

Krzysztof Wróbel

Zmienność wybranych wskaźników fizjologicznych osocza krwi na modelu mysim zjawiska analgezji, generowana alkoholem etylowym

Streszczenie

Zagadnienia związane z bólem, jego przyczynami i mechanizmami powstawania oraz jego terapią, stanowią ważny problem często spotykany w medycynie. Ból jest zjawiskiem związanym z awersyjnym doznaniem czuciowym, wynikającym z uszkodzenia struktury tkanek lub całego organu, różnymi czynnikami urazowymi, ujawniającymi się u zwierząt i człowieka w postaci stresowej reakcji alarmowej, ratującej zdrowie, a często nawet życie. W miejscu zadziałania uszkodzenia generują się złożone procesy metaboliczne. Odczuwanie bólu jest różne u różnych osobników i charakteryzuje się zmiennością w szybkości reakcji neurologicznych i metabolicznych, które składają się na przebieg reakcji bólowej. Pozwala to na wyróżnienie w ramach danej populacji osobników o wysokiej analgezji bólowej, czyli wolniej reagujących na bodźce bólowe i osobników o niskiej analgezji, a więc szybciej odbierających podniety bólowe. Wiadomo, że alkohol, który jest najbardziej popularnym ksenobiotykiem, zwiększa w zasadzie odporność na ból i może go, w dość dużym zakresie modulować.

Na tym tle, uwzględniając omawiane współzależności, postanowiono podjąć obserwacje, celem których było określenie, czy reakcje myszy zróżnicowanych analgetycznie i przyjmujących etanol, wywołujące zmiany ilościowe badanych metabolitów i enzymów w osoczu krwi, będą odpowiedzią adaptacyjną na oddziaływanie obu tych czynników doświadczalnych (selekcja i etanol) różnicujących zwierzęce reakcje obronne.

Eksperyment przeprowadzono na 48 samcach myszy linii Swiss-Webster, w wieku 8 tygodni, pochodzących z Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu k/Warszawy. Myszy do eksperymentu uzyskano drogą dwukierunkowej selekcji w kierunku wysokiej i niskiej analgezji, prowadzonej przez ponad 20 generacji, polegającej na kojarzeniu par rodzicielskich w postaci samca o wysokiej analgezji, z samicą o wysokiej analgezji oraz samca o niskiej analgezji, z samicą o niskiej analgezji. Kojarząc w ten sposób testowane osobniki, otrzymano dwie linie myszy - o wysokiej analgezji (HA) i niskiej analgezji (LA), które przeznaczono do eksperymentu. Etanol, jako drugi czynnik doświadczalny podawano myszom w postaci 8% wodnego roztworu przez okres 21 dni, w ilości 500 µl/mysz, dwa razy dziennie.

W osoczu krwi badanych myszy oznaczono stężenie wybranych metabolitów (albuminy, białko całkowite, bilirubina, cholesterol, cholesterol frakcji HDL i frakcji LDL, glukoza, kreatynina, triacyloglicerole), aktywność wybranych enzymów (aminotransferaza asparaginianowa, aminotransferaza alaninowa, cholinoesteraza, fosfataza alkaliczna, gamma glutamylotransferazy, kinazy keratynowej, dehydrogenazy mleczanowej i lipazy oraz stężenie elektrolitów (chlorki, fosforany, magnez, mleczany, potas, sód, wapń i żelazo). Uzyskane wyniki wskazują, że selekcja i podawany etanol, w zróżnicowanym stopniu modulowały wartości stężenia wskaźników metabolicznych i aktywność badanych enzymów.

W oparciu o uzyskane wyniki sformułowano następujące wnioski –

1. Myszy doświadczalne, zróżnicowane drogą selekcji na osobniki o wysokiej (HA, *High Analgesia*) i niskiej analgezji (LA, *Low Analgesia*) ujawniły wybiórcze reakcje, modulowane przyjmowaniem etanolu, zarówno w kierunku zwiększenia, jak i zmniejszenia stężenia wskaźników biochemicznych oraz aktywności badanych enzymów w osoczu ich krwi.
2. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic między grupami myszy o wysokim i niskim poziomie analgezji, w odniesieniu do wskaźników w grupie metabolitów (albuminy, białko całkowite, glukoza, triacyloglicerole); w grupie enzymów (fosfataza alkaliczna i lipaza) oraz wskaźników biochemicznych w grupie elektrolitów (chlorki, fosforany, magnez, mleczany, potas, sód, wapń, żelazo).
3. U myszy o wysokim poziomie analgezji, wykazano wyższe wartości stężenia kreatyniny oraz aktywności: aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alaninowej, kinazy

kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej, obniżone natomiast wartości stężenia bilirubiny i aktywności gamma glutamylotransferazy i cholinoesterazy, wobec osobników grupy niskoanalgetycznej.

4. Etanol podawany w okresie 21 dni, spowodował wzrost stężenia kreatyniny, triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL i LDL oraz aktywności gamma aminotransferazy, natomiast u myszy o niskiej analgezji obniżenie aktywności gamma glutamylotransferazy i kinazy kreatynowej.

5. Nie ujawniono zmienności wartości badanych elektrolitów w postaci anionów (chlorki, fosforany, mleczany) oraz kationów (magnez, potas, sód, wapń, żelazo), ani pod wpływem zróżnicowania genetycznego, ani pod wpływem podawanego etanolu.

6. Uzyskane wyniki pozwalają na wysnuć ostrożnej sugestii, że różnice we wrażliwości bólowej badanych myszy, oceniane w kontekście ich cech fizjologicznych, a więc poprzez zmiany stężenia metabolitów i aktywności enzymów osocza krwi, wywołana wielogeneracyjną selekcją, obejmuje, nie tylko doraźnie odpowiedź z ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, ale ma genetyczne podłoże energetyczne, gdyż uruchamia specyficzne, metaboliczne, reakcje przystosowawcze w określonych tkankach.

7. Reakcja na ból i jego silne odczuwanie, są głęboką reakcją stresową, a więc jednocześnie silnym i gwałtownym pobudzeniem informatycznym i energetycznym, w tym kontekście reaktywność badanych myszy i siła ich reakcji adaptacyjnych, pozostają pod kontrolą genetyczną, celem wytworzenia większej ilości energii metabolicznej, niezbędnej do reakcji w postaci odpowiedzi fizjologicznej, może być jednak podatna na modyfikacje przy udziale czynników środowiskowych, np. oddziaływaniem etanolu.

SUMMARY

Issues related to pain, its causes, mechanisms of formation as well as its therapy are important and frequently met in medicine. Pain is an aversive sensory experience resulting from damage to the structure of the tissue or the entire body, done by various traumatic factors. It occurs in both humans and animals as a kind of alarming stress response, which saves health and often even life. The point of damage undergoes complex metabolic processes.

Feeling pain is dissimilar in individuals, and characterized by variation in reaction rate of neurological and metabolic processes which make up the course of pain response. This allows for distinguishing individuals with high pain analgesia - slower response to painful stimuli, and individuals with low analgesia, and thus faster receiving pain stimuli.

It is common knowledge that alcohol, as the most popular xenobiotic, raises resistance to pain, and can modulate it to a large extent.

Taking the given correlations into account, we decided to carry out observations to determine whether the reactions of the mice with various pain analgesia, and ethanol intake causing quantitative changes in the examined metabolites and enzymes in blood plasma, will be adaptive response to both of these experimental factors (selection and ethanol) differentiating the animal defensive reactions.

The experiment was conducted on 48 male mice of Swiss-Webster line. They were all at the age of eight weeks and taken from Institute of Genetics and Animal Breeding in Jastrzębiec near Warsaw.

The mice were obtained for the experiment by a two-way selection - for high and low analgesia, made in more than 20 generations. A male with high analgesia mated with a female with high analgesia, whereas a male with low analgesia mated with a female with low analgesia. In this manner, we obtained two lines of mice – with high analgesia (HA) and low analgesia (LA). Ethanol, the second experimental factor, was administered to the mice in form of 8% aqueous solution for a period of 21 days, in the amount of 500 ul / mouse, twice a day.

The concentration of selected metabolites - albumin, total protein, bilirubin, cholesterol, HDL- cholesterol, LDL- cholesterol, glucose, creatinine, triacylglycerols, was determined in the plasma of the examined mice. We also determined selected enzymes activity - aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, cholinesterase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase, creatine phosphokinase, lactate dehydrogenase, lipase, as well as electrolyte concentration – chlorides, phosphates, magnesium, lactates, potassium, sodium, calcium and iron.

The results of the study indicate that both selection and ethanol modulated to a varying extent the concentration values of the metabolic indicators and the activity of the examined enzymes.

On the basis of the results the following conclusions have been drawn.

1. The experimental mice with high and low analgesia have shown selective reactions, modulated by ethanol intake, in the direction of both an increase and decrease in the concentration of the biochemical indicators as well as the activity of the examined plasma enzymes.
2. The differences between groups of mice with high and low analgesia are statistically insignificant in relation to the indicators in the group of metabolites (albumin, total protein, glucose, triglycerides), in the group of enzymes (alkaline phosphatase and lipase), and the biochemical indicators in the group of electrolytes (chlorides, phosphates, magnesium, lactates, potassium, sodium, calcium, iron).
3. Creatinine concentration and the activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, creatine kinase and lactate dehydrogenase have been higher in mice with high analgesia in comparison with mice with low analgesia. However, the concentration values of bilirubin and the activity of gamma-glutamyltransferase and cholinesterase have been lower in the high analgesia group. .
4. Ethanol administered during the period of 21 days has caused an increase in the concentration of creatinine, triacylglycerols, total cholesterol, HDL cholesterol and LDL as well as in the activity of gamma- aminotransferase. In mice with low analgesia, the activity of gamma-glutamyltransferase and creatine kinase has decreased.
5. The values of electrolytes as anions (chlorides, phosphates, lactates) and cations (magnesium, potassium, sodium, calcium, iron) have become constant, both under the influence of genetic diversity and administered ethanol.
6. The differences in pain sensitivity in the examined mice have been estimated by alterations in the concentrations of metabolites and the activity of enzymes in blood plasma. Thus, the results of the study allow us to make an assumption that pain sensitivity is determined not only by the immediate response of central and peripheral nervous systems. It is also genetically determined as it causes specific metabolic reactions and makes them adapt in certain tissues.
7. In addition to being a deep stress reaction, feeling and response to pain result in a strong and rapid stimulation of information and energy flow. With this in mind, the reactivity of the examined mice, along with the force of their adaptive response, is controlled genetically. The control is needed to generate more metabolic energy for a physiological response reaction. The reactivity, however, may be modified through environmental factors such as ethanol.

