

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

УЛ'ЯНЦЕВА

Олена Аркадіївна

УДК 615.849.114:577.125:796.015.6

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ
ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ПРОМЕНЕВОГО УРАЖЕННЯ
ТА ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

14.03.08- фармакологія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Одеса - 1997



00729213 (O)

Дисертація є рукописом
Роботу виконано в Одеському державному медичному
університеті.

Науковий керівник - доктор біологічних наук
Володимир Клеонтієвич Напханюк

Офіційні опоненти - доктор біологічних наук, професор,
зав.кафедрою медичної хімії ОДМУ
Олексій Олексійович Мардашко
- доктор біологічних наук, старший
науковий співробітник,
зав. лабораторією біологічних
проблем ОДУ
Леонід Михайлович Карпов

Провідна установа - Фізико-хімічний інститут
ім.О.В.Богатського НАН України

Захист відбудеться 17 серпня 1997 року о 11⁰⁰ годині
на засіданні спеціалізованої ради Д 05.04.02 при Одеському
державному медичному університеті (270100, Одеса, пров.
Валіховський, 2)

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці університету

Автореферат розіслано І. Червоний 1997 року.

Вчений секретар Спеціалізованої ради доктор медичних
наук, професор Л.С.Годлевський

AB 37.726

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ. Однією з актуальних проблем сучасної медичної науки є теоретичне обґрунтування та розробка шляхів спрямованої фармакологічної регуляції метаболічних зрушень, що виникають внаслідок уражуючої дії іонізуючих випромінювань. Але без вивчення патофізіологічних механізмів, що визначають можливості адаптації організму до дії несприятливих факторів, його резистентність до останніх, з'ясування найбільш вразливих та слабких місць в структурно-метаболічній організації живої системи, а також критичних і пускових моментів у розвитку викликаних ними уражень, вирішити цю проблему неможливо (Е.Н.Гончаренко с соавт., 1985; П.Д.Горизонтов,1977; А.И.Журавлев,1982; Ю.Б.Кудряшов, 1982, 1987; А.М.Кузин, 1986; С.П.Ярмоненко,1988).

Відома, що підтримка нормальної життєдіяльності організму є наслідком метаболічних перетворень, які відбуваються в клітинах і здійснюють регулюючий вплив на ключові ланки обміну, причому збереження тих чи інших структур забезпечується завдяки безперервному відновленню цілості їх окремих елементів. Не викликає сумніву і те, що саме метаболічні процеси, які перебігають у живому організмі, поряд з підтримкою його нативності беруть участь у розвитку структурних порушень під впливом радіації, реалізуючи таким чином первинні uszkodження (В.А.Барабой с соавт. 199.,1994, Ю.Б.Кудряшов,1987; А.М.Кузин,1986). Отже, морфологічним проявам радіаційного ураження повинні передувати метаболічні порушення, що визначають їх. Суттєве значення у цьому відношенні мають зміни таких метаболічних процесів у опроміненому організмі, які можна виявити до появи гістологічних ознак пошкодження. До них багато дослідників відносить (В.А.Барабой,1989, 1991; Ю.Б.Кудряшов,1982,1987) пускові критичні процеси і, зокрема, вільнорадикальні реакції, що знаходяться під жорстким контролем антирадикальних механізмів. З'ясовано (В.А.Барабой,1994; Ю.Б.Кудряшов,1987; М.М.Константинов с соавт., 1983), що первинне ураження критичних процесів підсилюється з часом після радіаційного впливу і є наслідком дисбалансу регуляторних механізмів.

Вищенаведене свідчить про те, що дослідження пускових критичних механізмів радіаційних уражень організму набуває виключно важливого загальнобіологічного значення і відкриває перспективи для оцінки надійності біологічної системи. Незважаючи на

ДНЕ м. В. Стефанів
 відкриває
 А. М. Кузин

те, що сьогодні існує значна кількість наукових робіт, присвячених дії іонізуючих випромінювань на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (Е.Б.Бурлакова с соавт., 1979, 1983; Л.В.Слепухина, 1970) та активність окремих ферментів антиоксидантної системи (АОС) (Ф.С.Марченко, 1989; С.Т.Рыскулова с соавт., 1984, 1986), механізми функціональних взаємовідносин ПОЛ-АОС досліджені недостатньо, а також не розроблені ефективні шляхи цілеспрямованої фармакологічної корекції останніх. Не з'ясовані ці механізми у звичайних умовах життєдіяльності кожного окремо взятого організму, не виявлено залежності адаптивних можливостей біологічного об'єкту від функціонального стану ПОЛ-АОС у фізіологічних умовах. У цьому плані, на наш погляд, суттєвого значення набувають дослідження стану цієї системи не тільки при дії іонізуючих випромінювань, а й під впливом максимального фізичного навантаження, що дасть змогу з'ясувати механізми розвитку м'язової втоми опромінених організмів та розробити патогенетично обгрунтовані шляхи фармакологічної корекції з метою підвищення їх працездатності. Дослідженню вищеназваних проблем і присвячена дисертаційна робота, яка є фрагментом комплексного дослідження з тем: «Структурно-метаболическі зміни в критичних органах нащадків щурів після γ -опромінення у малих та середніх дозах» (№ держреєстрації 0194u005371) та «Розробка шляхів спрямованої регуляції порушень метаболічних процесів у нащадків опромінених тварин» (№ держреєстрації 0196u017677).

МЕТА І ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою даного дослідження було розробити шляхи спрямованої фармакологічної регуляції прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин у організмі тварин за умов тотального γ -опромінення, максимального фізичного навантаження та спільної дії названих факторів. Відповідно до мети були поставлені основні завдання:

1. Вивчити особливості механізмів взаємодії прооксидантно-антиоксидантних ланок метаболізму у тканинах інтактних тварин, що знаходились у хронічному та гострому експериментах.

2. Дослідити особливості функціонування прооксидантно-антиоксидантних механізмів після максимального фізичного навантаження, тотального γ -опромінення та спільної їх дії.

3. З'ясувати можливості коригуючої дії вітамінних препаратів на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у організмі тварин після максимального фізичного навантаження, тотального γ -опромінення та їх спільної дії.

4. На підставі отриманих даних надає теоретичне обґрунтування ефективності протекторної та терапевтичної дії вітамінних препаратів по запропонованій схемі.

НАУКОВА НОВИЗНА. Результати експериментальних досліджень вперше дозволили з'ясувати, що у звичайних умовах життєдіяльності тварин взаємовідносини ПОЛ-АОС знаходяться у стані динамічної рівноваги, характер якої визначається великою, середньою та малою резервною потужністю і буферною ємністю антиоксидантних механізмів. Тварини, які мають у фізіологічних умовах добре збалансовану та потужну АОС, є більш радіорезистентними та фізично витривалими. Експериментально встановлено, що введення вітаміну Е та нікотинаміду згідно запропонованої схеми сприяє підсиленню функціональної потужності антиоксидантних механізмів, відновленню рівноваги у системі ПОЛ-АОС, чим покращує адаптивну спроможність організму до дії γ -опромінення, підвищує працездатність як інтактних, так і опромінених тварин. Доведено, що ефективність використання вітамінних препаратів значно вища у тварин, які у звичайних умовах життєдіяльності мають добре збалансовану і потужну АОС. Доказано, що запропоновані препарати можуть бути використаними як неспецифічні адаптогени та входить до складу комплексної терапії променевої патології.

ПРАКТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ РОБОТИ. На підставі проведених експериментальних досліджень вперше встановлено, що система ПОЛ-АОС відноситься до неспецифічних адаптивних механізмів організму, і її показники можуть бути використані як елементи для прогнозування радіорезистентності та фізичної витривалості кожного окремо взятого організму. Крім цього, по силі змін показників АОС в крові можна судити про ступінь важкості та глибину метаболічних порушень у організмі при променевих ураженнях та фізичних навантаженнях, а також прогнозувати динаміку перебігу патологічного процесу. Одержані результати про можливість фармакологічної регуляції функціонального стану системи ПОЛ-АОС при дії несприятливих факторів можуть бути використаними у лікувально-профілактичних установах спеціального профілю з метою реабілітації променевоуражених осіб.

ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ. Теоретичні аспекти дисертаційної роботи втілені у навчально-педагогічний процес кафедр гістології, ембріології та цитології (розділ «Нейроендокринна

система»), біологічної хімії (розділ «Біохімія м'язів»), фармакології, патофізіології Одеського державного медичного університету.

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВИНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ.

1. Взаємовідносини ПОЛ-АОС у звичайних умовах життєдіяльності тварин знаходяться у стані динамічної рівноваги, характер якої залежить від резервної потужності та буферної ємності антиоксидантних механізмів.

2. Адаптивна спроможність організму до дії несприятливих факторів (фізичне навантаження, γ -опромінення) визначається станом динамічної рівноваги прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин у фізіологічних умовах.

3. Сумісна дія тотального γ -опромінення та максимального фізичного навантаження викликає більш глибокі порушення прооксидантно-антиоксидантного стану організму, ніж окремий вплив кожного агента.

4. Введення вітаміну Е та нікотинаміду по запропонованій схемі відновлює динамічну рівновагу у системі ПОЛ-АОС, що обумовлює підвищення стійкості організму до впливу досліджених факторів.

5. Виразність протекторної та терапевтичної дії запропонованих вітамінних препаратів (незалежно від характеру уражуючого фактора) у значній мірі визначається функціональним станом прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у фізіологічних умовах.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Основні положення дисертаційної роботи доповідались і були обговорені на Міжнародному конгресі «Радіобіологія человека и животных» (Ялта, 1993), VII Республіканській школі «Биология опорно-двигательного аппарата» (Харків, 1994), I Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографо-анатомів України (Івано-Франківськ, 1994), симпозиумі «Морфо-функциональный статус млекопитающих и птиц» (Сімферополь, 1995), Республіканській науково-практичній конференції «Фундаментальные и клинические аспекты современной реабилитации» (Полтава, 1995).

ПУБЛІКАЦІЇ. Основний зміст дисертаційної роботи був викладений в 9 наукових публікаціях, з них 3 в центральних журналах.

КОНКРЕТНИЙ ОСОБИСТИЙ ВНЕСОК АВТОРА. Автором особисто були проведені експериментальні дослідження по вивченню особливостей взаємовідносин ПОЛ-АОС у звичайних умовах життєдіяльності тварин, залежність їх від стану АОС при γ -опроміненні в дозі 6,0 Гр, максимальному фізичному навантаженні, спільній дії цих

факторів та ефективності застосування вітаміну Е і нікотинаміді для корекції зсуення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, викликаного впливом названих агентів; проаналізовано отримані дані, зроблено висновки.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ. Дисертація викладена на 194 сторінках машинописного тексту і містить 33 таблиці, схему та 15 малюнків, складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів власних досліджень, обговорення результатів досліджень, узагальнення, висновків, списку літератури, який включає 148 вітчизняних та 67 іноземних джерел.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Експериментальні дослідження проведені на 430 ст тевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 170-190 г, що утримувались на стандартній дієті віварія. Експеримент виконувався відповідно до «Правил проведення робіт з експериментальними тваринами».

Експериментальні тварини відповідно до умов експерименту були поділені на чотири групи: I - інтактні; II - тварини, що знаходились у хронічному експерименті: а) після максимального фізичного навантаження, б) після тотального γ -опромінення в дозі 6,0 Гр, в) після спільної дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження; III - тварини, що знаходились у гострому експерименті: а) після максимального фізичного навантаження, б) після тотального γ -опромінення в дозі 6,0 Гр, в) після спільної дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження; IV - тварини, яким у відповідності з розробленою нами схемою вводили α -токоферолу ацетат та нікотинамід: а) після максимального фізичного навантаження, б) після γ -опромінення в дозі 6,0 Гр, в) після спільної дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження.

Для γ -опромінення ^{60}Co була використана установка для телегамматерапії «Агат». Потужність дози складала 0,48 Гр/хв., ВДП - 75 см. М. делювання максимального фізичного навантаження проводили шляхом бігу тварин "до відмови" у третбані зі швидкістю руху стрічки 34 м/хв.

В нашій лабораторії протягом останніх років було апробовано цілий ряд вітамінно-коферментних препаратів, з'ясовані механізми дії їх як у інтактних тварин, так і за умов різноманітних уражень (А.А.Марданко, 1989, В.К.Найханюк, 1990). На підставі отриманих результатів, які підтверджуються даними інших авторів

(В.В.Виноградсь, 1987; И.Г.Борисова и соавт., 1989; А.В.Паранич и соавт., 1992), з'ясовано, що при тотальному γ -опроміненні (ЛД 50/30) найбільш виразний радіопротекторний та терапевтичний ефект вітаміну Е виявляє в дозі 50 мг/кг і нікотинамід в дозі 5 мг/кг, причому введення нікотинамиду не раніше ніж через три години після α -токоферолу значно підсилює бажаний ефект. Отже, нами запропоновано використання 30% олійного розчину α -токоферолу ацетату та 2,5% водного розчину нікотинамиду в названих дозах. Препарати вводили внутрішньоочеревинно за схемою: α -токоферолу ацетат за 12 годин до впливу, нікотинамід - за 3 години до впливу; після впливу - α -токоферолу ацетат через 6 годин і нікотинамід - через 9 годин; α -токоферолу ацетат через 48 годин і нікотинамід через 3 години після введення α -токоферолу. Таким чином препарати вводились протягом 5 діб, до обумовлене стали концентрації їх в організмі протягом 2,5-3 тижнів.

Об'єктом для дослідів була цільна кров, яку брали з хвостової вени у хронічному експерименті, та кров, яку брали після декапітації тварин у гострому експерименті. Крім цього, у гострому експерименті було взято тканини скелетного та серцевого м'язів, з яких готували гомогенати, що використовувались для одержання цитоплазматичної фракції методом диференційного центрифугування (М.И.Прохорова, 1982).

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом R.Fried (1975), глутатіонредуктази (ГР) - А.М.Герасимова та співавт. (1976), глутатіонпероксидази до перекису водню (ГП) - D.E. Paglia, W.N. Valen'ne (1967), вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за допомогою методу І.Д.Стальної (1977), малонового діальдегіду (МДА) - І.Д.Стальної, Т.Г.Гарішвілі (1977). Визначення кількості вітаміну Е проводили модифікованим методом Р.Ш. Кисилевич, С.І. Скварко (1972). Вміст та ступінь відновленості піридинових нуклеотидів визначали за методом В.Н.Телепневої (1982). Усі названі вимірювання проводились на СФ-46.

Флуориметричний метод диференційного визначення катехоламінів О.О.Шаталової (1969) був використаний для дослідження вмісту адреналіну.

Одержані дані підлягають статистичній обробці способом оцінки середніх («малих вибірок») за допомогою таблиць t Стьюдента (И.А. Ойвин, 1960).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

У своїй роботі ми спробували з'ясувати, які механізми лежать в основі індивідуальної адаптогенної спроможності організму та можливості їх фармакологічної корекції після максимального фізичного навантаження, тотального γ -опромінення та спільної дії названих агентів.

На підставі одержаних даних було з'ясовано, що у крові інтактних тварин, які знаходились у хронічному експерименті, активність ключових ферментів АОС (СОД, ГП) має значні коливання. Це дозволило нам розділити всіх тварин на три групи (з високою, середньою та низькою активністю досліджених ферментів). Такий розподіл ми провели при наявності відхилень від середніх показників не менш 15%. У подальшому при проведенні тестування цих груп на максимальне фізичне навантаження була встановлена наявність також трьох груп в залежності від тривалості бігу тварин «до відмови». Це дало нам підставу для роздуму, що потужність початкової ланки АОС, тобто, етап дисмутації супероксиданіона кисню та його подальша реалізація з утворенням менш активних форм, у фізіологічних умовах характеризується індивідуальними параметрами у кожному окремо взятому випадку. Співставляючи результати наших досліджень з даними літератури (Н.И.Арлащенко и соавт., 1983; А.В.Самойлов и соавт., 1992; М.І.Борщевська та співавтор., 1995; A.Jendryczko et al., 1992), ми дійшли висновку, що у реальній дійсності фізіологічний стан АОС навіть у одновікових тварин, які утримувались у однакових умовах, мали однакову вагу, генетично детермінований і є властивим для кожного індивідуума.

З метою підтвердження наших здогадок був проведений гострий експеримент, який показав, що функціональний стан АОС у крові тварин після декапітації суттєво не відрізняється від аналогічних показників у крові з хвостової вени. Інформативними у цьому відношенні для обговорення є одержані нами результати досліджень інтенсивності початкової та кінцевої ланок процесу ПОЛ. Як з'ясувалось у хронічному та гострому експериментах, у групі тварин, які мають найбільш потужну АОС, продуктивність реакцій ПОЛ значно нижча, тобто рівновага у системі ПОЛ-АОС зсунута вправо. Отже, у цій групі тварин фізіологічною є переважна потужність та буферна ємність АОС і її спроможність без особливого напруження компенсувати черезмірну кількість кисеньактивних сполук і тривалий час підтримувати її на сталому рівні.

Якщо розглянути динамічну рівновагу ПОЛ-АОС у крові, серцевому та скелетному м'язах, очевидним є, що найбільш збалансована ця система у скелетному, потім у серцевому м'язах, і найбільш потужна вона у крові всіх трьох виділених нами груп тварин. Такий розклад є підставою для припущення, що фізіологічний стан дослідженої нами системи має свої характерні властивості для кожної окремо взятої тканини, що, очевидно, є генетично детермінованим процесом, а сукупність цих значень для всіх органів визначає стан її для організму в цілому.

Як зазначалось вище, тестування на фізичні навантаження також показало, що чинники гризлості бігу тварин дають змогу провести розподіл їх на три групи. Цікаво, що відбувається з дослідженою нами системою на верхівці фізичної втоми, і яким чином вона реагує на цей подразник. Для I групи тварин характерним є майже пропорційно рівний підйом вмісту продуктів ПОЛ та активності ферментів АОС. Аналізуючи ці дані, ми дійшли висновку, що максимальне фізичне навантаження у I групі тварин призводить до мобілізації усіх ланок АОС, що дає їй змогу в повній мірі компенсувати підвищення рівню кисеньактивних сполук. Можливо, що причиною втоми для цієї групи тварин є недостатня кількість макроергічних сполук (АТФ), які були використані у процесі надмірного фізичного навантаження (И.Г.Борисова и соавт., 1989; D.K.Bowles et al., 1991; J.Sastre et al., 1992; H.Gerster, 1991; C.K.Sen et al., 1992).

У II групі тварин, які мають у фізіологічних умовах однозначну рівновагу у системі ПОЛ-АОС, тобто потужність АОС є достатньою тільки для забезпечення стабільності цієї системи у фізіологічних умовах, на верхівці фізичної втоми спостерігається зсування рівноваги вліво. При цьому кількість продуктів ПОЛ у досліджених тканинах перевищує функціональну спроможність ферментів АОС. У цьому випадку, опираючись на дані літератури (M.Koz et al., 1992; L.L.Ji et al., 1992) та результати власних досліджень, можна припустити, що первинною ланкою у розвитку втоми є череззмірна кількість продуктів ПОЛ, які, як відомо (Н.А.Мітряєва, 1995), викликають зниження ефективності функціонування мітохондрій та механізмів транспорту Ca^{2+} (А.И.Дворецкий и соавт., 1990). Наслідком таких порушень є дефіцит на багаті енергією фосфорні сполуки та погіршення скорочувальної функції міофібрил, тобто зсування, що лімітують роботу м'язів.

У III групі тварин максимальне фізичне навантаження призводить до глибокого дисбалансу системи ПОЛ-АОС, пов'язаного з незначною резервною потужністю антиоксидантних механізмів у фізіологічних умовах, швидким пригніченням функціонального стану її ферментативної ланки та лавиноподібним прискоренням утворення продуктів ПОЛ. На наш погляд, у цьому випадку механізм м'язевої втоми є багатокомпонентним і в першу чергу обумовлений малопотужною АОС при досить великій інтенсивності реакцій ПОЛ. Це в свою чергу може бути однією із ознак лабільності симпато-адреналової системи, і фізичне навантаження призводить до її різкої активації (А.И.Журавлев, 1982; В.И.Мегеза, 1995; Н.А.Мітряева, 1995). Такий механізм, мабуть, полягає в тому, що біосинтез катехоламінів та їх розпад, а іменно окиснення адреналіна до аденохрома, супроводжується утворенням кисеньактивних сполук, що здібні активувати вільнорадикальні реакції. Отже, з однієї сторони, інтенсифікація ПОЛ викликає активацію симпато-адреналової системи, що в свою чергу веде до ініціації вільнорадикальних реакцій. З другого боку, значна інтенсивність процесів ПОЛ та великі витрати енергетичних ресурсів на біосинтез катехоламінів та їх утилізацію викликає енергетичний голод клітин, пригнічення тканинного дихання.

Відомо (Ю.Б.Кудряшов, 1966, 1987; М.Д.Скотт et al., 1989), що іонізуюча радіація ініціює і суттєво прискорює процес самоокиснення органічних сполук. Як свідчать результати проведених нами досліджень, процес утворення та накопичення продуктів ПОЛ після тотального γ -опромінення в дозі 6,0 Гр в значній мірі залежить від взаємовідносин ПОЛ-АОС у фізіологічних умовах в органах, тканинах та цілому організмі і від часу після впливу. Через годину після ураження спостерігається значна активація процесів ПОЛ у всіх трьох експериментальних групах. Але, якщо в I групі інтенсифікація утворення ДК та МДА супроводжується відповідною активацією усіх ланок АОС, і рівновага ПОЛ-АОС не зсунена, то у II та, особливо яскраво, III групах в цей час спостерігається суттєве її порушення.

Через 12 годин у I групі тварин спостерігається деякий спад в утворенні ДК та МДА при відносно стабільній функції усіх ланок АОС, активність її ферментів в даному випадку вірогідно перевершує показники контрольної групи (за виключенням ГР, активність якої нижча контрольного рівня). У II групі в цей час кількість ДК та МДА дещо знижується порівняно з попереднім терміном, але вона значно вища від аналогічної ситуації у I групі та порівняно з контролем.

Активність ферментів АОС у цей час в II групі майже на 30% нижча від рівня контрольних показників і нижча від подібних у I групі. Аналогічна картина спостерігається і у III групі, але із значно гіршими чинниками.

Через 24 години після вливу спостерігається новий підйом вмісту продуктів ПОЛ у всіх трьох групах, але найбільш суттєвим він є у III групі. Якщо у I групі цей підйом супроводжується значною активацією всіх ланок АОС, яка є вірогідною відносно контрольної групи, то у II та, особливо, у III групі підвищення активності досліджених ферментів є відносним тільки до попереднього терміну.

На 7 добу у I групі тварин кількість продуктів ПОЛ знижується практично до рівня контрольних показників. У II групі зниження вмісту ДК є відносним до попереднього терміну, а кількість МДА продовжує наростати. У III групі в цей час кількість продуктів ПОЛ знову наростає. Активність ферментів АОС в цей час у I групі тварин практично не відрізняється від фізіологічних показників, у II групі їх активність складає близько 50% від контролю, у III групі активність досліджуваних ферментів знаходиться на рівні 30%.

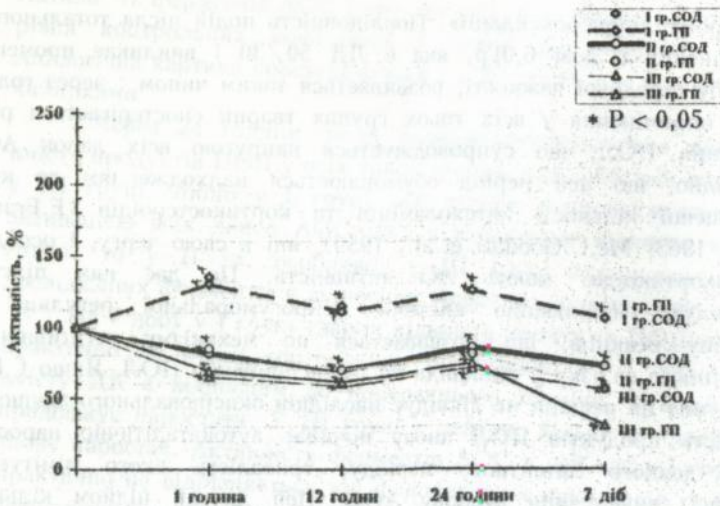
Таким чином, внаслідок проведених досліджень нами було з'ясовано, що тотальне γ -опромінення в дозі 6,0 Гр призводить до хвилеподібної перебіжки вмісту продуктів ПОЛ та функціонального стану ферментів АОС. Але, якщо в I групі інтенсифікація чи спад процесів ПОЛ супроводжується відповідними змінами активності ферментів, то у II групі таке явище спостерігається тільки в першу добу, а в III групі зростання концентрації продуктів ПОЛ супроводжується відповідним черговим пригніченням активності ферментів АОС.

Аналіз результатів наших досліджень та літературних джерел (Ю.В.Кудряшов, 1987; В.А.Барабой с соавт., 1991, 1994) дозволяє зробити припущення про те, що постійна присутність в клітинах і тканинах вільних радикалів, іонів, перекисів, здібних до аутокаталітичної ініціації розгалужених ланцюгових реакцій у фізіологічних умовах відповідає потужності та буферній ємкості АОС, характерній для кожної виділеної групи. Відповідно до цього у фізіологічних умовах в зв'язку з наявністю багаторівневої АОС зберігається рухлива прооксидантно-антиоксидантна рівновага, характерна тільки для даного індивідуума. При потужних та тривалих напругах у цій системі відбувається вичерпання резервів АО системи, внаслідок чого втрачається контроль над процесами ПОЛ з розвитком

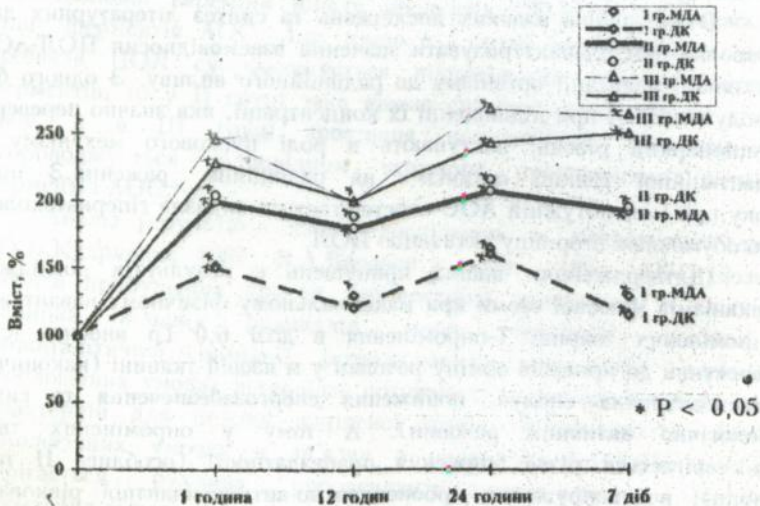
«синдрому ліпопероксидації». Послідовність подій після тотального у-опромінення в дозі 6,0Гр, яка є ЛД 50/30 і викликає променевою хворобу середньої важкості, розвивається таким чином: через годину після опромінення у всіх трьох групах тварин спостерігається різка активація ПОЛ, що супроводжується напругою всіх ланок АОС. Очевидно, що цей період обумовлюється надходженням до крові підвищеної кількості катехоламінів та кортикостероїдів (F.Franzen et al., 1963; Mc.C.Goodall et al., 1959), які в свою чергу, і особливо глюкокортикоїди, мають АО активність. Це дає нам підставу розглянути мобілізацію системи нейрогуморальної регуляції як аварійну реакцію, що розвивається по механізму негативного і зворотнього зв'язку у відповідь на інтенсифікацію ПОЛ. Якщо (II та III групи) ця реакція не ліквідує наслідків окиснювального зрушення, кількість продуктів ПОЛ знову починає аутокаталітично наростати після деякого латентного періоду, тривалість якого лімітується терміном вичерпання резерву АОС. Цей другий підйом кількості продуктів ПОЛ співпадає з початковою проявою гострої променевої хвороби, і, як вважають інші дослідники (В.А.Барабой, 1994), розвитком другої хвилі гіперкортицизму, що в свою чергу призводить до повторного пониження інтенсивності ПОЛ.

Отже, аналіз власних досліджень та синтез літературних даних дозволяє нам охарактеризувати значення взаємовідносин ПОЛ-АОС у механізмі адаптації організму до радіаційного впливу. З одного боку, продукти ПОЛ при підвищенні їх концентрації, яка значно перевершує стаціонарний рівень, виступають в ролі пускового механізму цієї адаптаційної реакції організму на радіаційне ураження. З іншого боку, при малопотужній АОС спостерігається виразна гіперкатехоolemія, що обумовлює вторинну активацію ПОЛ.

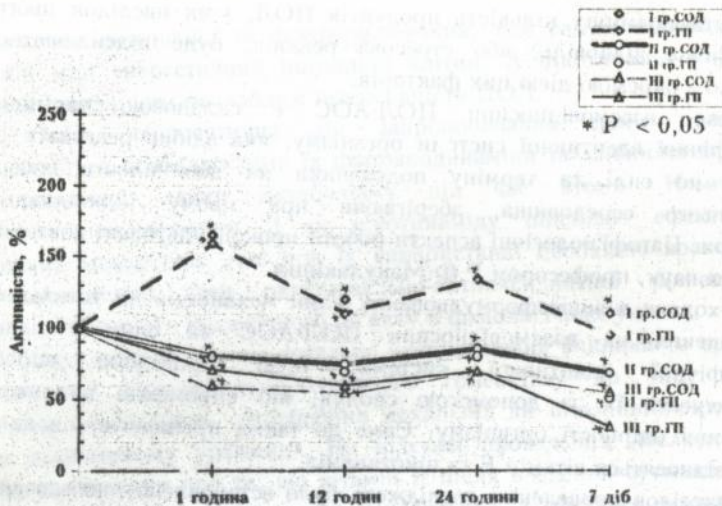
Підтвердженням наших припущень є результати дослідження механізмів м'язової втоми при максимальному фізичному навантаженні опромінених тварин. У-опромінення в дозі 6,0 Гр вносить істотні корективи до процесів обміну речовин у м'язовій тканині (накопичення кисеньактивних сполук, пониження енергозабезпечення та синтезу біологічно активних речовин). А тому у опромінених тварин спостерігається різке зниження працездатності (особливо II та III групи), перенапруження прооксидантно-антиоксидантної рівноваги з різким зсуном її вліво, що в свою чергу викликає збільшення коефіцієнту напруження у системі ПОЛ-АОС в усі терміни і у всіх без винятку групах (мал.1-3). Підвищення коефіцієнту напруження



Мал. 1. Динаміка перебігу активності ферментів АОС в крові тварин після спільної дії γ -опромінення в дозі 6,0 Гр та максимального фізичного навантаження, гострий експеримент



Мал. 2. Вміст продуктів ПОЛ в скелетному м'язі тварин після спільної дії γ -опромінення в дозі 6,0Гр та максимального фізичного навантаження, гострий експеримент.



Мал.3. Динаміка перебігу активності ферментів АОС в скелетному м'язі тварин після спільної дії γ -опромінення в дозі 6,0 Гр та максимального фізичного навантаження, гострий експеримент.

свідчить, що максимальне фізичне навантаження опромінених тварин призводить до різкого зменшення залишків компенсаторних можливостей ослабленого дією опромінення організму. Характерним є те, що названий ефект підсилюється з часом після ураження. У зв'язку з вищенаведеними даними та існуючими в літературі (Е.Б.Бурлакова с соавт., 1983; А.И.Журавлев, 1982) відомостями, ми дійшли висновку, що у механізмах комбінованої дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження існують свої особливості, які обумовлені в основному пригніченням неспецифічного компоненту адаптивної системи організму (АОС), що призводить в свою чергу до перенасичення тканин організму кисеньактивними сполуками різної природи (органічної, неорганічної). Таке явище, як відомо (В.И.Легеза и соавт., 1995; Ф.З.Меерсон, 1986), супроводжується викидом катехоламінів, глюкокортикоїдів та вірогідним зниженням кількості глюкокортикоїдних рецепторів в лімфоцитах периферійної крові.

На цій підставі ми вважаємо, що при комбінованій дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження ведучим моментом у механізмах розвитку м'язової втоми є неспроможність АОС

реалізувати надмірну кількість продуктів ПОЛ, і як наслідок цього, неспецифічна відповідь, або стресова реакція, буде підсилюватись порівняно з окремою дією цих факторів.

Отже, взаємовідносини ПОЛ-АОС є складовою частиною неспецифічної адаптивної системи організму, яка здібна реагувати на будь-які по силі та терміну подразники як зовнішнього, так і внутрішнього середовища, зберігаючи при цьому індивідуальні параметри. Патолофізіологічні аспекти роботи проконсультовані доктором медичних наук, професором Р.Ф.Макулькінім.

Виходячи з вищесформульованих нами механізмів дії тотального γ -опромінення на взаємовідносини ПОЛ-АОС як одну з ланок неспецифічної адаптивної системи, було проведено спроби відкоректувати їх за допомогою сполук, які спроможні викликати підвищення опірності організму. Саме до таких препаратів, на нашу думку, відносяться вітамін Е та нікотинамід.

Внаслідок проведених досліджень було встановлено, що завчасне введення вітамінних препаратів по запропонованій нами схемі сприяє підвищенню працездатності інтактних тварин. Але ефективність цих препаратів не є однозначною. Відносне підвищення фізичної активності є найбільшим у I та II групах, а у III групі воно незначне. У першому випадку вітамін Е, очевидно, діє як регулятор (можливо, репресор) активності ферментів АОС і як безпосередній антиоксидант. Крім цього, він виявляє прямий зв'язок з структурними особливостями та функціонуванням клітинних мембран, тобто контролює функцію мембран через специфічні вітамін-ліпідні взаємодії, підтримує нормальний рівень транс-мембранного транспорту. А нікотинамід відіграє роль регулятора обміну ліпідів та стимулює біосинтез піридинових нуклеотидів і кортикостероїдів (В.В.Виноградов, 1987). Вищесказане супроводжується опосередкованим підвищенням антиоксидантного статусу організму. Приведене свідчить про те, що завчасне та курсове введення запропонованих препаратів підсилює адаптацію організму до максимальних фізичних навантажень за рахунок мобілізації антиоксидантної ланки у системі ПОЛ-АОС.

А у випадку, коли тварини у фізіологічних умовах мають дуже незначну резервну потужність та буферну ємкість АОС (III група), введення препаратів викликає несуттєве підвищення працездатності порівняно з контрольними поїлками. Вірогідно, що механізм дії вітаміну Е має децю інший напрямок, і скоріш за все він впливає на процес поглинання кисню, вміст неорганічного фосфату та ступінь

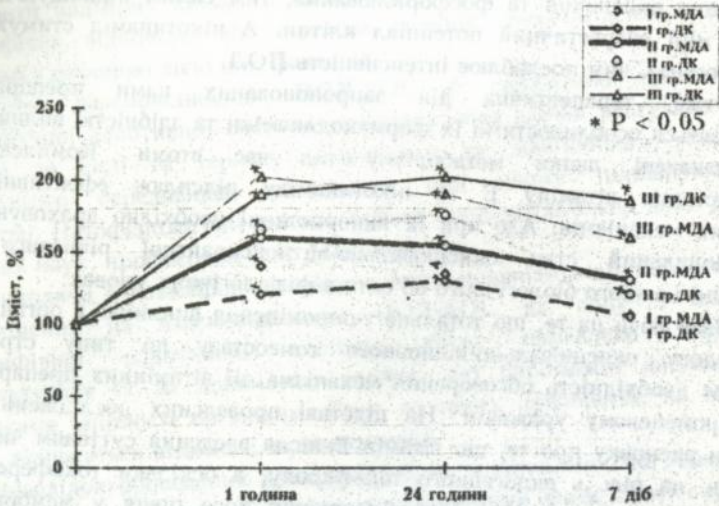
спряження окиснення та фосфорилування, тим самим підвищуючи в деякій мірі енергетичний потенціал клітин. А нікотинамід стимулює стероїдогенез, чим послаблює інтенсивність ПОЛ.

Отже, терапевтична дія запропонованих нами препаратів визначається особливостями їх фармакодинаміки та здібністю впливати на визначені ланки метаболізму під час втоми. Комплексне використання вітаміну Е та нікотинамиду підсилює ефективність згаданих механізмів. Але при їх використанні необхідно враховувати функціональний стан окиснювально-антиоксидантної рівноваги у організмі кожного біологічного об'єкту в фізіологічних умовах.

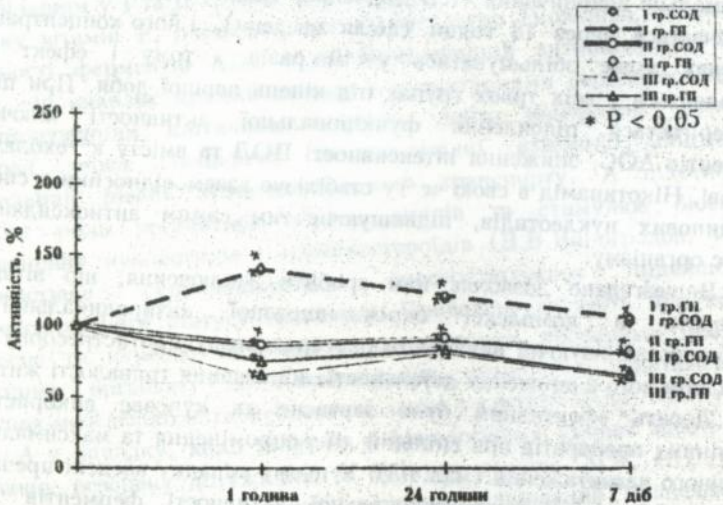
Зважаючи на те, що тотальне γ -опромінення викликає в організмі перебудову окиснювально-відновного гомеостазу по типу стреса, виникає необхідність обговорення механізму дії вітамінних препаратів при променевому ураженні. На підставі проведених досліджень ми дійшли висновку про те, що вітамін Е після введення суттєвим чином впливає на рівень ендogenousного токоферолу, а оскільки токоферол є природним антиоксидантом, то підвищення його рівня у мембранах організму за умов радіаційного ураження неухильно призводить до збільшення їх антиокиснювальної стійкості. Враховуючи той факт, що максимальне накопичення (Г.В. Донченко, 1988) введеного токоферолу відзначається через 18 годин (після введення), і його концентрація у тканинах може збільшуватись у 10 разів, тому і ефект його проявляється у всіх трьох групах під кінець першої доби. При цьому спостерігається підсилення функціональної активності ключових ферментів АОС, зниження інтенсивності ПОЛ та вмісту катехоламінів у крові. Нікотинамід в свою чергу стабілізує взаємовідносини в системі піридинових нуклеотидів, підвищуючи тим самим антиоксидантний статус організму.

Вищезгадане дозволяє нам зробити заключення, що вітамін і препарати в комплексі окрім вираженої антирадикальної та мембраноабілізуючої виявляють опосередковану прогностичеську дію, наслідком чого є зниження летальності, збільшення тривалості життя.

Досить ефективним було завчасне та курсове використання вітамінних препаратів при спільній дії γ -опромінення та максимального фізичного навантаження (мал.4-5). У цьому випадку введені препарати сприяли відновленню функціональної активності ферментів АОС, деякій стабілізації інтенсивності ПОЛ, суттєвому зниженню вмісту адреналіну у крові та поповненню вмісту токоферолу в тканинах. Очевидно, що все це призводило до підвищення працездатності тварин.



Мал.4. Вміст продуктів ПОЛ в скелетному м'язі тварин після спільної дії γ -опромінення в дозі 6,0 Гр та максимального фізичного навантаження на фоні введення фармакологічних препаратів



Мал.5. Перебіг активності ферментів АОС в скелетному м'язі тварин після спільної дії γ -опромінення в дозі 6,0 Гр та максимального фізичного навантаження на фоні введення фармакологічних препаратів.

але в залежності від функціонального стану досліджених систем у кожній окремо взятій групі у фізіологічних умовах.

ВИСНОВКИ

1. У звичайних умовах життєдіяльності взаємовідносини ПОЛ-АОС у організмі одновікових та одностатевих тварин знаходяться в стані динамічної рівноваги, характер якої визначається резервною потужністю та буферною ємністю антиоксидантних механізмів. Це дозволяє розділити всіх експериментальних тварин на три групи (з великою, середньою та малою резервною потужністю АОС).
2. Адаптивна спроможність та стійкість організму до впливу максимального фізичного навантаження, тотального γ -опромінення визначається станом динамічної рівноваги прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин кожної виділеної групи тварин у фізіологічних умовах.
3. Тотальне γ -опромінення в дозі 6,0 Гр викликає значне зниження працездатності тварин усіх трьох груп, яке обумовлене більш глибокою дезорганізацією функціональних взаємовідносин в системі ПОЛ-АОС і зсуном динамічної рівноваги у бік накопичення кисеньактивних інтермедіатів.
4. Підвищення працездатності тварин після введення вітаміну Е та нікотинаміду згідно запропонованої схеми є наслідком підсилення резервної потужності АОС, зменшення кількості продуктів ПОЛ, нормалізації вмісту адреналіну у крові.
5. Введення вітаміну Е та нікотинаміду по запропонованій схемі до γ -опромінення сприяє зниженню утворення індуктованих радіацією первинних продуктів ПОЛ, запобігає передчасному виснаженню резервної потужності АОС, нормалізує вміст адреналіну у крові експериментальних тварин.
6. Курсове введення вітаміну Е та нікотинаміду по запропонованій схемі відновлює викликане дозою γ -опромінення зсування динамічної рівноваги в системі ПОЛ-АОС за рахунок підсилення антиоксидантних механізмів, наслідком чого є зниження летальності і підвищення тривалості життя піддослідних тварин.
7. Завчасне та курсове введення вітаміну Е і нікотинаміду сприяє підвищенню працездатності опромінених тварин усіх трьох груп за рахунок послаблення процесу утворення як початкових, так і

- кінцевих продуктів ПОЛ, активації ключових ферментів АОС, нормалізації співвідношення NADP/NADPH, підвищення вмісту вітаміну Е і зниження кількості адреналіну у крові.
8. Ефективність протекторної та коригуючої дії вітаміну Е та пікотинамиду як за біологічними показниками (працездатність, летальність, тривалість життя), так і за показниками прооксидантно-антиоксидантної рівноваги незалежно від уражуючого фактору в певній мірі визначається станом останньої у кожній виділеній групі тварин в фізіологічних умовах.
 9. Можливість підвищення адаптогенної спроможності організму внаслідок фармакологічної корекції запропонованими вітамінними препаратами взаємовідносин у системі ПОЛ-АОС є доказом того, що вона є однією з вузлових ланок неспецифічних адаптивних механізмів і обумовлює не тільки адаптогенні властивості даної групи, але й її здібність до виживання при дії несприятливих факторів. Це є підставою для виявлення індивідуумів з різною стійкістю і розробки індивідуальних підходів у процесі профілактики та терапії.

СПИСОК ДРУКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Перекишеное окисление липидов и его коррекция при максимальных физических нагрузках // Вестник пробл.совр.медицины. - Харьков, 1995. - Вып.5. - С.53-60.
2. Стан неспецифічної адаптивної системи організму при дії гамма-опромінення // Вісник наукових досліджень (МНЖ). - Тернопіль, 1995. - Вып.5. (у співавт. з С.П.Заярною, В.К.Напханюком).
3. Роль протиперекисної системи у механізмах адаптації організму до дії несприятливих факторів довкілля // Вестник стоматологии. - 1997. - № 2. - С.23-27. (в соавт. с С.П.Заярной, В.К.Напханюком).
4. Вплив біологічно активних препаратів на процеси репарації червоного кісткового мозку опромінених щурів // Тези доп. І нац. конгр. анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України. - Івано-Франківськ, 8-10 вересня 1994р. - С.70-70. (у співавт. з С.П.Заярною, Н.А.Черненко, Ю.Г.Мунтян, Л.О.Терещенко, А.Г.Васильєвою, В.К.Напханюком).
5. Вплив тотального гамма-опромінення на структурно-метаболічні процеси червоного кісткового мозку щурів // Там же. - С.178-178. (у співавт. з С.П.Заярною, Н.А.Черненко, Л.О.Терещенко, Ю.Г.Мунтян, А.Г.Васильєвою, В.К.Напханюком).

6. Возможности коррекции процессов перекисного окисления липидов при ожоговых травмах // Тез. докл. республ. НПК «Фундаментальные и клинические аспекты современной реабилитации». - Полтава, 18-19 мая 1995 г. - С.82-82. (у співавт. з В.К.Напханюком, С.П.Заярною).
7. Особенности нарушений функциональной способности скелетных мышц крыс после тотального гамма-облучения // Материалы НПК «Морфофункциональный статус млекопитающих и птиц». - Симферополь, 1995. - С.45. (у співавт. з С.П.Заярною).
8. Особливості перебігу окиснювально-відновних процесів у гемопоетичній системі вагітних щурів після гама-опромінення // Щорічник «Наукові записки». - Київ, 1997. - Ч.І. - С.215-216.
9. Механізм функціонування неспецифічної адаптивної системи організму при максимальних фізичних навантаженнях // Там же. - Ч.ІІ. - С.487-488. (у співавт. з В.К.Напханюком).

Ульянцева О.А. Фармакологічна корекція прооксидантно-антиоксидантного стану організму за умов промислового ураження та фізичного навантаження. - Рукопис. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.08 - фармакологія. - Одеський державний медичний університет, Одеса, 1997. Дисертацію присвячено проблемі підвищення працездатності опроміненних організмів. В роботі запропоновано нові підходи у розробці методів діагностики, прогнозування та корекції адаптаційної спроможності окремих індивідуумів до фізичного навантаження, γ -опромінення та спільної їх дії. Встановлено, що введення вітаміну Е та нікотинаміду згідно розробленої схеми призводить до підвищення працездатності як інтактних, так і опроміненних тварин, зниженню летальності опроміненних тварин, збільшенню тривалості їх життя. Ефективність протекторної та коригуючої дії вітаміну Е та нікотинаміду як за біологічними показниками, так і за показниками прооксидантно-антиоксидантної рівноваги визначається станом останньої у даного організму у фізіологічних умовах. Отримані результати є підставою для виявлення об'єктів з різною стійкістю до дії несприятливих факторів, прогнозування протікання патологічного процесу та розробки індивідуальних підходів його профілактики та терапії.

Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантна рівновага, γ -опромінення, фізичне навантаження, корекція, вітамін Е, нікотинамід.

Ульянцева Е.А. Фармакологическая коррекция прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при облучении и физической нагрузке. - Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.08 - фармакология. - Одесский государственный медицинский университет, Одесса, 1997. Диссертация посвящена проблеме повышения работоспособности облученных организмов. В работе предложены новые подходы к разработке методов диагностики, прогнозирования и коррекции адаптационных возможностей отдельных индивидуумов к физической нагрузке, γ -облучению и совместному их действию. Установлено, что введение витамина Е и никотинамида по разработанной схеме приводит к повышению работоспособности как интактных, так и облученных животных, снижает летальность облученных животных, увеличивает продолжительность их жизни, улучшает общий статус. Эффективность протекторного и корригирующего действия витамина Е и никотинамида как по биологическим показателям, так и по показателям прооксидантно-

антиоксидантного равновесия определяется состоянием последнего у данного организма в физиологических условиях. Полученные результаты являются основанием для выявления объектов с различной устойчивостью к действию неблагоприятных факторов, прогнозирования течения патологического процесса и разработки индивидуальных подходов их профилактики и терапии.

Ключевые слова: прооксидантно-антиоксидантное равновесие, физическая нагрузка, γ -облучение, коррекция, витамин Е, никотинамид.

Ulyantseva E.A. Pharmacological correction of oxidative-antioxidative state of organism in effect of γ -irradiation and physical loading.-Manuscript. Thesis for a candidate scientific degree by speciality 14.03.08 - Pharmacology.-Odessa State Medical University, Odessa, 1997. The dissertation is devoted to problem of enhancing the irradiated animals ability for labour. In the work there is proposed a new directions in elaboration of diagnostic, prognosis and correction methods of individual adaptation capacity to physical loading, γ -irradiation and their combination. There is established that vitamin E and nicotinamid administration by proposed scheme enhance the ability for work as intact as irradiated animals, lower the rayed animals lethality, prolong their life, improve general status. The efficiency of vitamin E and nicotinamid protective and corrective effects is the result of oxidative-antioxidative balance state of organism in physiological conditions. The obtained data are recommended to reveal the object with different unfavourable influence stability, disease forecast and individual approaches elaboration of it's prophylactic and therapeutic measures.

Key words: oxidative-antioxidative balance, physical loading, γ -irradiation, correction, vitamin E, nicotinamid.



Подп. к печати 5.05.97г. Формат 60x84 1/16.
Объем 1, 25п. л. 0, 8уч. изд. л. Заказ № 157/3. Тираж 100 экз.
Гортипография Одесского управления по печати, цех №3.
Ришельевская 47.

435502

AB 37.726