

СЕЗОННІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФОСФАТАЗ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ ОСІБ, ЩО МЕШКАЮТЬ В УМОВАХ ТРИВАЛОГО ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Н.В. Колісник, К.В. Новікова, В.В. Работкіна,*

Г.С. Сенченко, А.С. Яловенко

Запорізький національний університет

**Запорізький обласний кардіологічний диспансер*

Установлено, что активность кислой фосфатазы нейтрофилов (КФн), кислой фосфатазы лимфоцитов (КФлф) и щелочной фосфатазы нейтрофилов (ЩФн) крови практически здоровых жителей промышленного города зависит от сезонов года: достоверный максимум активности ферментов наблюдается осенью и зимой, минимум – весной и летом. Фазы колебания активности фосфатаз по сезонах года практически согласованы, но структура ритма асимметрична: амплитуда колебаний в минифазах сезонов составила 32, 20 и 40 %, а в акрофазах –17, 21 и 9 % соответственно для КФн, КФлф и Лфн.

Нейтрофилы, лимфоциты, кислая и щелочная фосфатаза, годовой ритм

ВСТУП

Високий рівень захворюваності й смертності мешканців промислових міст – показник ступеню скомпроментування імунної системи [5]. Раніше ми повідомляли про стан десинхронозу в річній організації ритмів показників лейкограми [1], протифазні не синусоїдальні річні коливання активності мієлопероксидази та катіонних білків нейтрофілів у практично здорових осіб м. Запоріжжя [2]. Дані сучасної літератури [6, 10, 12] дають підставу думати, що головна роль фосфатаз у імунокомпетентних клітинах периферичної крові – участь у модуляції активності внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, тобто у регуляції їхнього метаболізму й функціонального стану. Нейтрофіли та лімфоцити периферичної крові характеризують як різні шляхи гематопоезу, так й функції в імунному захисті [5]. У цьому зв'язку одночасне, паралельне визначення активності фосфатаз у нейтрофілах і лімфоцитах крові працездатних мешканців промислового міста в умовах зміни сезонів року й пов'язаних з ними змін геофізичних параметрів міста та фізико-хімічного стану несприятливих факторів навколишнього середовища представляється актуальним як у теоретичному, так і практичному відношеннях. Тому метою

данної роботи є паралельне дослідження активності кислої фосфатази [КФ 3.1.3.2.] нейтрофілів і лімфоцитів (КФн і КФлф) та лужної фосфатази [КФ 3.1.3.1.] нейтрофілів (ЛФн) периферичної крові в окремі сезони року.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкт дослідження – мазки стабілізованої цитратом периферичної крові позаштатних донорів – чоловіків та жінок, робітників промислових підприємств м. Запоріжжя. Відповідно до вимог хронобіології [4] щомісячно протягом року та з повтором у вибіркові місяці двох наступних років з використанням методів цитохімії досліджували стан активності ЩФн [9], КФн [3] та КФлф [3] у 243 осіб, середній вік яких складав 34 ± 8 років.

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою пакету прикладних програм SPSS, версія 13 та STATISTICA, версія 7 в ОС Windows XP. Розраховували середньо місячні, середньо сезонні, та середньорічні показники активності ферментів, їхній 95%-вий довірчий інтервал (ДІ). Аналіз впливу місяцю та сезону року на рівень активності ферментів та достовірність відмінностей між ними проводили з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та апостеріорних множинних порівнянь – тест найменшої значимої різниці. Достовірність відмінностей показників у конкретному місяці від середньо сезонних та середньо сезонних від середньо річних визначали за допомогою Т-тесту однієї вибірки та тесту Мана-Уїтні. Достовірними вважали відмінності з $p < 0,05$. Графічний аналіз даних здійснювали з використанням модуля “Величина помилки”.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Відповідно до даних ANOVA (табл. 1) сезон року достовірно впливає на активність досліджуваних фосфатаз як у нейтрофілах, так і лімфоцитах.

Щомісячна динаміка змін активності досліджуваних ферментів у окремі сезони року, достовірність відмінностей значення активності того чи іншого ферменту в кожному місяці порівняно з іншими у сезоні та середньо сезонне значення активності кожного ферменту (— — — лінія) відображено на рис. 1. Достовірні відмінності між активністю КФн спостерігаються взимку. У лютому активність ферменту достовірно нижча ніж у грудні та січні. Восени – у вересні вона достовірно вища, ніж у жовтні та листопаді. Амплітуда коливань активності КФн від середньо сезонних значень склала взимку 66%, восени – 24%.

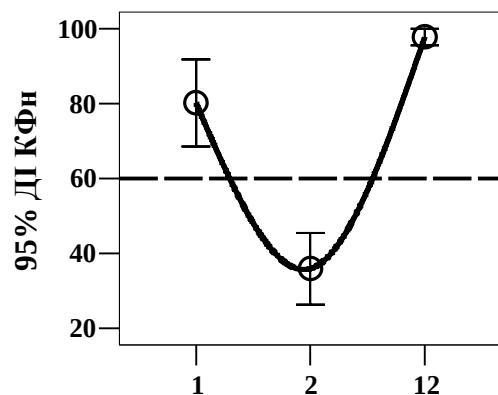
Таблиця 1 – Дані впливу сезону року на активність КФн, ЩФн та КФлф працездатних осіб, що мешкають в умовах важкого техногенного навантаження (ANOVA)

Фермент	Різниця	Сума квадратів	Середній квадрат	F	P <
КФн	Між групами	102388,35	9308,03	14,13	,001
КФлф	Між групами	43178,48	3925,32	8,04	,001
ЩФн	Між групами	48116,97	4374,27	10,88	,001

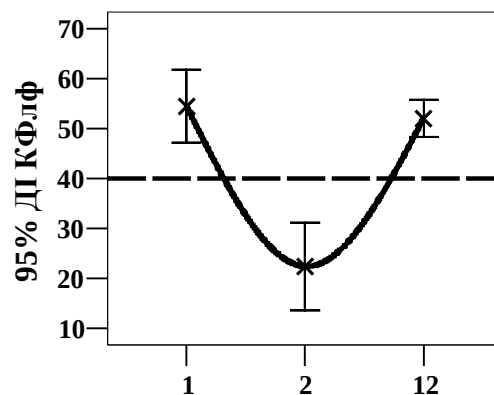
Така ж динаміка зміни активності та амплітуда її коливань за сезонами характерна КФлф (рис. 1). Достовірні відмінності активності ЛФн в окремі місяці сезонів спостерігаються тільки восени – у вересні активність ЛФн нижча за таку у листопаді. Слід звернути увагу на значний 95%-вий ДІ активності ЛФн порівняно з іншими фосфатазами.

На рис. 2 відображена динаміка змін середньо сезонних значень досліджуваних фосфатаз та достовірність відмінностей активності ферментів за сезонами. Відповідно представленим даним, усі три досліджувані фосфатази мають однакову сезонну динаміку змін. Максимум активності ферментів спостерігається восени та взимку, мінімум – навесні та влітку.

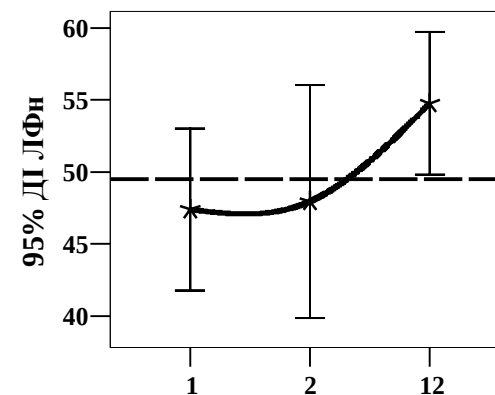
Відомо, що КФн локалізована в специфічних гранулах нейтрофілів та в лізосомах лімфоцитів, ЩФн міститься тільки у нейтрофілах і локалізована у мембранах – плазматичної та гранул цих клітин [11, 13, 14]. Встановлено участь КФн у дефосфорилюванні продуктів гідролізу ДНК та РНК фагоцитованих мікробів [14], ЛФн і КФлф у дефосфорилюванні білків передавачів внутрішньоклітинної сигналізації з мембранних рецепторів [8, 15]. У контексті викладених даних літератури про функції фосфатаз у імунокомпетентних клітинах, представляли інтерес результати аналізу наявності або відсутності взаємозалежності активності фосфатаз лейкоцитів у різні сезони року. Результати кореляційного аналізу відповідно Пірсона відображено в табл. 2.



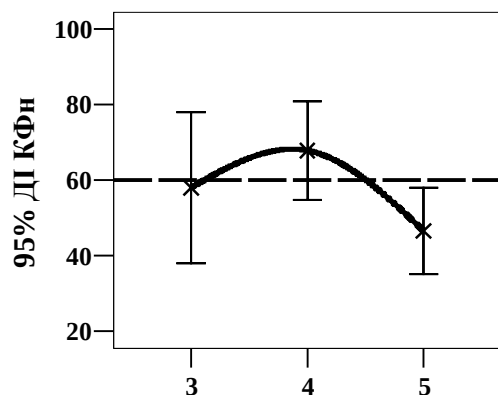
$P_{1-2} < 0,05; P_{1-12} < 0,05; P_{2-12} < 0,05$



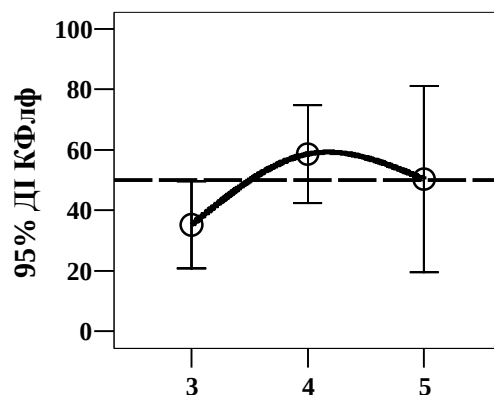
$P_{1-2} < 0,05; P_{2-12} < 0,05$



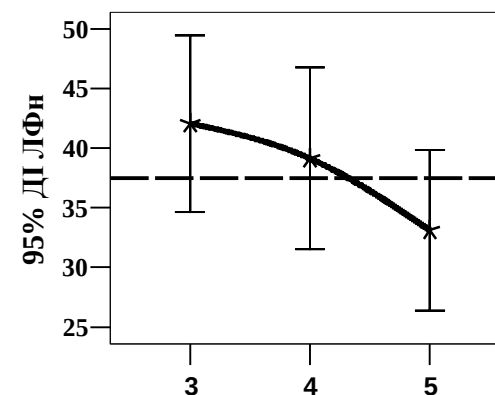
Відмінності відсутні



Відмінності відсутні

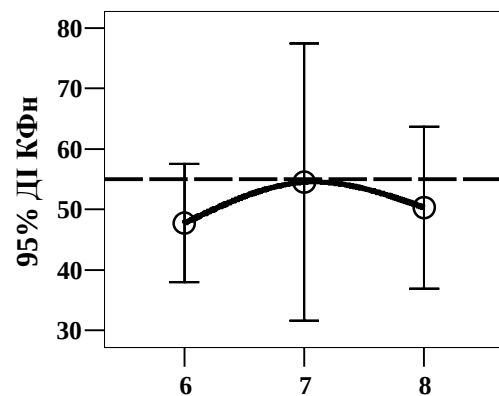


Відмінності відсутні

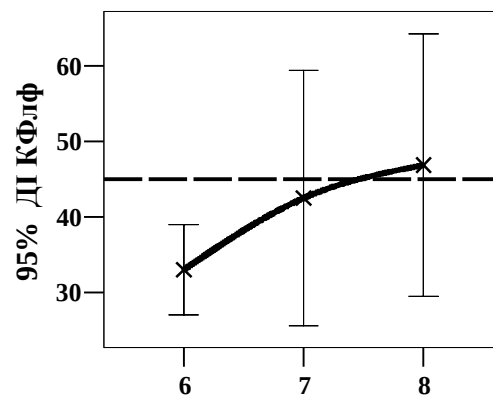


Відмінності відсутні

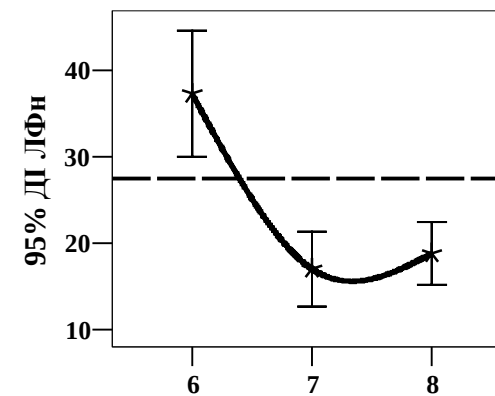
Рисунок 1 – Динаміка змін активності фосфатаз лейкоцитів в окремі місяці сезонів року



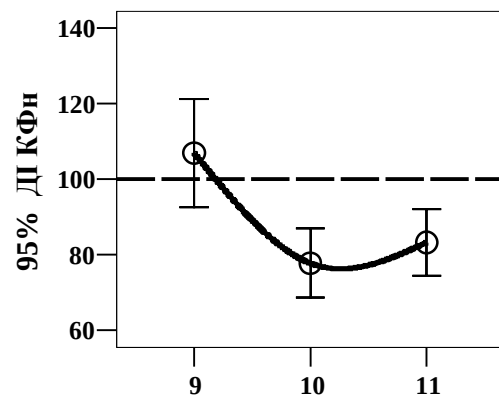
Відмінності відсутні



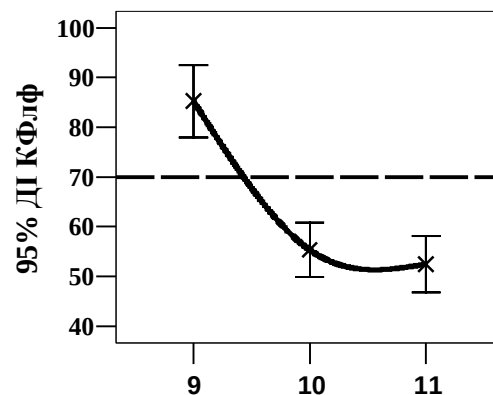
Відмінності відсутні



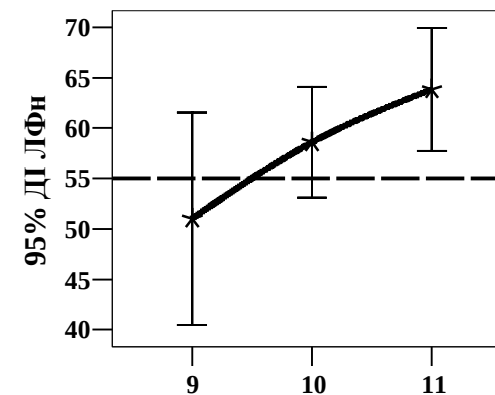
$P_{6-7} < 0,05$; $P_{6-8} < 0,05$



$P_{9-10} < 0,05$; $P_{9-11} < 0,05$

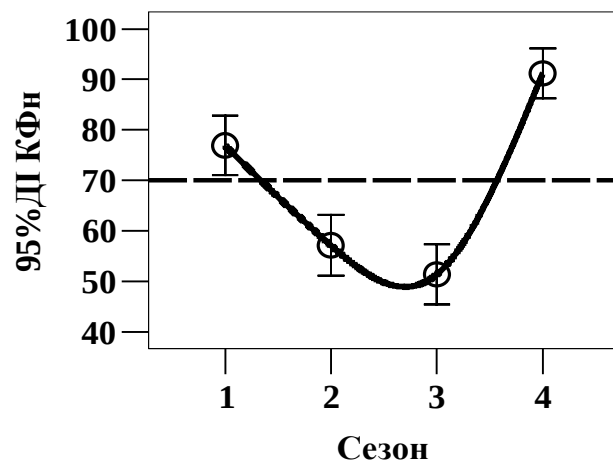


$P_{9-10} < 0,05$; $P_{9-11} < 0,05$

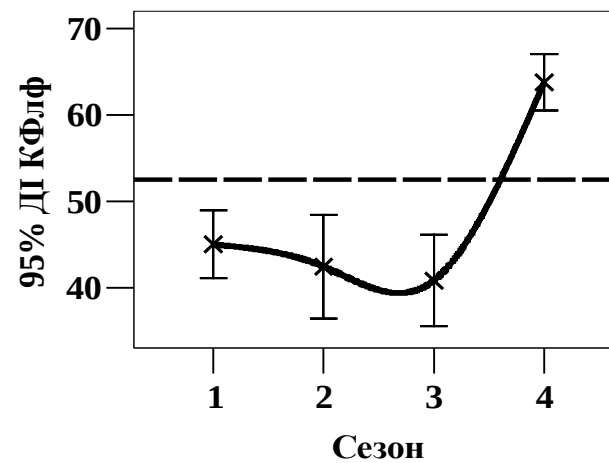


$P_{9-11} < 0,05$

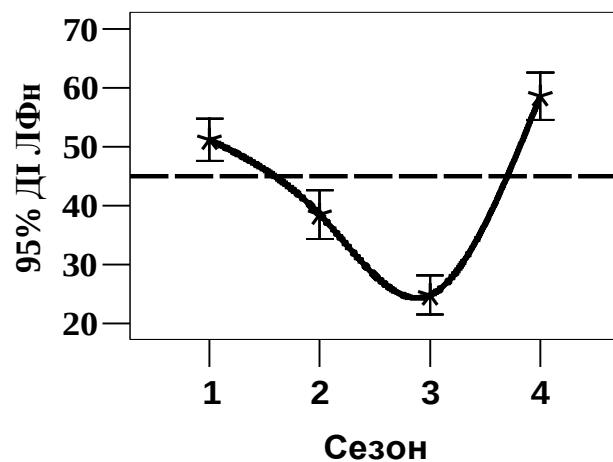
Продовження рисунка 1



$P_{1-2} < 0,05$; $P_{1-3} < 0,05$; $P_{2-4} < 0,05$; $P_{3-4} < 0,001$



$P_{1-4} < 0,05$; $P_{2-4} < 0,05$; $P_{3-4} < 0,001$



$P_{1-2} < 0,05$; $P_{1-3} < 0,05$; $P_{2-3} < 0,05$;
 $P_{2-4} < 0,05$; $P_{3-4} < 0,001$

Рисунок 2 – Динаміка змін активності фосфатаз лейкоцитів за сезонами року

Таблиця 2 – Дані кореляційного аналізу зв'язків стану активності фосфатаз лейкоцитів у окремі сезони року

Сезон року	Ферменти	Коефіцієнт кореляції	P
Зима	КФн<<————>>КФлф	0,606	0,001
Весна	КФн<<————>>КФлф	0,354	0,02
Літо	КФлф<<————>>ЛФн	0,775	0,001
Осінь	КФн<<————>>КФлф	0,618	0,001

Відповідно до даних табл. 2, між активністю КФн та активністю КФлф у всіх сезонах має місце позитивний зв'язок, активність ЛФн в ці зв'язки не залучається. Отримані результати свідчать про загальні механізми регуляції КФн та КФлф і незалежну регуляцію активності ЛФн, але однонаправленість змін активності фосфатаз у сезонах відображує, як ми припускаємо, їхню участь у виконанні загальних внутрішньоклітинних механізмів регуляції, які включають реакції дефосфорилювання.

У світі викладеного перспективним напрямком подальших досліджень є визначення активності фосфатаз лейкоцитів периферичної крові у осіб при різних захворюваннях.

ВИСНОВКИ

1. Активність КФн, КФлф та Лфн периферичної крові практично здорових мешканців промислового міста залежить від сезонів року: достовірний максимум активності ферментів спостерігається восени та взимку, мінімум – навесні та влітку
2. Фази коливання активності фосфатаз у сезонах року практично погоджені, але структура ритму асиметрична.
3. Амплітуда коливань у міні фазах сезонів складала 32, 20 і 40 %, а в акрофазах 17, 21 і 9 % відповідно для КФн, КФлф та Лфн. Наявність асиметрії в коливаннях активності ферментів за сезонами – показник несприятливого впливу навколишнього середовища.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Колісник Н.В., Бордюг Л.В., Кисельова І.А. Сезонні зміни показників лейкограми мешканців промислового міста степової зони півдня України

- // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2006. – Вип. 11, № 2. – С. 121–125.*
2. Колісник Н.В., Качанова Ж.С. Новосад Н.В., Яловенко А.С. Вплив сезонів року на активність мієлопероксидази й рівень катіонних білків у нейтрофілах периферичної крові осіб, що мешкають в умовах тривалого техногенного навантаження // *Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: Просвіта. – 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 146–152.*
 3. Рубенс Ю.Ф., Буйкис И.М. Цитохимический метод определения активности кислой фосфатазы лейкоцитов // *Вопросы лейкологии. – 1969. – № 1. – С. 377–383.*
 4. *Хронобиология и хрономедицина. Руководство / Под ред. Ф.И. Комарова. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.*
 5. Ярилин А.А. *Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 605 с.*
 6. Alvarado-Kristensson M., Andersson T. Protein Phosphatase 2A Regulates Apoptosis in Neutrophils by Dephosphorylating Both p38 MAPK and Its Substrate Caspase 3 // *J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280, № 7 – P. 6238–6244.*
 7. Bednarska K., Klink M., and Sulowska Z. Application of intracellular alkaline phosphatase activity measurement in detection of neutrophil adherence in vitro // *Mediators Inflamm. – 2006. – Vol. 2006, № 4. – P. 19307–193012.*
 8. Ding J., Badwey J.A. Effects of antagonists of protein phosphatases on superoxide release by neutrophils // *J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267, № 9. – P. 6442–6448.*
 9. Keplow L.S. A histochemical procedure for localising and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // *Blood. – 1955. – Vol. 10. – P. 1023–1029.*
 10. Ozawa K., Nakata, K. Mizuno et al. Negative autoregulation of Src homology region 2-domain-containing phosphatase-1 in rat basophilic leukemia-2H3 cells // *Intern. Imm. – 2007. – Vol. 19, № 9. – P. 1049–1061.*
 11. Pellme S., Dahlgren N.C., Karlsson A. The two neutrophil plasma membrane markers alkaline phosphatase and HLA class I antigen localize differently in granule-deficient cytoplasts. An ideal plasma membrane marker in human neutrophils is still lacking // *J. immunol methods – 2007. – Vol. P. 325, № 1–2. – P. 88–95.*
 12. Sakalauskiene J., Ivanauskiene E., Zekonis G., et al. Alkaline Phosphatase Activity Changes of Blood Neutrophil Leukocytes Among Patients Suffering

- from Diabetes Mellitus Type I and Periodontal Diseases // Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal. – 2004 – Vol.6. – P. 55–58.*
13. Scott C.S, Cordingley R..J, Roberts B.E et al. *Relation of neutrophil alkaline phosphatase activity to Fc-IgG receptor development in human blood and bone marrow // J Clin Pathol. – 1982. – Vol. 35. – P. 967–971.*
14. Venglinskaya E.A., Shubich M.G. *Role of alkaline phosphatase of the neutrophils for their phagocytic function // Bull. Exp. Biol. Med. – 1972. – Vol. 74, № 5. – P. 1408–1412.*
15. Wang Y., Vachon E., Zhang J. *Tyrosine phosphatase MEG2 modulates murine development and platelet and lymphocyte activation through secretory vesicle function // Exp Med. – 2005. – Vol. 202, № 11. – P. 1587–1597.*

SEASONAL FLUCTUATION OF ACTIVITY OF PHOSPHATASES OF LEUCOCYTES OF A BLOOD OF PERSONS, WHICH LIVE IN CONDITIONS OF A LONG TECHNOGENIC LOAD

N.V. Kolesnik, K.V. Novikova, V.V. Rabotkina, G.S. Senzhenko, A.S. Ylovenko

It is erected, that activity of acid phosphatase of neutrophils (APn), acid phosphatase of lymphocytes (APL) and an alkaline phosphatase of neutrophils (ALPn) of blood *practically healthy habitants of industrial city depends on the seasons of year: reliable a maximum of activity of ferments are observed in the autumn and in the winter, a minimum – in the spring and in the summer.*

Phases oscillations of activity of phosphatases in seasons of year are practically coordinated, but the frame of a rhythm is unsymmetrical: the vibration amplitude in miniphases of seasons has compounded 32, 20, 40 %, and in acrophases of 17, 21 i 9 % accordingly for APN, APL and ALPN.

УДК:577.27:57.034:502.3(477)

Колісник Н.В., Новікова К.В., Работкіна В.В., Сенченко Г.С., Яловенко А.С. Сезонні зміни активності фосфатаз лейкоцитів крові осіб, що мешкають в умовах тривалого техногенного навантаження // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2009. – Вип. 14, № 1. – С. 135–143.

Встановлено, що активність кислої фосфатази нейтрофілів (КФн), кислої фосфатази лімфоцитів (КФлф) і лужної фосфатази нейтрофілів (ЛФн) крові практично здорових мешканців промислового міста залежить від

сезонів року. Достовірний максимум активності ферментів спостерігається восени і взимку, мінімум – навесні і влітку. Фази коливання активності фосфатаз за сезонами року практично погоджені, але структура ритму асиметрична: амплітуда коливань у мініфазах сезонів склала 32, 20 і 40 %, а в акрофазах 17, 21 і 9 % відповідно для КФн, КФлф і ЛФн.

Бібл. 15. Табл. 2. Рис. 2.