzona w odstępie 2—3 godzin bądź nie zmieniała się, bądź nieznacznie wzrastała lub obniżała się, a średnia aktywność nie ulegała znamiennej zmianie ($\bar{x}_1 = 12,19$, $\bar{x}_2 = 12,24$, $\bar{x}_d = +0,05$, $t = 0,24$, $P < 0,9$, $n = 15$).

3. Pod wpływem przebywania w przestrzeni zamkniętej i zachodzącej hiperkapnii z hipoksją występował u szczurów bardzo znamieny wzrost średniej aktywności AdO ($\bar{x}_1 = 8,23$, $\bar{x}_2 = 9,66$, $\bar{x}_d = +1,43$, $t = 4,810$, $P < 0,001$, $n = 18$).

4. Gdy zwierzęta przebywały w przestrzeni zamkniętej, w której zachodziło pochłanianie dwutlenku węgla, przy czym powstawała wyłącznie hipoksja, średnia aktywność enzymatyczna nie zmieniała się w sposób znamieny ($\bar{x}_1 = 12,73$, $\bar{x}_2 = 12,51$, $\bar{x}_d = -0,22$, $t = 0,51$, $P < 0,7$, $n = 12$).

5. Niska ciepłota otoczenia (3°C) wzmagala prawie zawsze aktywność AdO, dzięki czemu średnia aktywność enzymatyczna wzrastała w sposób znamieny ($\bar{x}_1 = 11,38$, $\bar{x}_2 = 13,08$, $\bar{x}_d = +1,70$, $t = 3,90$, $P < 0,01$, $n = 12$).

6. Wysoka ciepłota otoczenia (43°C), podobnie jak niska prowadziła do wzrostu średniej aktywności i to bardzo znamienego ($\bar{x}_1 = 10,69$, $\bar{x}_2 = 13,12$, $\bar{x}_d = +2,43$, $t = 5,06$, $P < 0,001$, $n = 11$).

7. Pod wpływem działania hipoksji z hiperkapnią, oziębiania i przegrzewania nie występowały u zwierząt znamienne zmiany średniej koncentracji białek surowicy w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi (tab. 1).

8. Jednorazowe wprowadzenie podskórne (0,2 ml na szczura) czystej terpentyny (grupa 4 zwierząt) spowodowało kilka dni trwające bardzo znamienne obniżenie aktywności enzymatycznej. Średnia aktywność we wstępnym okresie kontrolnym (11 dni) wynosiła $11,10 \pm 0,191$, średnia aktywność w okresie 7 dni po podaniu terpentyny — $8,78 \pm 0,197$ ($t = 8,448$, $P < 0,001$). W tym samym czasie u zwierząt kontrolnych (grupa 3 zwierząt) nie zaszły żadne zmiany. Średnia aktywność wstępnego okresu (11 dni) wynosiła $11,15 \pm 0,163$, średnia aktywność w dalszym siedmiodniowym okresie — $11,06 \pm 0,359$ ($t = 0,229$, $P < 0,9$).

9. Wprowadzenie jednorazowe podskórnie (grupa 3 zwierząt) zawiesiny hodowli paciorkowca hemolizującego (0,3 ml na szczura) nie powodowało znamienych zmian aktywności AdO. Średnia aktywność we wstępnym okresie kontrolnym (9 dni) wynosiła $11,36 \pm 0,106$, średnia aktywność w okresie 8 dni po wprowadzeniu — $11,72 \pm 0,269$ ($t = 2,00$, $P < 0,1$). Podobne wyniki otrzymaliśmy u zwierząt kontrolnych (3 sztuki). Średnia aktywność okresu wstępnego (9 dni) wynosiła $11,30 \pm 0,146$, średnia okresu 8 dalszych dni — $11,67 \pm 0,258$ ($t = 1,25$, $P < 0,3$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Mechanizmy wpływu badanych czynników na aktywność enzymatyczną są trudne do wyjaśnienia. Jak wynika z poprzedniej naszej pracy (2) czynnikiem ustrojowym doraźnie wzmagającym aktywność AdO może być zwiększona produkcja względnie mobilizacja katecholamin. Wielokrotnie stwierdzono, że niektóre stany emocjonalne (lęk), oziębianie i przegrzewanie ustroju, hipoksja i hiperkapnia ze zwiększeniem stężenia jonów wodorowych we krwi mobilizują katecholaminy ustrojowe (4). Czynniki te wpływają jednak na aktywność AdO rozmaicie: wzmagająco (oziębianie, przegrzewanie, hiperkapnia), hamująco (emocja) albo też pozostają bez wpływu (hipoksja). Dlatego wyjaśnienie mechanizmu powstawania zmian aktywności enzymatycznej wyłącznie

na drodze indukcji przez zmobilizowane katecholaminy ustrojowe nie jest możliwe.

Tab. 1. Średnia zawartość białka (g%) w surowicy krwi zwierząt kontrolnych i poddanych działaniu czynników stresu

Mittlere Eiweisskonzentration g% des Blutplasmas bei Kontroll- und unter Stressorenwirkung bleibenden Tieren

	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	n	t	P
Kontrola	$6,37 \pm 0,082$	7	0,279	< 0,9
Hipoksja + hiperkapnia	$6,40 \pm 0,007$	7		
Kontrola	$6,71 \pm 0,127$	6	2,050	< 0,1
Oziębianie	$6,40 \pm 0,081$	7		
Kontrola	$6,71 \pm 0,127$	6	0,401	< 0,7
Ogrzewanie	$6,63 \pm 0,154$	7		

Dokonane pomiary koncentracji białek surowicy i stwierdzony brak istotnych zmian przemawia za tym, że zachodzące wzrosty aktywności enzymatycznej nie mają charakteru pozornego spowodowanego np. utratą wody przez osocze krwi. Biorąc pod uwagę duże możliwości przemieszczeń wody ustrojowej z przestrzeni międzykomórkowej do krwi i odwrotnie, trudno przypuścić, aby przy istniejącej w związku z homeostazą tendencji do utrzymania izotonii i izoonkii krwi miały występować w tych różnorodnych, lecz krótkotrwałych obciążeniach ustroju znaczniejsze wahania w uwodnieniu krwi. O braku takich zmian mogliśmy przekonać się także poprzednio (3), stwierdzając niezmienną koncentrację białka surowicy po 1-godzinnym wysiłku u szczurów, podczas gdy aktywność AdO wzrastała.

PIŚMIENNICTWO

1. Billewicz-Stankiewicz J., Kossowski A., Szczekala Z.: Próba charakterystyki „adrenalinooksydazy” osocza krwi. Pamiętnik IX Zjazdu Pol. Tow. Fizjol. Toruń 1963, ss. 34—35.
2. Billewicz-Stankiewicz J., Szczekala Z., Tyburczyk W.: *Experientia* 20, 85—86, 1964.
3. Billewicz-Stankiewicz J., Tyburczyk W.: *Int. Z. angew. Physiol. einschl. Arbeitsphysiol.* 20, 62—74, 1963.
4. Gray C. H., Bacharach A. L.: *Hormones in Blood*. Academic Press, New York and London 1961, ss. 576—577.

5. Hagemann E., Schmidt G.: Ratte und Maus, Versuchstiere in der Forschung. Walter de Gruyter, Berlin 1960, ss. 27.
6. Jasiński A., Tyburczyk W.: Acta Physiol. Polon. 12, 887—900, 1961.
7. Selye H.: The Stress of Life. New York, Mc Graw-Hill Book Co, Toronto, London 1956, Wydanie polskie, PZWL, Warszawa 1960, ss. 143—154.

РЕЗЮМЕ

Охлаждение, перегревание организма и гиперкапния усиливают активности адренилинооксидазы (AdO) плазмы крови. Эмоциональное возбуждение и подкожное впрыскивание скипидара оказывают угнетающее действие. Гипоксия и подкожное введение культуры гемолитического стрептококка не оказывают влияния на AdO.

Табл. 1. Средняя концентрация белка (г%) в сыворотке крови у контрольных животных и подвергающихся влиянию факторов стресса.

ZUSAMMENFASSUNG

Adrenalin-Oxydase (AdO) des Blutplasmas wird durch Abkühlung, und Überhitzung des Organismus und durch Hyperkapnie aktiviert, dagegen durch Aufregungszustände und subkutane Terpentininjektionen gehemmt. Keinen Einfluss auf AdO haben Hypoxie und subkutane Einspritzungen von Streptococcus haemolyticus-Kulturen.

Pracę otrzymano 15 V 1964.

