

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ
І РАДІОБІОЛОГІЇ ім. Р.Є.КАВЕЦЬКОГО

На правах рукопису

БОЖОК

Ольга Василівна

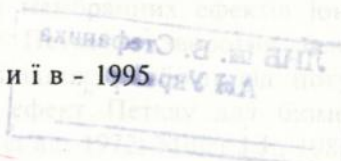
ВПЛИВ РІДКОІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ З РІЗНОЮ
ПОТУЖНІСТЮ ДОЗИ ТА ПОСТІЙНОГО ОПРОМІНЕННЯ
У 30-км ЗОНІ ЧАЕС НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ
ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ТА ЙОГО
МОДИФІКАЦІЯ

03.00.08. - радіобіологія

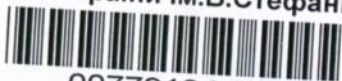
АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1995



ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00779134 (V)

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в лабораторії експериментальної ендокринології Інституту Експериментальної радіології НЦРМ АМН України.

Науковий керівник - доктор біологічних наук
Ю.В. Бездубний

Офіційні опоненти: доктор медичних наук
В.А. Барабой
кандидат біологічних наук
І.М. Данко

Провідна установа - Київський Національний Університет
ім. Тараса Шевченка

Захист відбудеться "28" червня 1995 р. о 14 годині
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 01.83.01 в
Інституті експериментальної патології, онкології і
радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (252022,
Київ-22, вул. Васильківська, 45).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці ІЕПОР НАН
України.

Автореферат розісланий "28" червня 1995р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
канд. біол. наук.

Г.Й. Лавренчук

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Екологічна ситуація сучасного суспільства потребує розв'язання багатьох проблем пов'язаних з негативними наслідками науково-технічної діяльності людини. Проблеми впливу малих доз іонізуючого опромінення на біоб'єкти, опромінення з низькою потужністю дози набули особливого значення в зв'язку з наслідками Чорнобильської катастрофи.

Більш як два десятиліття тому [Пасинський А.Г., 1964; Эмануель Н.М., 1963; Alper T., 1971; Singh B.V., 1974] вказували на важливість мембран клітини в реалізації ефектів іонізуючого опромінення. Дослідження останніх років підтвердили ці передбачення. При іонізуючому опроміненні великими дозами були виявлені численні порушення плазматичної мембрани (ПМ): зміни потенціалу, заряду, електрофоретичної рухливості білків та їх найважливіших функцій (бар'єрної, транспортної, рецепторної та інших) [Рыскулова С.Т., 1986; Поливода Б.И. и др., 1990; Гацко Г.Г. и др., 1989; Барабой В.А. и др., 1991; Цудзевич Б.А. и др., 1993; Войцицький В.М. та ін., 1993]. На сьогодні визнано, що поряд з класичною мішенню дії радіації - ядром клітини - стоять біологічні мембрани [Бурлакова Е.Б, Шишкина Л.Н., 1982; Рыскулова С.Т., 1986; Кудряшов Ю.Б., 1987; Сунгуров Ю.А., 1988; Кузин А.М., 1989; Барабой В.А. и др., 1991; Серкиз Я.И. и др., 1992 Konings A.W.T., Drijver E.B., 1979; Kubasova T., Koteles G., 1982 та ін.].

Слід також мати на увазі, що при дії малих доз і особливо низьких потужностей доз, коли ушкодження генетичного апарату клітини легко репарується, порушення мембранних структур можуть мати першочергове значення.

Особливу увагу серед мембранних ефектів іонізуючого опромінення привертає ефект Петкау - зворотня залежність пошкодження штучних фосфоліпідних мембран від потужності дози. Є дані, які підтверджують ефект Петкау для біомембран [Сунгуров Ю.А., 1988; Scott K.G. et al., 1972; Miller J.J., 1982].

Це визначає актуальність вивчення дії малих доз з низь-

кою потужністю дози на ПМ, які мають першочергове значення в регуляції клітинного метаболізму. Слід сказати, що ці питання досліджені на сьогодні дуже мало.

Поряд з вивченням променевого ураження ПМ важливе значення має пошук модифікаторів ПМ з метою зменшення радіаційного ураження, а також вивчення дії агентів техногенного походження, які можуть поглиблювати негативний вплив опромінення на ПМ.

Метою роботи. є вивчення особливостей реакції ферментів ПМ (5'-нуклеотидази і протеїнкаіаз) на іонізуюче опромінення з різною потужністю дози та впливу на ці реакції деяких модифікуючих чинників.

Завдання: 1. Порівняти активність 5'-нуклеотидази та протеїнкаіаз ПМ шурів, опромінених рентгенівськими променями в дозі 4 Гр з різною потужністю дози (0.9 Гр/хв і 0.05 Гр/хв). 2. Порівняти реакцію 5'-нуклеотидази та протеїнкаіаз ПМ печінки шурів на хронічне (потужність дози $3.3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв) і гостре (потужність дози 0.5 Гр/хв) опромінення шурів гамма-променями ^{60}Co у дозах 0,14 та 0,42 Гр/хв 3. Вивчити активність 5'-нуклеотидази та протеїнкаіаз гомогенату і ПМ печінки та еритроцитів у шурів 2-7 поколінь, які народились і постійно утримувались на експериментальній базі ІЕПОР НАН України в місті Чорнобилі. 4. Вивчити активність окремих фракцій протеїнкаіаз ПМ мембрани печінки у шурів, що постійно утримувалися в м. Чорнобилі. 5. Дослідити модифікуючу дію деяких факторів (природного антиоксиданту α -токоферолу, фармакопейної соняшникової олії та НВЧ-опромінення), які можуть підсилювати або нівелювати реакцію ферментів ПМ на опромінення в малих дозах з низькою потужністю дози.

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що була вивчена реакція 5'-нуклеотидази та протеїнкаіаз ПМ на рідкоіонізуюче опромінення в широкому діапазоні потужностей дози від $2,19 \cdot 10^{-8}$ Гр/хв до 0,9 Гр/хв. При дослідженні було встановлено зниження активності протеїнкаіаз із зниженням потужності дози до певної межі і мінлива стимуляція її потужністю дози $3,3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв. Зміни в активності 5'-нуклеотидази не співпадали зі змінами в активності протеїнкаіаз. Вперше зафіксовано зниження активності протеїнкаіаз ПМ та

еритроцитів щурів, що утримувались на протязі декількох поколінь на експериментальній базі у Чорнобилі. Показано, що зміни в активності ферментів у щурів, які утримувались в Чорнобилі залежали від покоління та від віку тварин.

Дослідження рівня фосфорилування окремих фракцій білків ПМ печінки молодих щурів, що утримувались у Чорнобилі, показало зниження стимульованого інсуліном та епідермальним фактором росту (ЕФР) фосфорилування фракцій близьких за молекулярною масою до відповідних рецепторів на фоні збільшення їхньої ліганд-зв'язуючої активності.

Виявлено, що іонізуюче опромінення γ -променями ^{60}Co (доза 0.42 сГр; потужність дози 0.5 Гр/хв) і опромінення НВЧ (щільність потоку потужності 0.25 мВт/см², частота 2450 МГц), які не викликали зрушень у активності 5'-нуклеотидази і протеїнкіназ при самостійній дії при сумісному впливі приводили до зниження активності обох ферментів.

Теоретичне значення роботи полягає в тому, що в ній виявлені особливості дії рідкоіонізуючого опромінення з малою потужністю дози на активність локалізованих у ПМ ферментів, що сприятиме розкриттю механізмів специфічної реакції ПМ на іонізуюче опромінення з низькою потужністю дози. Показано також, що дози і потужності іонізуючого і неіонізуючого (НВЧ) опромінення, які самі по собі не викликають змін активності ферментів, при сумісній дії - викликають.

Практичне значення роботи визначається доведеними радіопротекторною дією щодо опромінення з високою та низькою потужністю дози ненасичених жирних кислот (соняшникова олія) і токоферолу та можливістю використання змін активності певних мембранних ферментів (протеїнкінази) як біоіндикаторів дії іонізуючого опромінення з низькою потужністю дози. Практичне значення має також виявлення більшої ефективності сумісної дії НВЧ та γ -опромінення на ПМ порівняно з окремою їх дією.

Положення, що виносяться на захист. - Зниження потужності дози рідкоіонізуючого опромінення викликає різноспрямовані зміни активності досліджених мембранозв'язаних ферментів.- Протеїнкіназна активність ПМ не змінюється при опроміненні з високою потужністю дози і загалом знижується зі зменшенням

потужності дози в певних межах її та величини дози, що свідчить про можливість використання цього показника як біоіндикатора опромінення з низькою потужністю дози. - Соняшникова фармакопейна олія і розчин α -токоферолу у ній захищають досліджені ферменти від дії іонізуючого опромінення як з високою так і з низькою потужності дози, але комплекс (олія + токоферол) має більш тривалий ефект. - Електромагнітні поля НВЧ-діапазону та γ -опромінення ^{60}Co викликають пригнічення активності обох ферментів при сумісній дії, не викликаючи зрушень при окремій дії кожного з чинників.

Апробація роботи. Основні матеріали дисертації доповідались на Всесоюзній конференції з питань експериментальної радіаційної ендокринології (Київ, 1988), на I Всесоюзному радіобіологічному з'їзді (Москва, 1989), на Всесоюзній конференції "Актуальні проблеми радіобіології та радіаційної генетики" (Обнінськ, 1990), на VI Українському біохімічному з'їзді (Київ, 1992), на X науковій конференції "Відновні та компенсаторні процеси при променевих ураженнях" (Санкт-Петербург, 1992), на Радіобіологічному з'їзді (Київ, 1993).

Об'єм роботи. Дисертація викладена на 134 сторінках машинописного тексту, складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, викладення результатів (4 розділи), їх обговорення, висновків та списку літератури (124 вітчизняних та 121 іноземних джерела). Робота містить 22 таблиці і 6 малюнків.

Впровадження. Дисертація виконана в рамках планових наукових тем: "Вивчити вплив інсуліну та катехоламінів на біомембрани і особливості гормонемій при довготривалому іонізуючому опроміненні з малою потужністю дози", "Вивчити ефекти низьких потужностей доз іонізуючого та неіонізуючого опромінювання (окремо і сумісно) на фізико-хімічні властивості ПМ та їхню гормональну реактивність".

За темою дисертації видано 2 інформаційні листи "Про нововведення в систему охорони здоров'я": "Використання змін в активності протеїнкіназ плазматичних мембран еритроцитів як одного з методів біоіндикації опромінення з низькою потужністю дози" та "Використання альфа-токоферолу як мембра-

нотропного радіопротектору при опроміненні з низькою потужністю дози", прийняті на засіданні Вченої ради Інституту експериментальної радіології НЦРМ АМН України (протокол No 2 від 10.03.94.)

По темі дисертації опубліковано 11 робіт.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведені на самцях білих нелінійних щурів вагою 160 - 180 г. В залежності від мети дослідів використовували тварин різного віку та різних умов утримання. В наших експериментах використані також 3, 6, 12 і 24 місячні щурі 2 - 7 поколінь, що утримувалися та розмножувалися в умовах 30-кілометрової зони ЧАЕС (експериментальна база ІЕПОІР ім. Р.Є.Кавецького)

Рентгенівське опромінення проводили на установці РУМ-17 в дозі 4 Гр з різною потужністю дози: 0,9 Гр/хв (ВДП 28 см, фільтри 0,5 мм Cu + 1 мм Al, напруга 180 кВ, сила струму 10 мА) та 0,05 Гр/хв (ВДП 90 см, фільтр 0,5 мм Cu+1 мм Al, напруга 180 кВ, сила струму 4 мА). Тварин забивали на 1, 3 і 7 добу після опромінення.

Гостре опромінення γ -променями ^{60}Co проводили на установці "Рокус" в дозах 0,42 та 0,14 Гр з потужністю дози 0,5 Гр/хв. Тварин забивали через 1; 7 діб та 1; 2 міс після опромінення. Хронічне опромінення проводили на установці "Еталон" з потужністю дози $3,3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв у Інституті ядерних досліджень НАН України. Дози 0,14 та 0,42 Гр накопичувалися відповідно за 1 і 3 місяці.

У 30-км зоні ЧАЕС, потужність дози зовнішнього γ -опромінення становила $2,19 \cdot 10^{-8}$ Гр/хв. Радіаційне навантаження на тварин від зовнішньої компоненти становило 2,1 сГр за життя (в середньому 24-26 міс), а від включених радіонуклідів з гамма-спектром - не більше 0,3 сГр. Гамма-радіоактивність добового раціону тварин - 224 Бк.

Щурів також піддавали впливу електромагнітного поля надвисокої частоти (НВЧ) в режимі безперервної генерації (частота 2450 МГц, щільність потоку потужності $0,25 \text{ мВт/см}^2$), на протязі 3 годин за допомогою магнітного генератора в "безлунних камерах"

Питома швидкість поглинання в розрахунку на щура дорівнювала 0.27 мВт/г на 1 мВт/см² падаючої потужності. При сумісній дії НВЧ та γ -опромінення ⁶⁰Со щурів спочатку піддавали дії НВЧ-променів, а через 2 год - іонізуючого випромінювання.

При вивченні впливу α -токоферолу і рафінованої фармакопейної соняшникової олії на реакцію ферментів ПМ на рентгенівське опромінення препарати вводили за 18 годин до опромінення: розчин α -токоферолу (300 мг/мл) в соняшниковій олії у дозі 30 мг/100г маси тіла, а соняшкову олію - в дозі 0,1 мл/100 г маси тіла.

ПМ печінки виділяли за методом [Cuatrekasas P., 1972], використовуючи диференційне центрифугування. Еритроцити виділяли за [Gambhir K.K. et al, 1978]. З отриманих еритроцитів виділяли ПМ (тіні) за [Dodge J. et. al., 1963] гемолізом в 20 мОсм фосфатному буфері, рН 7,4.

Активність 5'-Н визначали за [Emmelot P., Vos C.J., 1966], Неорганічний фосфор за [Taursky a. Shorr, 1953], білок за методом [Lowry A. et al, 1951] в модифікації [Шаткин А., 1972].

Активність протеїнкіназ визначали за [Tran P.L. i Desbiquois V., 1980] з деякими модифікаціями.

Електрофорез білків ПМ печінки, після їх солюбілізації, проводили в поліакриламідному гелі за [Laemmli U.K., 1970].

Радіоавтографи електрофореграм отримували на рентгенівській плівці з підсилюючими екранами. Експозиція тривала 24 години.

При вивченні впливу інсуліну та ЕФР на фосфорилування білків ПМ виділені ПМ безпосередньо перед проведенням протеїнкіназної реакції інкубували 1 год при 4°C з 500 пмоля інсуліну або ЕФР.

Показники активності інсулінових рецепторів визначали, як описано [Бездробный Ю.В. и др., 1981]. Активність рецепторів ЕФР оцінювали за часткою зв'язування ¹²⁵I-ЕФР, даного у високій та низькій концентраціях.

Отримані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Рентгенівське опромінення. Як видно з результатів, представлених табл. 1, характер змін активності 5'-нуклеотидази і протеїнкіназ ПМ печінки після рентгенівського опромінення щурів у дозі 4 Гр з потужностями дози, що різнились у 20 разів, залежав від потужності дози. Причому досліджувані ферменти реагували на зміну потужності дози по-різному. Активність 5'-нуклеотидази змінювалась (підвищувалася на 1 добу після опромінення) тільки при опроміненні з високою потужністю дози, в той час як активність протеїнкіназ при рентгенівському опроміненні змінювалась (знижувалася на 3-ю та 7-у добу після опромінення) лише при низькій потужності дози.

Гостре та хронічне опромінення гамма-променями ^{60}Co . Отримані результати показують відсутність вірогідних змін у активності 5'-нуклеотидази ПМ і гомогенату печінки при гострому γ -опромінюванні ^{60}Co (0,5 Гр/хв) у малих дозах (0,14 і 0,42 Гр) на всі терміни дослідження.

Тривале опромінення з потужністю дози 3,3 мкГр/хв до досягнення величин накопичених доз 0,14 та 0,42 Гр не впливало на активність 5'-нуклеотидази ні у гомогенаті і у ПМ печінки. Таким чином, γ -опромінення у малих дозах з великою (0,5 Гр/хв) і малою (3,3 мкГр/хв) потужностями доз не впливало на активність 5'-нуклеотидази у ПМ печінки.

Щодо активності протеїнкіназ ПМ печінки, то вона зазнає певних змін після гострого опромінення γ -променями ^{60}Co . Активність знижувалася на 33% на сьому добу після опромінення у дозі 0,42 Гр і у віддалені строки (на 18% через 1 міс) після дози 0,14 Гр.

Хронічне опромінення тварин (3,3 мкГр/хв) γ -променями ^{60}Co стимулює активність протеїнкіназ ПМ печінки на 21% після накопиченої на протязі одного місяця дози 0,14 Гр. Подальша експозиція тварин у цих умовах до трьох місяців (накопичена доза 0,42 Гр) знімала це підвищення (табл. 2).

Як і у випадку з рентгенівським опроміненням спостерігалися різноспрямовані зміни активності досліджуваних мембранозв'язаних ферментів, що може бути пов'язано із спе-

Таблиця 1

Активність протеїнкіназ та 5'-нуклеотидази плазматичних мембран печінки щурів після рентгенівського опромінення у дозі 4 Гр з різною потужністю дози ($x \pm s_x$, у дужках - значення n)

Варіант досліджу	Активність протеїнкіназ (пмоль Φ_H /мг білку \times хв)	Активність 5'-нуклеотидази (мкмоль Φ_H /мг білку \times год)
Контроль	3,64 \pm 0,49 (10)	3,84 \pm 0,37 (15)
Опромінення 4 Гр 0,9 Гр/хв		
1 доба	4,20 \pm 0,23 (6)	7,30 \pm 1,04* (5)
3 доба	3,53 \pm 0,70 (5)	3,75 \pm 1,32 (6)
7 доба	3,50 \pm 0,79 (5)	3,55 \pm 1,14 (6)
0,046 Гр/хв		
1 доба	3,36 \pm 0,65 (6)	4,43 \pm 1,42 (9)
3 доба	1,79 \pm 0,82* (7)	3,79 \pm 0,64 (6)
7 доба	2,56 \pm 0,78* (5)	5,40 \pm 0,81 (5)

* - вірогідна відміна від контролю ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Активність протеїнкіназ (пмоль Φ_H /мг білку хв) плазматичних мембран печінки щурів після хронічного опромінення γ -променями ^{60}Co з потужністю дози $3,3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв (n=5-6)

	0,14 Гр	0,42 Гр
контроль	1,49 \pm 0,07	1,32 \pm 0,07
дослід	1,81 \pm 0,08*	1,25 \pm 0,07

* - вірогідна відміна від контролю ($p < 0,05$)

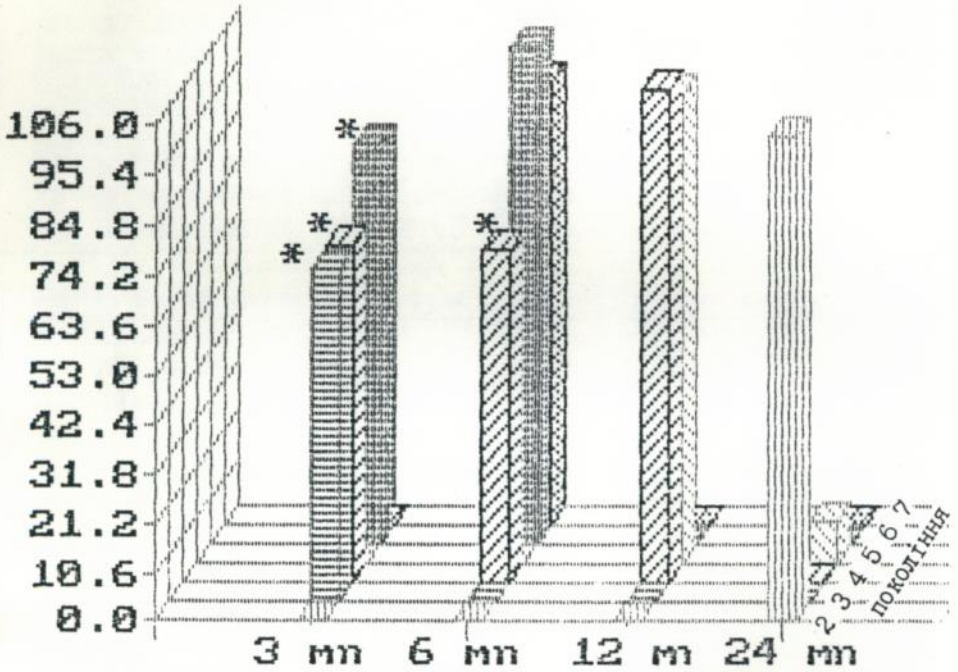
цифічними вимогами кожного з ферментів до ліпідного оточення та їхніми функціональними особливостями.

Опромінення в умовах утримання на експериментальній базі в Чорнобилі. У тварин, що утримувалися в Чорнобилі, активність 5'-нуклеотидази гомогенату та ПМ змінюється різноспрямовано в залежності від покоління і віку щурів. Встановлена також відсутність однозначної кореляції між змінами активності ферменту у мембрані та гомогенаті, що говорить на користь відмінності 5'-нуклеотидази у ПМ та всередині клітини, про що сповіщалося у ряді публікацій [Кононенко В.Я. и др., 1990; Collinson A.R. et al., 1987 та ін.]

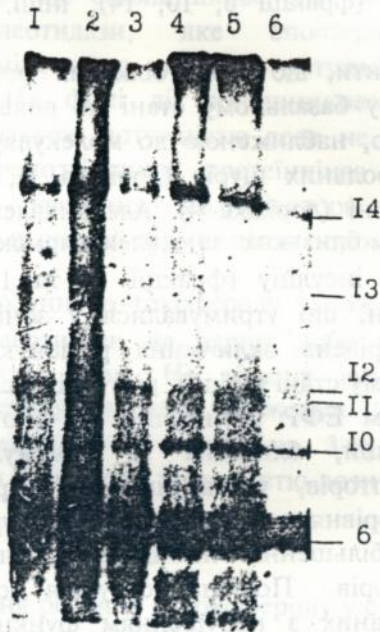
Зміни у активності протеїнкіназ ПМ, якщо вони спостерігаються, більш одноманітні (мал. 1). Активність протеїнкіназ знижується у молодих щурів всіх досліджуваних поколінь. Тварини у віці 3 місяці третього, четвертого та шостого поколінь мають знижену активність протеїнкіназ. Старі тварини (12-и та 24-х-місячні) не реагують на опромінення в 30-км зоні змінами активності протеїнкіназ (можливо, за рахунок зниження компенсаторних можливостей у старості). Тварини у віці 6 місяців четвертого покоління реагують на хронічне опромінення в умовах зони також зниженням активності протеїнкіназ ПМ печінки, в той час як у подальших поколіннях (шостому та сьомому) 6-и місячні щурі на таке опромінення не реагують.

Дослідження протеїнкіназної активності тіней еритроцитів щурів третього та четвертого поколінь показали, що вона вірогідно нижча ніж у контрольних тварин. Отже протеїнкіназна активність ПМ еритроцитів, як і ПМ гепатоцитів печінки, знижується під впливом тривалого опромінення в реальних умовах зони відчуження. Цей факт має практичне значення, враховуючи, що тіні еритроцитів зручні для вивчення наслідків хронічного впливу опромінення у людей.

Таким чином, зниження активності сумарних протеїнкіназ ПМ, враховуючи його стабільність, може розглядатися, як кандидат у біоіндикатори опромінення з малою потужністю дози в певних її межах.



Мал. 1. Активність протеїназ плазматичної мембрани печінки щурів різного віку, що утримувалися декілька поколінь у зоні Чорнобильської аварії. Вісь X - вік тварин (міс), вісь Y - активність ферменту (у відсотках до відповідного контролю), вісь Z - покоління утримування в зоні, * - вірогідна відміна від контролю.



Мал. 2. Радиоавтографи електрофореграм фосфорильованих білків плазматичних мембран печінки шурів, що утримувались у зоні відчуження ЧАЕС (1, 2, 3 - контроль; 4, 5, 6 - утримання у зоні; 1, 4 - преінкубація з фізіологічним розчином; 2, 5 - преінкубація з ЕФР; 3, 6 - преінкубація з інсуліном).

При проведенні електрофорезу у поліакриламідному гелі білків ПМ печінки після протеїнкіназної реакції, як показали радіоавтографи електрофореграм, 14 фракцій зазнавали фосфорильовання (мал. 2). При порівнянні радіоавтографів електрофореграм контрольних тварин (доріжки 1-3) і тварин, що утримувались в 30-км зоні (доріжки 4-6), спостерігалися певні

відміни - деякі фракції на радіоавтографі білків ПМ печінки тварин з 30-км зони порівняно з контролем фосфориливалися більш інтенсивно (фракції 6, 10, 14), інші - менш інтенсивно (фракції 7, 11, 12).

Слід зазначити, що серед білкових фракцій, що зазнавали фосфорилування у базальному стані не виявлено фракцій з молекулярною масою, наближеною до молекулярних мас рецепторів ЕФР, як у контрольних щурів (доріжка 1), так і у щурів, що утримувалися в зоні (доріжка 4). Але виявлено фосфорилування білкових фракцій, близьких за молекулярною масою до β -субодиниці рецептору інсуліну (фракції 11 та 12) і у контрольних тварин і у тварин, що утримувалися у зоні. Причому у контрольних тварин рівень включення радіонукліду фосфору у ці фракції в базальному стані вищий, ніж у піддослідних тварин.

Під впливом ЕФР та інсуліну *in vitro* стимуляція фосфорилування фракцій, близьких за молекулярною масою до відповідних рецепторів, у тварин, що утримувалися в зоні, була зниженою порівняно з контрольними щурами. Разом з тим спостерігалось, збільшення ліганд зв'язуючої активності відповідних рецепторів. Подібна ситуація спостерігається при патологіях, пов'язаних з порушенням функції інсуліну [Samson M. et al., 1982; Nagino H. et al., 1994 та ін.].

Модифікація ефектів іонізуючого опромінення. Дослідження, проведені на інтактних щурах показали, що введення щурам соняшникової олії викликає вірогідне підвищення активності 5'-нуклеотидази ПМ на всі терміни дослідження (1, 2 і 7 доба). Використання розчину α -токоферолу у соняшниковій олії веде до таких самих змін активності 5'-нуклеотидази, як і введення однієї олії.

Введення олії або розчину α -токоферолу викликало зниження активності мембранозв'язаних протеїнкіназ на 3-тю та 7-му добу, але воно було не вірогідним.

Таким чином, судячи зі змін активності мембранозв'язаних ферментів, вибрані нами чинники модифікують стан ПМ гепатоцитів інтактних щурів. Слід підкреслити, що реакція різних ферментів на введення одного і того ж препарату відрізнялась. Враховуючи ці дані, можна було очікувати модифікації вибраними чинниками ефектів іонізуючого опромінен-

ня на рівні ПМ.

Встановлено, що соняшникова олія знімає підвищення активності 5'-нуклеотидази, яке спостерігали після рентгенівського опромінення з високою потужністю дози на першу добу (табл. 1). На фоні дії соняшникової олії рентгенівське опромінення з низькою потужністю дози не викликало зниження активності мембранозв'язаних протеїнказ на 3-ю добу, що мало місце без введення модифікатора (табл. 1), але не знімало ефекту на пізніший термін після опромінення (7 доба).

Введення розчину α -токоферолу також знімало підвищення активності 5'-нуклеотидази на першу добу після опромінення з високою потужністю дози. На відміну від соняшникової олії, розчин α -токоферолу знімав зниження активності мембранозв'язаних протеїнказ не лише на 3-ю, а й на 7-у добу після опромінення з низькою потужністю дози (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив введення розчину α -токоферолу у соняшниковій олії на активність протеїнказ плазматичних мембран печінки шурів, підданих рентгенівському опроміненню з різною потужністю дози (пмоль Фн/мг білку-хв, n = 5-6)

Термін	Контроль	Рентгенівське опромінення	
		(4 Гр; 0,05 Гр/хв)	(4 Гр; 0,9 Гр/хв)
1 доба	2,04±0,18	1,88±0,16 (p>0,05)	2,10±0,24 (p>0,05)
3 доба	1,81±0,09	1,71±0,02 -"	1,66±0,12 -"
7 доба	1,74±0,13	1,77±0,15 -"	1,90±0,14 -"

Отримані дані показали захисний ефект обох досліджених препаратів на ПМ гепатоцитів печінки при іонізуючому опроміненні і з високою і з низькою потужністю дози. Захисні властивості були притаманні обом дослідженим препаратам, хо-

ча при опроміненні з низькою потужністю дози захисний ефект розчину токоферолу у олії був більш вираженим і тривалим, що може бути пов'язаним як з особливостями антиоксидантної дії токоферолу так і з перевагами захисту двокомпонентною системою з різними механізмами дії компонентів.

Таблиця 4

Активність протеїнкази та 5'-нуклеотидази плазматичних мембран печінки шурів, опромінених γ -променями ^{60}Co , НВЧ-променями та їх комбінацією (пмоль $\Phi_n/\text{мг}$ білку·хв; $n = 6-8$)

	^{60}Co	НВЧ	НВЧ + ^{60}Co
	(0,42 Гр; 0,5 Гр/хв)	(3 год; 0,25 мВт/см ²)	
	протеїнкази		
Контроль	1,03±0,07	1,30±0,05	1,54±0,02
Дослід	1,12±0,10	1,32±0,08	1,12±0,05*
	5'-нуклеотидаза		
Контроль	8,40±0,75	12,30±0,83	7,50±0,32
Дослід	8,72±0,43	11,87±0,61	5,40±0,26*

* - вірогідна відміна від контролю ($p < 0,05$)

Дослідження ефектів сумісної дії гострого іонізуючого (γ -промені ^{60}Co) та НВЧ-опромінення показали певні зміни в реакції ферментів. Активність 5'-нуклеотидази ПМ знижувалась на 28% від контрольного рівня, а гомогенату - не змінювалась. Протеїнказна активність ПМ печінки знижувалася на 27%. В той час як окрема дія γ -опромінення не викликала змін в активності 5'-нуклеотидази гомогенату і ПМ печінки та протеїнкази ПМ (табл. 4). Саме НВЧ-опромінення з щільністю потоку енергії 0,25 мВт/см² також не призводить до змін активності досліджуваних мембранозв'язаних ферментів ПМ печінки та 5'-нуклеотидази гомогенату (табл. 4).

Загалом отримані дані щодо протеїнказної активності ПМ

при використаних нами дозах і потужностях доз показали зниження її при потужності дози $2,2 \cdot 10^{-8}$ Гр/хв; відсутність при потужності $3,3$ мкГр/хв і знову зниження при 5 сГр/хв, що підтверджує розроблювану О.Б.Бурлаковою [1994] концепцію дії надмалих доз, згідно з якою ефекти надмалих доз з подальшим зростанням дози зникають - "зона мовчання" (завдяки репараційним процесам) і знов з'являються при подальшому зростанні дози. Разом з тим ці дані говорять про те, що активність мембранозв'язаних протеїназ в певних межах доз та потужностей доз може розглядатися як можливий кандидат у біоіндикатори впливу опромінення з малою потужністю дози.

ВИСНОВКИ

1. Рентгенівське опромінення (4 Гр) з високою потужністю дози ($0,9$ Гр/хв) не змінює активності протеїнази плазматичної мембрани печінки, а з низькою потужністю дози ($0,05$ Гр/хв) викликає її тривале зниження. При хронічному опроміненні γ -променями ^{60}Co з потужністю дози $3,3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв спостерігали стимуляцію протеїназної активності печінки при накопиченій дозі $0,14$ Гр, яка зникла з подальшим накопиченням дози до $0,42$ Гр.

2. Активність 5'-нуклеотидази збільшувалась при рентгенівському опроміненні (4 Гр) з високою потужністю дози ($0,9$ Гр/хв) і не змінювалась при опроміненні з низькою потужністю дози ($0,05$ Гр/хв), а також при хронічному ($3,3 \cdot 10^{-6}$ Гр/хв) та гострому ($0,5$ Гр/хв) опроміненні γ -променями ^{60}Co в обох малих дозах ($0,14$ та $0,42$ Гр).

3. У щурів, які утримувалися на протязі декількох поколінь у 30-км зоні ЧАЕС, активність ферментів плазматичної мембрани печінки також змінювалася різноспрямовано: протеїназна активність знижувалася у молодих (3 міс) і не змінювалася у старих (12 та 24 міс) тварин. Активність 5'-нуклеотидази зростала у 6-місячних щурів і знижувалася у 12- та 24-місячних.

4. Введення за 18 год до рентгенівського опромінення фармакопейної соняшникової олії ($0,1$ мл/100г маси тіла) або α -токоферолу (30 мг/100г маси тіла) запобігало змінам, які вини-

кали після опромінення як з високою так і з низькою потужністю дози. Захисний ефект олії був менш довготривалим.

5. Проведення НВЧ-опромінення з низькою щільністю потоку потужності ($0,25 \text{ мВт/см}^2$) перед гострим опроміненням γ -променями ^{60}Co у малій дозі ($0,42 \text{ Гр}$) викликає зниження активності 5'-нуклеотидази та мембранозв'язаних пртеїнкіназ. При окремії дії як іонізуючого так і неіонізуючого опромінення у таких малих дозах вірогідних змін не спостерігали.

6. Фосфорилування окремих фракцій мембранозв'язаних протеїнкіназ плазматичних мембран, які за молекулярною вагою відповідають рецепторам ЕФР та інсуліну, зменшувалось під впливом відповідних лігандів у щурів, що утримувались в 30-км зоні ЧАЕС на фоні збільшення лігандзв'язуючої активності рецепторів.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бездробный Ю.В., Божок О.В. Изменение активности 5'-нуклеотидазы и протеинкиназы плазматической мембраны печени в зависимости от мощности дозы при рентгеновском облучении крыс // Радиобиология. - 1992. - Т. 32, вып. 3. - С. 401-405.

2. Божок О.В., Бездробный Ю.В., Серкиз Я.И., Дрозд И.П. Изучение влияния хронического внешнего облучения ^{60}Co и внутреннего и внешнего облучения в зоне аварии ЧАЭС на активность ферментов плазматических мембран печени крыс // Тез. докл. 10 науч. конфер. "Восстановительные и компенсаторные процессы при лучевых поражениях". Санкт-Петербург. - 1992. - С.18.

3. Бездробный Ю.В., Божок О.В., Бездробна Л.К., Дрозд И.П. Вплив іонізуючої радіації з низькою потужністю дози на активність 5'-нуклеотидази та протеїнкінази плазматичних мембран печінки // Тези допов. 6 Українського біохімічного з'їзду, Київ 1992. В-во УСТА. - С.146.

4. Бездробный Ю.В., Божок О.В., Дубровский И.Б. Влияние снижения мощности дозы рентгеновского излучения на состояние плазматических мембран печени крыс // Республик. межвед.

сборник "Проблемы радиационной медицины". Вып. 5, Киев, "Здоров'я". - 1993. - С. 170-174.

5. Божок О.В. Влияние малых доз ионизирующего излучения на активность ферментов плазматических мембран печени крыс // Тез. докл. конф. мол. ученых, Киев. Там же. С. 175.

6. Божок О.В., Глебова Л.Н., Прокопенко В.П., Бездробный Ю.В. Сравнение влияния больших и малых доз ионизирующего и неионизирующего излучения на активность 5'-нуклеотидазы плазматических мембран печени крыс // Тез. докл. Радиобиологический съезд Киев 1993, Пушино, 1993. С. 123.

7. Бездробный Ю.В., Божок О.В. Активность 5'-нуклеотидазы и протеинкиназ плазматической мембраны печени после редкоионизирующего облучения в диапазоне малых доз и малых мощностей доз // Там же. С. 92.

8. Божок О.В., Варецький В.В., Бездробний Ю.В. Вплив малих доз іонізуючого і неіонізуючого опромінення при їх роздільній та сукупній дії на активність ферментів плазматичних мембран печінки щурів // Тези допов. І з'їзду Українського біофізичного товариства, Київ, 20-24 червня 1994. Київ. 1994. С. 40.

9. Бездробний Ю.В., Серкіз Я.І., Божок О.В., Індик В.М. Активність 5'-нуклеотидази і протеїнкіназ плазматичної мембрани та 5'-нуклеотидази гомогенату печінки щурів третього та четвертого покоління, що утримувалися в зоні аварії на Чорнобильській АЕС // Доповіді академії наук України. - 1994. - № 6. - С. 166-170.

10. Божок О.В., Бездробний Ю.В., Кулик Г.О., Серкіз Я.І., Картель А.А. Фосфорилування білків і активність рецепторів інсуліну та епідермального фактору росту у плазматичних мембранах печінки щурів за умов зони вітчуження // Український біох. журн. - 1994. - Т. 66, № 5. - С. 35-39.

11. Бездробний Ю.В., Божок О.В., Серкіз Я.І., Індик В.М. Вплив реальних умов опромінення на активність протеїнкіназ та 5'-нуклеотидази плазматичної мембрани печінки щурів різних поколінь і віку, які утримувалися в зоні аварії на Чорнобильській АЕС // Доповіді національної академії наук України. - 1995. - № 3. - С. 112-114.

Bozhok O.V. Influence of sparse ionising radiation with different dose rate and constant exposure in 30-km Chornobyl zone on enzyme activity of the rat liver plasmatic membrane and its modification (manuscript).

The dissertation work for the degree candidate of biological sciences (speciality 03.00.08 - radiobiology), Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology of Ukrainian NAS, Kiev, 1995.

11 scientific works are defending, they have included data about reaction of liver plasmatic membrane enzymes after ionizaining irradiation at the different dose rates in the rats and its modification by membranotropic agents.

Божок О.В. Влияние редкоизирующего излучения с разной мощностью дозы и постоянного облучения в 30-км зоне ЧАЭС на активность ферментов плазматической мембраны печени крыс и его модификация (рукопись).

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.08 - радиобиология, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины, Киев, 1995.

Защищается 11 научных работ, которые содержат данные об особенностях реакции ферментов плазматической мембраны печени крыс на ионизирующее облучение с разной мощностью дозы и ее модификации мембранотропными агентами.

Ключові слова: низька потужність дози, мембранозв'язані ферменти, мембранотропні чинники.

AP 35.205

1118739

32507
AB 32.507

Bozlot O.V. Influence of different dose rate and period exposure to ⁹⁰Sr on chemical zone of enzyme activity of the liver plasmatic membrane and its modification (abstracts).

The distribution work by the degree candidate of biological sciences (speciality 03.00.08 - radiobiology, Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology of Ukrainian NAU, Kiev, 1993).

If scientific works are necessary, they have included data about reaction of liver plasmatic membrane enzymes after ionizing radiation at the different dose rates in the rats and its modification by membranotropic agents.

Бозлот О.В. Влияние различных доз облучения и периода воздействия ⁹⁰Sr на ферментативную активность и модификацию мембранной зоны активности ферментов печени крысы (абстракт).

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.08 - радиобиология, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины, Киев, 1993.

Защита 11.04.1994 г. в Киеве. Содержание диссертации: исследована реакция ферментативной активности мембранной зоны активности ферментов печени крысы на облучение различными дозами ⁹⁰Sr и ее модификация мембранотропными агентами.

Ключевые слова: реакция дозности дозы, мембранотропные ферменты, мембранотропные агенты.