

Janusz Szczepański*

Możliwości adaptacyjne układu hemopoetycznego na obciążenie kwasem 3-merkaptopropionowym w procesie starzenia się

Streszczenie

Badano reakcje układu hemopoetycznego na obciążenie kwasem 3-merkaptopropionowym (3-MP), w procesie starzenia się.

Kwas 3-MP podawany myszom w dawce 4 mg/kg w.c. wywiera hamujący wpływ na szpik kostny, a szczególnie na proliferację erytrocytów. Po czternastu dniach eksperymentu spadek ilości erytrocytów i poziomu hemoglobiny był istotny u ośmiomiesięcznych i sześciomiesięcznych zwierząt, podczas gdy u czteromiesięcznych i dwumiesięcznych zmiany tych parametrów nie były istotne. Wyniki te świadczą o większej zdolności adaptacyjnej układu hemopoetycznego u osobników młodych.

W dyskusji jest analizowany prawdopodobny mechanizm działania tego kwasu oraz zależność reakcji od wieku.

Wstęp

Bez utrzymania homeostazy niemożliwe jest życie organizmu, który musi wciąż adaptować się do rozmaitych czynników stresotwórczych,

*Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Biologii Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Krakowie

dlatego układ hemopoetyczny powinien wykazywać bardzo duże możliwości adaptacyjne niezależnie od wieku.

W jednej z teorii starzenia się Selye (1936) tłumaczy je wyczerpaniem się „energii adaptacyjnej” następującej podczas każdego życiowego stresu. Teoria ta zwraca uwagę na istotną zależność między wiekiem organizmu, a jego zdolnościami adaptacyjnymi.

Czerwony szpik kostny zachowuje te zdolności bardzo długo. Należy do tkanek kambialnych, w których proces starzenia się przebiega bardzo łagodnie. Morfologia krwi obwodowej (u starców zdrowych) nie różni się w zasadzie od analogicznej u dorosłych. W bardzo posuniętej starości obserwowano jednak obniżenie ilości erytrocytów i poziomu hemoglobiny (Wiśniewska-Roszkowska 1973). Wiele substancji chemicznych wywiera wpływ na układ hemopoetyczny, jedną z nich jest kwas 3-merkaptopropionowy (3-MP).

Kwas 3-MP, podobnie jak wszystkie związki zawierające siarkę w postaci grupy tiolowej, tioketonowej lub tioatomowej, wykazuje hamujący wpływ na szpik kostny (Szukalski 1984). Kwas ten jest znany jako egzotoksyna wywołująca drgawki toniczne spowodowane znacznym obniżeniem poziomu GABA, neurotransmitera hamującego (Billewicz-Stankiewicz 1984). Stres ten obniża również ilość glutaminy, alaniny, seryny i tauryny w mózgu (Karlsson i wsp. 1974).

Uwzględniając powyższe informacje interesujące wydaje się pytanie: jaka będzie odpowiedź fizjologiczna układu hemopoetycznego na wielokrotne podawanie kwasu 3-MP i czy będzie ona zależna od wieku?

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na czterech grupach wiekowych białych myszy: ośmio-, sześć-, cztero- i dwumiesięcznych. Każda grupa wiekowa liczyła po pięć samców i pięć samic. Zwierzęta otrzymywały kwas 3-MP w dawce 4 mg/kg w.c. w iniekcjach podskórnych, co 48 godzin przez czternaście dni. Badania kontrolne w każdej grupie wykonano na 24 godz. przed rozpoczęciem eksperymentu i 24 godz.

po siódmej iniekcji. Oprócz tego grupa czteromiesięczna była przebadana dodatkowo po dwóch iniekcjach.

Analizowano następujące parametry: 1) liczbę erytrocytów, 2) liczbę leukocytów, 3) poziom hemoglobiny, 4) indeks barwny, 5) leukogram.

Badania te przeprowadzono według standardowej metodyki (Krawczyński, Osiński 1967). Wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu „t”.

Wyniki

1. Liczba erytrocytów

U ośmio- i sześciomiesięcznych myszy wystąpił, w stosunku do grupy kontrolnej, znaczny spadek erytrocytów. Spadek ten jest istotny statystycznie, z wyjątkiem ośmiomiesięcznych samic (z powodu dużego SD) a w przypadku samców sześciomiesięcznych jest nawet wysoce istotny (tab. 1).

Tab. 1. Średni poziom erytrocytów po iniekcjach kwasu 3-merkaptopropionowego w dawce 4 mg/kg w.c., we wszystkich grupach wiekowych myszy

Grupa wiekowa	Płeć	Grupa: kontr. dośw.	Liczba iniekcji	Średni poziom erytrocytów		SD	„t”
				T/l	% kontroli		
1	2	3	4	5	6	7	8
I. ośmiomiesięczna	♀	K	–	8,15	100	0,84	–
		D	7	7,67	94,1	0,84	0,90
	♂	K	–	7,49	100	0,37	–
		D	7	7,00	93,4	0,25	2,45 +
II. sześciomiesięczna	♀	K	–	8,61	100	0,14	–
		D	7	8,22	95,5	0,25	3,04 +
	♂	K	–	8,23	100	0,24	–
		D	7	7,75	94,2	0,21	3,36++

1	2	3	4	5	6	7	8
III. cztero- miesięczna	♀	K	-	8,61	100	0,35	-
		D	2	8,12	94,3	0,25	2,55 +
		D	7	8,35	97,0	0,18	1,48
	♂	K	-	8,21	100	0,17	-
		D	2	7,65	93,2	0,35	3,22 +
		D	7	8,29	100,9	0,26	0,57
IV. dwumie- siężna	♀	K	-	7,99	100	0,32	-
		D	7	7,82	97,9	0,21	0,99
	♂	K	-	7,57	100	0,29	-
		D	7	7,35	97,1	0,39	1,01

+ istotne przy $p \leq 0,005$

++ - istotne przy $p \leq 0,01$

W grupie czteromiesięcznej, która była badana trzykrotnie, wystąpił pod dwóch iniekcjach statystycznie istotny spadek liczby erytrocytów tak u samic, jak i u samców. Natomiast po 7 iniekcjach u samców czteromiesięcznych stwierdzono minimalny wzrost, a u samic nieistotny spadek liczby erytrocytów (tab. 1).

W grupie dwumiesięcznych myszy wystąpiło u obu płci nieistotne obniżenie liczby erytrocytów (tab. 1).

2. Liczba leukocytów

We wszystkich grupach wiekowych, z wyjątkiem sześciomiesięcznych samców, u których wystąpił nieistotny spadek liczby leukocytów, odnotowano nieistotne statystycznie wzrosty liczby leukocytów.

3. Poziom hemoglobiny

Rezultaty badań wykazują dużą współzależność z liczbą erytrocytów (tab. 2). Świadczy o tym również indeks barwny.

4. Indeks barwny

We wszystkich badaniach indeks barwny przyjmował wartości w okolicach jedności. Wszystkie zmiany indeksu są nieistotne statystycznie.

Tab. 2. Średni poziom hemoglobiny po iniekcjach kwasu 3-merkaptopropionowego w dawce 4 mg/kg w.c., we wszystkich grupach wiekowych myszy

Grupa wiekowa	Płeć	Grupa: kontr. dośw.	Liczba iniekcji	Średni poziom Hb		SD	„t”
				w %	% kontroli		
I. ośmiomiesięczna	♀	K D	– 7	81,1 76,5	100 94,3	8,11 8,08	– 0,90
	♂	K D	– 7	74,9 69,2	100 92,4	3,47 2,92	– 2,79 +
II. sześciomiesięczna	♀	K D	– 7	86,6 82,1	100 94,8	2,30 2,13	– 3,21 +
	♂	K D	– 7	82,0 76,9	100 93,7	2,04 2,27	– 3,73++
III. czteromiesięczna	♀	K	–	85,8	100	3,03	–
		D	2	81,6	95,1	2,30	2,47 +
		D	7	82,3	95,9	2,28	2,06
	♂	K	–	82,0	100	1,54	–
D		2	76,0	92,7	3,14	3,84++	
D		7	82,1	100,1	3,13	0,06	
IV. dwumiesięczna	♀	K D	– 7	78,6 77,5	100 98,6	2,94 2,24	– 0,60
	♂	K D	– 7	75,1 73,3	100 97,6	2,45 3,93	– 0,87

+ istotne przy $p \leq 0,005$

++ – istotne przy $p \leq 0,01$

5. Leukogram

Obserwowane zmiany w stosunkach procentowych krwi są statystycznie nieistotne. Wyjątek stanowią wyniki uzyskane u czteromiesięcznych myszy, u których w dodatkowym badaniu (po dwóch iniekcjach) wystąpił wysoce istotny statystycznie spadek liczby neurofili o jądrze pałeczkowatym oraz istotny wzrost neutrofilii wielopłatowych tak u samic (tab. 3), jak i u samców (tab. 4).

Tab. 3. Leukogram po iniekcjach kwasu 3-merkaptopropionowego u samic czteromiesięcznych myszy

Rodzaj krwinek białych	Grupa: kontr. dośw.	Liczba iniekcji	Średnia liczba krwinek	SD	"t"
Limfocyty -	K	-	76,2	3,87	-
	D	2	78,4	2,07	1,12
	D	7	80,1	3,84	2,25
Monocyty -	K	-	0,6	0,55	-
	D	2	0,4	0,55	0,57
	D	7	0,4	0,55	0,57
Granulocyty: - pałeczki	K	-	7,6	2,07	-
	D	2	4,0	0,71	3,68 ++
	D	7	6,5	1,82	0,89
- n. wielopłatkowe	K	-	14,0	1,80	-
	D	2	16,4	1,50	2,29 +
	D	7	11,8	3,21	1,44
- eozynofile	K	-	1,6	1,14	-
	D	2	0,8	0,84	1,26
	D	7	1,2	1,30	0,52

+ istotne przy $p \leq 0,05$

++ istotne przy $p \leq 0,01$

Tab. 4. Leukogram po iniekcjach kwasu 3-merkaptopropionowego u samców czteromiesięcznych myszy

Rodzaj krwinek białych	Grupa: kontr. dośw.	Liczba iniekcji	Średnia liczba krwinek	SD	"t"
1	2	3	4	5	6
Limfocyty -	K	-	74,7	2,51	-
	D	2	77,2	2,12	1,70
	D	7	78,2	2,59	2,17
Monocyty -	K	-	0,8	0,45	-
	D	2	0,4	0,55	1,26
	D	7	0,4	0,55	1,26
Granulocyty: - pałeczki	K	-	8,8	2,77	-
	D	2	3,6	1,14	3,88 ++
	D	7	6,8	1,48	1,42

1	2	3	4	5	6
- n. wielopłątowe	K	-	14,6	1,67	-
	D	2	17,8	1,64	3,05 +
	D	7	13,2	1,92	1,23
- eozynofile	K	-	1,0	1,00	-
	D	2	1,0	0,71	0,00
	D	7	1,4	0,50	0,80

+ istotne przy $p \leq 0.05$

++ istotne przy $p \leq 0.01$

Dyskusja

W dostępnej literaturze brak jest precyzyjnych informacji na temat reakcji układu hemopoetycznego na obciążenie kwasem 3-merkaptopropionowym (3-MP). W celu dokładniejszej analizy tego problemu myszy czteromiesięczne były dodatkowo badane po dwóch iniekcjach. Badanie to pozwoliło wykazać istnienie adaptacyjnego kierunku zmian w obrazie krwi w miarę przedłużania się działania tego kwasu w zakresie: liczby erytrocytów, poziomu hemoglobiny oraz liczby neutrofilii. Natomiast w pozostałych z analizowanych parametrów krwi obwodowej zmian adaptacyjnych nie stwierdzono.

Z badań przeprowadzonych na myszach czteromiesięcznych wynika, że kwas 3-MP hamuje hemopoezę. Zaznaczył się też wyraźny proces adaptacyjny w zakresie liczby erytrocytów i poziomu hemoglobiny po obciążeniu tym kwasem. Świadczy o tym istotne obniżenie tych parametrów po dwóch iniekcjach kwasem 3-MP w dawce 4 mg/kg w.c. i adaptacyjny powrót do ilości kontrolnych po siedmiu iniekcjach.

W pozostałych grupach wiekowych odnotowano po siedmiu iniekcjach spadek liczby erytrocytów i poziomu hemoglobiny, przy czym był on tym większy, im starsze były zwierzęta. To, że spadek tych parametrów w 14 dniu eksperymentu był istotny statystycznie u myszy starszych (ośmio- i sześciomiesięcznych), podczas gdy u myszy młodszych (cztero- i dwumiesięcznych) był nieistotny, świadczy o tym, że możliwości adaptacji układu hemopoetycznego do obciążenia badanym

kwasem maleją wraz z wiekiem. Spadek zdolności adaptacyjnych tego układu był również obserwowany po podaniu 5-fluorouracylu (Duśko 1991).

Hamujący wpływ na hemopoezę kwasu 3-merkaptopropionowego można tłumaczyć tym, że podobnie jak wszystkie związki zawierające grupę tiolową lub tioketonową ma zdolność do hamowania funkcji szpiku kostnego (Szukalski 1984). Nie jest to jednak jedyna droga, którą można wyjaśnić działanie tego kwasu. Kwas 3-MP jest silnym antagonistą GABA, który pełni funkcję nie tylko neuroprzekaźnika hamującego, lecz również neuromodulatora posiadającego wpływ metaboliczny na szereg neuromediatorów, hormonów i endogennych substancji czynnych (Billewicz-Stankiewicz 1984). W przebiegu embriogenezy wykazano, że neurony GABA-ergiczne pojawiają się wcześniej niż cholinergiczne i można przypuszczać, że GABA jest modulatorem transmisji cholinergiczej (Safranow, Sytinskij 1980). Znajduje to również potwierdzenie w badaniach wykazujących, że GABA zwiększa syntezę acetylocholíny (ACh), natomiast jego antagonistą bikukulina zmniejsza poziom i syntezę ACh oraz aktywność esterazy cholinowej (Kleinrok i wsp. 1980 oraz Kleinrok 1980). Dlatego należy uznać, że GABA wzmacnia syntezę amin katecholowych nie tylko przez zwiększenie aktywności hydroksylazy tyrozyny (Billewicz-Stankiewicz 1984), lecz również przez aktywujący wpływ na układ cholinergiczny, który pobudza nadnercza do wydzielania amin katecholowych. Aminy te poprzez działanie receptorowe wzmagają proliferację erytrocytów (Kawiak i wsp. 1989). Spowodowane więc przez kwas 3-MP obniżenie poziomu GABA może wywołać na tej drodze zmniejszenie się poziomu amin katecholowych, a tym samym spadek liczby erytrocytów i syntetyzowanej w nich hemoglobiny.

Obserwowany u czteromiesięcznych myszy istotny spadek neutrofilii pałeczkowatych i statystycznie istotny wzrost neutrofilii wielopłatowych po dwóch iniekcjach kwasu 3-MP, daje się również wyjaśnić wpływem tego kwasu na obniżenie poziomu amin katecholowych. Spadek adrenalny, która stanowi 80% wszystkich amin katecholowych wydzielanych przez rdzeń nadnerczy, powoduje spadek ACTH, którego wytwarzanie jest stymulowane przez adrenalinę (Heilmeyer 1973). Spadek ACTH powoduje obniżenie się ilości młodych neutrofilii (pałeczkowatych).

Leukogramy czteromiesięcznych myszy po siedmiu iniekcjach kwasem 3-MP powoli wracają do poziomu kontrolnego. Tylko limfocyty wykazują nieistotny statystycznie, ale zauważalny kierunek wzrostowy wywołany prawdopodobnie przez zatrucie organizmu badanym kwasem.

Literatura

- Billewicz-Stankiewicz J., 1984, *Kwas GABA – neuroprzebieżnik hamujący w ośrodkowym układzie nerwowym*. Acta Physiol. Pol., „Postępy fizjologii” vol. 35
- Duško D., 1991, *Biologiczne mechanizmy procesów adaptacyjnych. Materiały z IX Sympozjum*. Wyd. Nauk. WSP, Kraków s. 42
- Heilmeyer L., 1973, *Patofizjologia szczegółowa* PZWL, Warszawa
- Karlsson A., Fonnum F., Malthe-Sovensen D., Storm-Mathisen J., 1974, *Effect of the convulsive agent 3-mercaptopropionoc acid on the levels of GABA, other amino acids and glutamate decarboxylase in different regions of the rat brain*. Biochem. Pharmacol. vol. 23, s. 3053–3061
- Kawiak J., Osuchowska Z., Przełęcka A., 1989, *Ultrastruktura i funkcjonowanie komórki*. Tom 3. PWN, Warszawa
- Krawczyński J., Osiński T., 1967, *Laboratoryjne metody diagnostyczne*. PZWL, Warszawa
- Kleinrok A., 1980, *Gamma-aminobutyric acid and bicuculine effects on acetylcholine metabolism in the striatum in rats*. Acta Physiol. Pol. s. 232–240
- Kleinork A., Tomaszewski A., Zaczekiewicz A., Kędzióra E., Górny D., Billewicz-Stankiewicz J., 1980, *Acetylcholine metabolism in rat cerebral cortex after joint and separate administration of Gamma-aminobutyric acid and bicuculine*. Acta Physiol. Pol. s. 225–231
- Safranow M., Sytinskij J., 1980, *Gamma-aminomaslanaja kislota w rozwijajuszczem-sja mozgie*. Wyd. Elm. Baku.
- Szukalski T., 1984, *Fizjologiczne i toksykologiczne aspekty aktywacji metabolicznej leków*. Acta Physiol. Pol. vol. 35
- Wiśniewska-Roszkowska K., Zgirski A., 1973, *Starość, metabolizm, rewitalizacja*. PZWL, Warszawa

**The Hemopoetical System Adaptation Possibilitis to
the Load of 3-Merkaptopropionic Acid in the
Proces of Ageing**

S u m m a r y

The hemopoetical system reaction to the load of 3-mercaptopropionic acid in the process of ageing, was being examined.

The 3-mercaptopropionic acid given to the dose of 4 mg/kg results in restrictive influence upon proliferation of erythrocytes. After fourteen days of the experiment, the decrease in number of erythrocytes and in level of haemoglobin was significant among eight months and six months old animals. Whereas, among four months and two months old animals there were little changes of these parameters. It is mean, that the hemopoetical system adaptation possibilitis are greater in young animals.

The possible mechanism of the acid's effects is being discussed as well as the dependance of it's effects upon the age.