

ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. Ю. ФЕДЬКОВИЧА

БЕВЗО

Валентина Вікторівна

УДК 577.121.2:599-085.324

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ МИШЕЙ ПРИ
ДІЇ МАЛИХ ДОЗ РАДІАЦІЇ ТА ЇЇ
КОРЕКЦІЯ ЕКСТРАКТОМ БДЖОЛИНОГО ПИЛКУ

03.00.04 - біохімія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Чернівці - 1997

577.1



00751790 (T)

Робота виконана в Чернівецькому державному університеті ім. Ю.Федьковича.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор

МАРЧЕНКО Михайло Маркович

професор кафедри біохімії і експериментальної екології, декан біологічного факультету Чернівецького державного університету ім. Ю.Федьковича

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор

ВІНОГРАДОВА Руфіна Петрівна

професор кафедри біохімії Київського державного університету ім.Т.Шевченка;

доктор медичних наук, професор, академік АН ВШ України

ПІШАК Василь Павлович

завідувач кафедри медичної біології та генетики, ректор Буковинської державної медичної академії

Провідна установа: Харківський державний університет, кафедра біохімії

Захист дисертації відбудеться "21" листопада 1997 р.

о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 07.01.03 при Чернівецькому державному університеті ім. Ю.Федьковича (274012, м.Чернівці, вул. Коцюбинського, 2).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Чернівецького державного університету ім. Ю.Федьковича (274012, м.Чернівці, вул. Л.Українки, 23).

Автореферат розісланий "20" жовтня 1997 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

Г.П.Копильчук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ. З аварією на Чорнобильській АЕС, що супроводжувалась викидами радіонуклідного матеріалу, пов'язаний розвиток складних негативних радіобіологічних та екологічних наслідків [Гродзінський Д.М., 1993]. Масштабність радіаційного забруднення території зі всією гостротою поставила питання про стан рослинного і тваринного світу та його прогнозування. Проте, сучасна радіаційна біохімія не володіє надійними критеріями кількісної оцінки біохімічних змін за умов дії низьких доз радіації [Барабой В.А., 1990].

Тому актуальним на даний час є вивчення питання про особливості біологічної дії малих доз радіації впродовж тривалого проміжку часу і можливі шляхи її корекції за допомогою препаратів рослинного і тваринного походження.

Найбільш раннім проявом дії іонізуючої радіації є посилення процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), що призводить до порушення структурно-функціональних властивостей біомембран [Барабой В.А. и др 1991], і першочерговий адаптивний ефект дії радіації проявляється в активації захисних систем клітини [Бурлакова Е.Б. и др., 1975]. Одним із механізмів пригнічення процесів ПОЛ є наявність в тканинах фізіологічної антиоксидантної системи, що включає відновлений глутатіон та ферменти його обміну, токоферол, аскорбінову кислоту, поліненасичені жирні кислоти, які попереджують або затримують проходження ланцюгових реакцій переокислення, а також ферменти знешкодження активних форм кисню - супероксиддисмутазу і каталазу [Меньшикова и др., 1993]. Антиоксидантна система забезпечує підтримання гомеостазу при дії різних екстремальних агентів, а також радіації і володіє радіопротекторними функціями [Барабой и др., 1994].

Для вирішення завдань тривалого і надійного підвищення радіорезистентності організму є пошук природних речовин, які були би безпечними для організму людини і проявляли виражені радіопротекторні властивості. Особливий інтерес представляє можливість використання для цих цілей бджолиного пилку. Існують чисельні відомості про його біологічну та лікувальну дію [Шеметков М.Ф. и др., 1987; Тихонов О.І. та ін., 1992]. Однак радіопротекторні властивості бджолиного пилку вивчені недостатньо.

Вирішення цього питання дасть можливість розширити арсенал природних речовин, необхідних для профілактики вражаючої дії іонізуючої радіації в малих дозах.

ЛНБ ім. В. Стефанива
АН України

ЗВ'ЯЗОК РОБОТИ З НАУКОВИМИ ПРОГРАМАМИ, ПЛАНАМИ, ТЕМАМИ. Робота виконувалась з 1994 року по 1997 рік на кафедрі біохімії і є фрагментом наукової тематики кафедри ("Дослідження післядії радіаційного та хімічного забруднення на життєдіяльність живих організмів").

МЕТА І ЗАДАЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метою даної роботи було вивчення стану антиоксидантної захисної системи в крові та печінці мишей за умов дії низьких доз радіації, як в природних (радіаційне забруднення $2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²) так і лабораторних (сумарна доза 1,8 мКл/кг) умовах.

Відповідно до мети поставлено такі завдання:

1. Дослідити вміст малонового діальдегіду (МДА), відновленого глутатіону (GSH) та активність ферментів антиоксидантної системи (глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонтрансферази (ГТ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФД), супероксиддисмутази (СОД) і каталази) в крові та печінці мишей:

- в умовах радіаційно-забрудненої зони при дії зовнішнього ($2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²) та внутрішнього (інкорпоровані радіонукліди Cs¹³⁷) опромінення;

- при дії одноразового і дробного рентгенівського опромінення в сумарній дозі 1,8 мКл/кг;

- при сумісній дії дробного рентгенівського опромінення та сульфату талію в дозі 17,5 мг/кг маси.

2. Вивчити вплив спиртового екстракту бджолиного пилку (СЕП) на стан антиоксидантної системи організму мишей при дії досліджуваних екзогенних факторів.

НАУКОВА НОВИЗНА ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ. В даній роботі вперше проведено дослідження змін антиоксидантної системи крові і печінки мишей при дії іонізуючої радіації в умовах радіаційно-забрудненої зони ($2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²) і рентгенівського опромінення дозою 1,8 мКл/кг, що відповідає підвищеному природному радіаційному фону.

Показано, що в умовах радіаційно забрудненої зони зовнішнє опромінення ($2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²) викликало менш виражені вірогідні зміни стану глутатіонової системи і вмісту малонового діальдегіду в печінці мишей, ніж внутрішнє (інкорпоровані радіонукліди Cs¹³⁷).

В лабораторних умовах при дії одноразового рентгенівського опромінення дозою 1,8 мКл/кг виявлені зміни стану антиоксидантної системи організму тварин, максимум яких припадав на третю добу після опромінення і проявлялося в підвищенні вмісту малонового діальдегіду, відновленого глутатіону, активності всіх глутатіонзалежних ферментів, супероксиддисмутази і каталази в крові і печінці мишей.

Більш суттєві зміни глутатіонової системи в печінці мишей виявлені при дії дробного рентгенівського опромінення сумарною дозою 1,8 мКд/кг протягом 14 діб в порівнянні з одноразовими в тій же дозі на 14 добу експерименту.

При введенні сульфату талію в дозі 17,5 мг/кг маси тварин на фоні посилення процесів пероксидного окислення ліпідів відмічено зниження активності каталази і піруваткінази, вмісту відновленого глутатіону, в той же час значно підвищувалася активність глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази. Ефект дії сульфату талію підсилювався дробним рентгенівським опроміненням.

Виявлений позитивний вплив спиртового екстракту бджолиного пилку в умовах дії малих доз радіації, який обумовлений його антиоксидантними і радіопротекторними властивостями. Експериментально обґрунтовано застосування спиртового екстракту бджолиного пилку для корекції оксидантно-антиоксидантного стану організму при дії малих доз іонізуючої радіації.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ:

- 1) отримані результати та їх узагальнення доповнюють і розширюють уявлення про поєднану дію підвищеного природного фону радіації і радіонуклідів та вплив одноразового і дробного опромінення малими дозами на організм тварин;
- 2) оцінка стану глутатіонової захисної системи і вмісту малонового диальдегіду може бути чутливим параметром змін, зумовлених низькими дозами опромінення у ранньому пострадіаційному періоді;
- 3) спиртовий екстракт бджолиного пилку, проявляючи антиоксидантні і мембраностабілізуючі властивості в умовах дії низьких доз іонізуючої радіації, доповнює групу препаратів-радіопротекторів природного походження і може використовуватися у медицині.

ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ:

1. Ведучим чинником вражаючої дії малих доз іонізуючої радіації в умовах радіаційно-забрудненої зони на антиоксидантну систему мишей є інкорпоровані радіонукліди в порівнянні з дією зовнішнього опромінення. Хронічне рентгенівське опромінення мишей викликає більш суттєві зміни стану антиоксидантної системи, ніж одноразове опромінення в тій же дозі.

2. Введення мишам сульфату талію (17,5 мг/кг) підвищує процеси пероксидного окислення ліпідів та пригнічує активність деяких компонентів антиоксидантної системи організму тварин. Цей ефект підсилюється рентгенівським опроміненням в досліджуваній дозі.

3. Спиртовий екстракт бджолиного пілку в умовах дії малих доз радіації, іонів талію та їх сумісного впливу проявляє антиоксидантні і радіопротекторні властивості, що виражається в нормалізації вмісту малонowego дияльдегіду, відновленого глутатіону та активності глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази.

ОСОБИСТІЙ ВНЕСОК В ОТРИМАННЯ НАУКОВИХ РЕЗУЛЬТАТІВ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ. Дисертантка приймала безпосередню участь у виконанні експериментальної частини роботи, підборі та обробці літературних відомостей. Самостійно готувала до друку всі наукові роботи, що відображають результати дисертації. Аналіз та обговорення отриманого матеріалу проведено спільно з науковим керівником.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Основні результати роботи викладені на Міжнародній науковій конференції "Навколишнє середовище і здоров'я" (Чернівці, 1993), Міжнародному симпозиумі "Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні" (Чернівці, 1994), науковій конференції викладачів, співробітників та студентів, присвяченій 120-річчю заснування Чернівецького університету (Чернівці, 1995), International regional seminar "Environment protection: modern studies in ecology and microbiology" (Uzhgorod, 1997), VII Українському біохімічному з'їзді (Київ, 1997).

ПУБЛІКАЦІЇ. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 4 статті та 6 тез доповідей.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ РОБОТИ. Дисертація складається із вступу, огляду літератури (4 розділи), методичної частини, результатів досліджень та їх обговорення (5 розділів), висновків і списку літератури (250 джерел, з яких 64 - іноземні). Робота викладена на 133 сторінках, має 14 таблиць та 6 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі роботи подано огляд літератури, включаючи роботи за 1997 р, що висвітлюють деякі аспекти біологічної дії малих доз радіації, розглянуто питання стану процесу перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи при дії іонізуючої радіації. Особливу увагу приділено вивченню біологічної ролі бджолиного пілку.

У другому розділі описуються матеріали та основні методи дослідження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В експериментах використовували білих мишей чистої лінії NMRI, віком 2,5-3 місяці, масою 30-35 г. Були проведені природні та лабораторні дослідження. В природних умовах тварини знаходились протягом 1,5 місяця на території села Киселів - одного із найбільш радіаційно забруднених місць Чернівецької області ($2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²), що перевищувало норму в 3 рази (станом на 1988-89 роки). Крім того, дослідні тварини харчувались місцевим молоком, забрудненим радіонуклідами Cs¹³⁷ (5,25 Бк/кг), що перевищує норму в 1,4 рази. Контрольна група тварин знаходилась в районі, де радіаційне забруднення було близьким до норми.

В лабораторних умовах були проведені три серії експериментів. Опромінення тварин проводили рентгенівським діагностичним апаратом 12П6 з потужністю дози 0,26 мА/кг. В першій серії експериментів дослідні тварини опромінювали одноразово дозою 1,8 мКл/кг, що відповідає 7 Р; Дослідження проводили в динаміці (тварин забивали на 1-шу, 5-ту, 7-му, 14-ту доби). В другій серії експериментів дослідні тварини зазнавали дробного рентгенівського опромінення по 0,26 мКл/кг через день протягом 14 днів (сумарна доза 1,8 мКл/кг).

В третій серії дослідів вивчали вплив іонів талію окремо, а також на фоні дії дробного рентгенівського опромінення в сумарній дозі 1,8 мКл/кг. 0,1 % розчин Tl_2SO_4 вводили перорально по 2,5 мкг маси тварин через день протягом 14 днів. Така доза складала 1/3 частину від летальної дози сульфату талію.

У кожній серії експериментів була група тварин, яка на фоні дії екзогенних факторів отримували спиртовий екстракт бджолиного пилку (бджолині обніжки поліфлорного квіткового пилку). Виготовлений нами разом з кафедрою органічної хімії Чернівецького державного університету ім. Ю.Федьковича препарат із кислотним числом 6,5 мг/г екстракту розводили у 100 разів фізіологічним розчином і вводили перорально із розрахунку 0,3 мл на 30 г маси тварин через день протягом 14 днів. Така доза препарату викликає 50%-не гальмування пероксидного окислення ендогенних ліпідів печінки і взята як курсова терапевтична доза [Печенюк, 1993].

У печінці мишей визначали вміст: малонового діальдегіду [Владимиров и др., 1972], відновленого глутатіону [Мешишен и др., 1983]; активність ферментів: АТФ: піруват 2-О-фосфотрансферази, піруваткінази [КФ 2.7.1.40], [Покровский, 1969]; глюкозо-6-фосфат: НАДФ⁺ 1-оксидоредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [КФ 1.1.1.49], [Захарьин, 1967]; РХ: глутатіон-Р-трансферази, глутатіонтрансферази [КФ 2.5.1.18], [Мешишен, 1987]; глутатіон: пероксид водно-оксидоредуктази, глутатіонпероксидази [1.11.1.9.], [Мешишен, 1982]; НАДФН₂: окислений глутатіон-оксидоредуктази, глутатіонредуктази [КФ 1.6.4.2.], [Beutler, 1969]; пероксид: пероксид оксидоредуктази, супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1.], [Fried, 1975, Nashikimi, 1972]; пероксид водно-оксидоредуктази, каталази [КФ 1.11.1.6], [Королюк и др., 1988]; аланін: 2-оксоглутарат-амінотрансферази, аланінамінотрансферази (АЛТ) [КФ 2.6.1.2], і аспартат: 2-оксоглутарат-амінотрансферази, аспартатамінотрансферази (АСТ) [КФ 2.6.1.1.], [Reitman et al., 1957; Осадчая, 1982].

У цільній крові тварин визначали активність супероксиддисмутази [Дубинина и др., 1983], каталази [Королюк и др., 1988], в сироватці крові - вміст малонового діальдегіду [Андреев и др., 1988], активність аланін-і аспартатамінотрансфераз [Громова и др., 1983].

В кишечнику, печінці, селезінці, нирках, головному мозку та сироватці крові мишей досліджували вміст мікро- і макроелементів [Шамгунов и др., 1989].

Одержані експериментальні дані оброблені статистично [Проданчук та ін., 1990].

У третьому розділі приведені основні результати дослідження та їх обговорення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені біохімічні дослідження впливу природного зовнішнього та внутрішнього опромінення (тварини перебували протягом 1,5 місяця в умовах радіаційно-забрудненої зони) показали (табл.1), що у всіх випадках спостерігалось різке посилення процесів ПОЛ в печінці тварин. Вміст кінцевого продукту ПОЛ - малонового діальдегіду підвищувався у тварин усіх груп і найбільше (в 1,8 раз) в 3 групі, де тварини отримували крім зовнішнього опромінення місцеве молоко, що містило радіонукліди Cs¹³⁷.

Таблиця 1

Вміст малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів в печінці мишей, які знаходились в радіаційно-забрудненій зоні протягом 1,5 місяця, (M ± m; n = 6)

Умови досліджу	МДА, мкмоль/г тканини	GSH, мкмоль/г тканини	ГР, нмоль НАДФН/хв x мг білка	ГП, нмоль GSH/хв x мг білка	ГТ, нмоль GSH/хв x мг білка	Г-6-ФД, нмоль НАДФН/хв x мг білка
Контроль	41,2 ± 1,87	7,32 ± 0,13	4,95 ± 0,24	260 ± 10,3	42,2 ± 1,71	5,60 ± 0,26
1 група	60,8 ± 2,31*	9,24 ± 0,44*	5,53 ± 0,28*	281 ± 13,0	44,1 ± 1,96	7,11 ± 0,34*
2 група	56,2 ± 2,83*	8,23 ± 0,38*	5,39 ± 0,26	283 ± 12,8	39,0 ± 1,75	5,50 ± 0,24
3 група	72,9 ± 3,70*	10,1 ± 0,45*	5,92 ± 0,27*	301 ± 10,1*	48,8 ± 1,90*	8,28 ± 0,40*
4 група	45,7 ± 2,95	7,41 ± 0,36	5,22 ± 0,25	265 ± 14,2	43,7 ± 1,76	5,90 ± 0,28

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем, p < 0,05

1 група - чисте місце + забруднене молоко;

2 група - забруднене місце + чисте молоко;

3 група - забруднене місце + забруднене молоко;

4 група - забруднене місце + забруднене молоко + СЕП.

У відповідь на активацію процесів ПОЛ в печінці мишей усіх дослідних груп зростала активність компонентів глутатіонової системи (табл.1). Зокрема, збільшувався вміст відновленого глутатіону та підвищувалась активність глутатіонзалежних ферментів. Найбільші зміни спостерігались у тварин 3 групи, які знаходились в умовах внутрішнього і зовнішнього опромінення. Для них характерним було вірогідне підвищення активності всіх глутатіонзалежних ферментів (ГР, ГП, ГТ, Г-6-Ф!), що вказує на мобілізацію ендogenous антиоксидантних ресурсів.

Слід відмітити, що харчування тварин забрудненим молоком у чистій зоні нагадувало картину хімічних змін в печінці, які спостерігались у тварин 3 групи; і незначні зміни стану глутатіонової системи викликала дія тільки зовнішнього опромінення.

У тварин, які на фоні зовнішнього і внутрішнього опромінення протягом 1,5 місяця отримували спиртовий екстракт бджолиного пилку, всі досліджувані показники знаходились на рівні контролю.

Таким чином, провідним фактором у підсиленні процесів ПОЛ і порушенні функцій антиоксидантної глутатіонової системи організму тварин, є чистота (у радіаційному плані) продуктів харчування, оскільки зміна активності вивчених ферментів в печінці мишей зумовлена, в значній мірі, дією радіонуклідів, ніж дією зовнішнього опромінення.

Базуючись на результатах досліджень в природних умовах доцільно було дослідити вплив зовнішнього рентгенівського опромінення як одноразового, так і дробного сумарною дозою 1,8 мКл/кг на стан антиоксидантної системи в крові та печінці мишей в лабораторних умовах. Доза рентгенівського опромінення була розрахована нами на основі природного експерименту і відповідала зовнішньому опроміненню, що отримували миші, перебуваючи в умовах радіаційно-забрудненої зони.

Встановлено, що першою системою, яка реагує на опромінення є кровоносна система. Вже на 1 добу після одноразового рентгенівського опромінення дозою 1,8 мКл/кг (рис.1) в крові мишей підвищувався вміст МДА (в 1,5 рази) і таке підвищення спостерігалось протягом всіх досліджуваних строків після опромінення. Показано, що найчутливішими ферментами до дії радіації є каталаза і СОД крові, максимальні зміни яких припадали на 3 добу після одноразового опромінення.

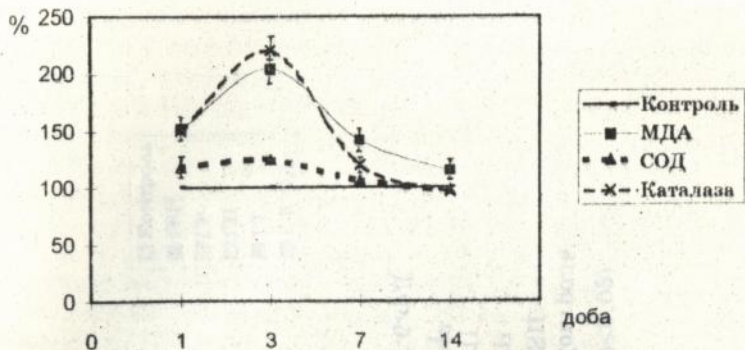


Рис.1. Вміст малонового діальдегіду та активність супероксиддисмутази і каталази в крові мишей при дії одноразового рентгенівського опромінення дозою 1,8 мКл/кг

Така ж сама тенденція змін досліджуваних показників характерна і для печінки тварин (рис.2). Так, максимальне підвищення вмісту МДА, GSH та активності всіх досліджуваних ферментів глутатіонової системи (ГР, ГТ, ГП, Г-6-ФД) спостерігалось також на 3 добу після опромінення.

Слід відмітити, що на 14 добу експерименту в печінці тварин лише вміст МДА, GSH та активність Г-6-ФД залишалися підвищеними, тоді як активність решти досліджуваних ферментів знаходилась на рівні контролю.

Введення тваринам спиртового екстракту бджолиного пилку через день протягом 14 днів після одноразового рентгенівського опромінення (рис.3), вже на 3-ю добу викликало зниження вмісту МДА та підвищення активності глутатіонзалежних ферментів і вмісту GSH. На 7-у добу відмічено зменшення вмісту МДА та зниження активності ферментів глутатіонової системи до рівня контролю, що свідчить про нормалізацію функцій антиоксидантної системи печінки тварин.

Таким чином, введення тваринам СЕП на фоні одноразового рентгенівського опромінення сприяло більш ранньому (7-а доба) відновленню антиоксидантної системи, зниженню вмісту МДА в печінці мишей, порівняно з тваринами, що не отримували препарат, для яких спостерігалась лише тенденція до нормалізації досліджуваних показників на 14-у добу експерименту.

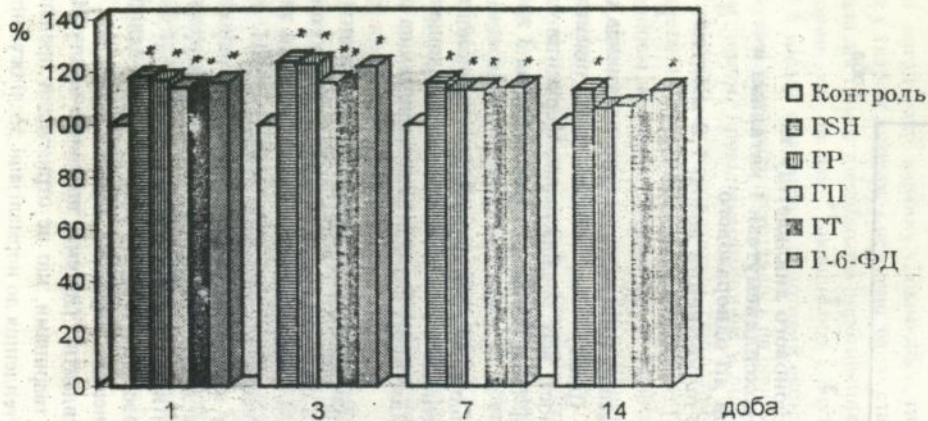


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів в печінці мишей при одноразовому опроміненні дозою 1,8 мКл/кг

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)

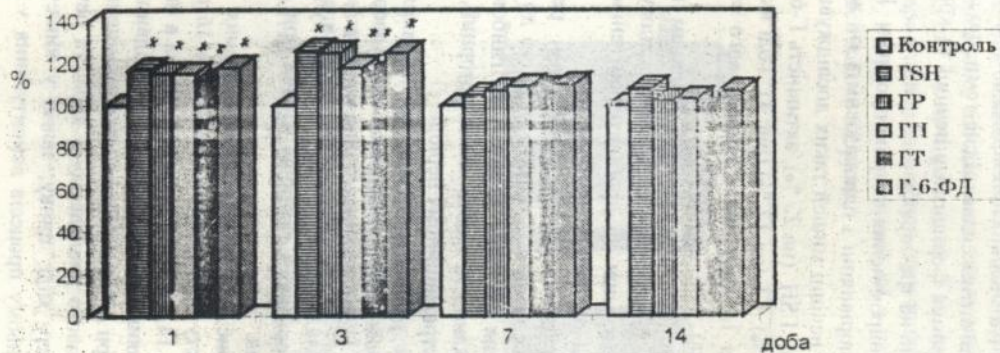


Рис. 3. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів в печінці мишей при дії екстракту бджолиного пилку дозою 1,8 мКл/кг та спиртового опромінення

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)

Отже, іонізуюча радіація в низьких дозах викликає суттєві зміни стану основних компонентів антиоксидантної системи, глибина і спрямованість яких визначається, перш за все, строками після опромінення і величиною дози опромінення. У нашому експерименті одноразове рентгенівське опромінення дозою 1,8 мКл/кг спричиняє активацію процесів ПОЛ та мобілізувало ендогенні антиоксидантні системи, що призводило до збільшення активності окремих ферментів у печінці та крові мишей, максимум змів яких припадало на третю добу.

Дробне рентгенівське опромінення тварин протягом 14 днів сумарною дозою 1,8 мКл/кг в порівнянні з одноразовим в тій же дозі викликало значне підвищення в печінці мишей таких досліджуваних показників: вміст МДА (на 37 %), GSH (на 25 %), активність Г-6-ФД (на 16 %), ГР (на 21 %), ГП (на 19 %), ГТ (на 17 %) (рис.4). Тоді як активність останніх трьох ферментів на 14 добу після одноразового опромінення знаходилась на рівні контролю.

Необхідно підкреслити, що при введенні тваринам протягом 2 тижнів спиртового екстракту бджолиного пилку всі досліджувані показники на 14 добу експерименту при дії дробного рентгенівського опромінення не відрізнялися від контролю.

Наші експерименти свідчать, що в метаболізмі речовин глутатіонзалежна система детоксикації є чутливою ланкою до дії малих доз іонізуючого випромінювання і її зміни вказують на глибоке ураження антиоксидантної системи тканин та мають компенсаторний, стимулюючий характер в ранньому пострадіаційному періоді.

Як відомо, іонізуюча радіація викликає руйнування клітинних мембран, підвищення процесів ПОЛ та вихід тканинних ферментів в сироватку крові. Певну роль в цьому відіграють іони металів із змінною валентністю: залізо і мідь [Владимиров, 1972]. Важливо було дослідити розподіл мікроелементів в органах і тканинах мишей при дії дробного рентгенівського опромінення.

Нами встановлено (рис.5), що дробне опромінення тварин призводило до підвищення вмісту цинку, заліза в печінці на 16 та 20 %, міді, цинку, заліза в селезінці на 14, 18 та 21 % та міді, заліза в нирках на 20 і 15 % відповідно у порівнянні з контролем. Таке підвищення вмісту мікроелементів в органах при дії рентгенівського опромінення позитивно корелює із вмістом малонового діальдегіду в крові та печінці мишей. Відмічене зменшення вмісту міді, цинку, заліза у кишечнику узгоджується з підсиленням в ньому процесів всмоктування у опроміненні тварин [Степанова, 1992].

В умовах екологічного забруднення, крім зростаючого радіаційного фону, істотний внесок у забруднення оточуючого середовища і порушення екологічної рівноваги вносять іони важких металів і їх сполуки. Тому важливо було дослідити і вплив іонів важких металів, зокрема талію, на живі організми на фоні радіаційного опромінення. Талій належить до високотоксичних речовин I класу. Летальна доза сульфату талію для щурів складає 55 мг/кг маси тварин.

Встановлено, що дія іонів талію значно активувала процеси ПОЛ як в крові, так і в печінці мишей. Так, вміст МДА в сироватці крові і печінці тварин при введенні сульфату талію підвищувався на 49 % і 48 % відповідно, а при його поєднаній дії з рентгенівським опроміненням - збільшувався майже в 2 рази.

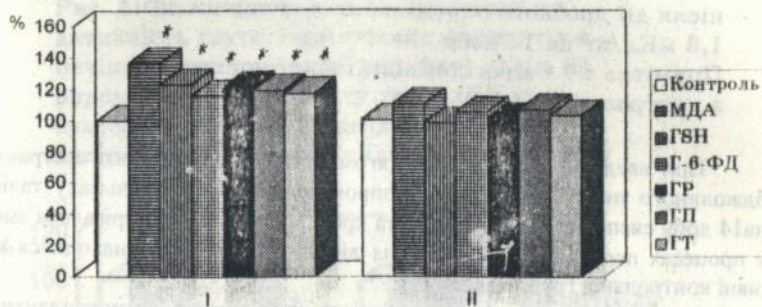


Рис. 4: Вміст малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів після дробного опромінення (I) та дробного опромінення і введення спиртового екстракту бджолиного пилюку (II) на 14 добу

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)

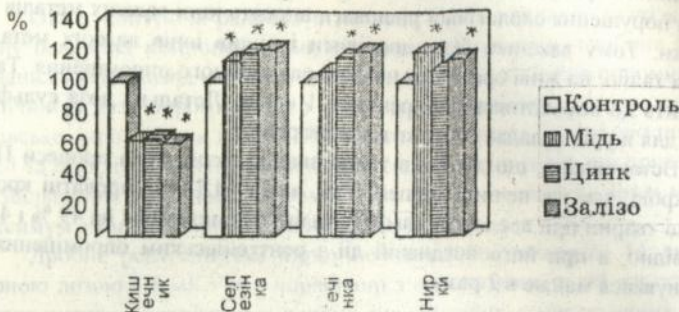


Рис. 5. Вміст мікроелементів в органах мишей після дії дробного опромінення в сумарній дозі 1,8 мКл/кг на 14 добу

Примітка : * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)

При введенні тваринам протягом 2 тижнів спартового екстракту бджолиного пилюки паралельно з опроміненням і дією сульфату талію на 14 добу експерименту в печінці та крові мишей не спостерігалось змін у процесах пероксидного окислення ліпідів. Вміст МДА знаходився на рівні контрольної групи тварин.

Вплив іонів талію на стан деяких компонентів антиоксидантної системи має більш значний негативний ефект в порівнянні з дією рентгенівського опромінення.

Відомо [Ершов Ю.А. и др., 1989], що біологічна дія іонів талію пов'язана із блокуванням вільних SH-груп, яка проявлялась у зниженні вмісту GSH на 18 % (рис.6) в печінці мишей. Зниження вмісту GSH при дії іонів талію пов'язано не тільки з його інактивациєю, а й посиленням використанням у глутатіонпероксидазних і глутатіонтрансферазних реакціях, про що свідчить підвищення їх активності на 51 % і 32 % відповідно.

Нами встановлено (рис.7) зниження активності каталази (залізо-вмісний фермент) на 29 % і піруваткінази (калійзалежний фермент) на 18 % за умов дії іонів талію та його сумісного впливу з рентгенівським опроміненням, яке пояснюється тим, що іони талію здатні заміщувати іони металів (калію, заліза) в активних центрах ферментів і гальмувати їх активність [Спиридонова В.С., 1977].

Іони талію руйнують клітинні мембрани [Левина Е.И., 1972], що супроводжується виходом тканинних ферментів у кров. Нами показано (рис.8) зменшення активності АЛТ і АСТ в печінці (на 32 і 16 %) та збільшення їх активності в сироватці крові мишей (на 43 і 28 %) при струсненні сульфатом талію, а також при його поєднаній дії з опроміненням у порівнянні з контролем.

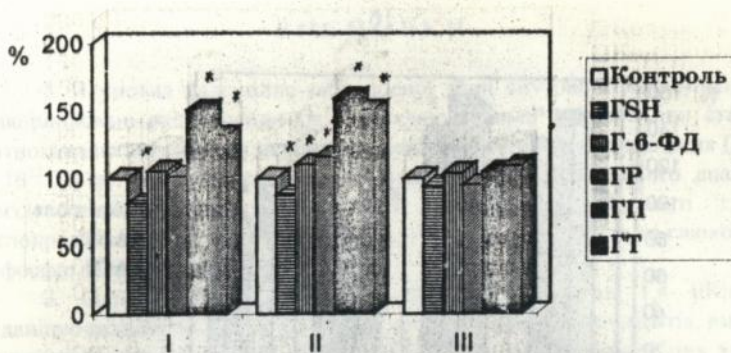


Рис. 6. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів в печінці мишей після дії сульфату талію (I), опромінення та сульфату талію (II), їх сумісного впливу і введення спиртового екстракту бджолиного пилку (III) на 14 добу

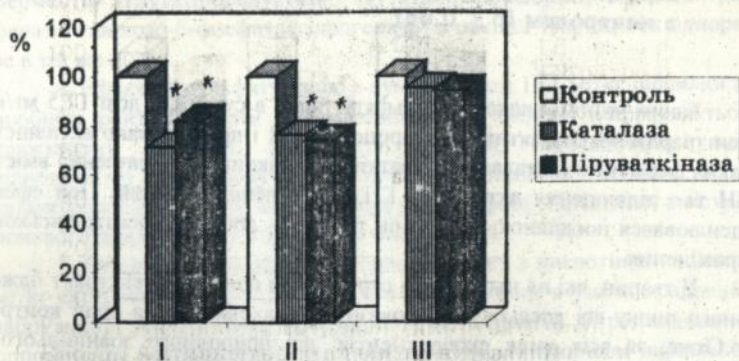


Рис. 7. Активність каталази та піруваткінази в печінці мишей після дії сульфату талію (I), опромінення та сульфату талію (II), їх сумісного впливу і введення спиртового екстракту бджолиного пилку (III) на 14 добу

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)



Рис. 8. Активність амінотрансфераз в сироватці крові і печінці мишей після дії сульфату талію (I) та опромінення і сульфату талію (II) на 14 добу

Примітка: * - вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$)

Таким чином, введення сульфату талію в сумарній дозі 17,5 мг/кг маси тварин значно активувало процеси ПОЛ і пригнічувало активність деяких ферментів (каталаза, піруваткіназа), викликало зменшення вмісту GSH та підвищення активності ГП, ГТ в печінці мишей. Цей ефект посилювався поєднаною дією іонів талію та дробного рентгенівського опромінення.

У тварин, які на цьому фоні отримували спиртовий екстракт бджолиного пілку всі досліджувані показники знаходились на рівні контролю. Отже, за всіх умов експерименту: дія природного зовнішнього і внутрішнього опромінення, одноразового і дробного рентгенівського опромінення та сульфату талію спостерігалась нормалізація процесів ПОЛ, стану основних компонентів антиоксидантної системи в крові і печінці мишей при пероральному введенні СЕП на фоні досліджуваних екзогенних факторів. Показані нами корегуючі властивості СЕП при дії малих доз іонізуючої радіації та сульфату талію доповнюють його антиоксидантний та мембраностабілізуючий вплив, встановлений раніше Печенюк (1993) при токсичному гепатиті і виразковій хворобі шлунку та 12-палої кишки. Такі властивості СЕП можна пояснити наявністю в його складі есенціальних жирних кислот, флавоноїдів та алкалоїдів, які екстрагуються із бджолиного пілку. Сам пілок також володіє антиоксидантними властивостями, що було показано Стародубом Н.Ф. з співавторами (1994) *in vivo* на еритроцитах шурів.

ВИСНОВКИ

1. В умовах радіаційно-забрудненої зони внутрішнє опромінення (інкорпоровані радіонукліди Cs^{137}) викликає більш суттєві зміни стану антиоксидантної системи печінки мишей, ніж зовнішнє опромінення ($2,4 \times 10^{12}$ Бк/км²), про що свідчить збільшення вмісту малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та підвищення активності глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глутатіотрансферази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

2. Одноразове рентгенівське опромінення в дозі 1,8 мКл/кг підвищує активність всіх досліджених антиоксидантних ферментів, вміст малонового діальдегіду в крові та печінці тварин. Максимум цих змін припадає на 3 добу після опромінення. На 14-у добу експерименту в печінці піддослідних тварин лише вміст малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази залишалися відмінними від контрольних показників.

3. Дробне опромінення в сумарній дозі 1,8 мКл/кг протягом двох тижнів викликає вірогідне збільшення вмісту малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та підвищення активності глутатіонзалежчих ферментів (глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) в печінці тварин, ніж одноразове в тій же дозі.

4. Ефект дії сульфату талію в сумарній дозі 17,5 мг/кг підсилюється дробним рентгенівським опроміненням (1,8 мКл/кг) і проявляється у вірогідному зниженні активності каталази, піруваткінази, вмісту відновленого глутатіону і значному підвищенні активності глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази на фоні збільшення вмісту малонового діальдегіду в 1,8 раз в печінці мишей.

5. Спиртовий екстракт бджолиного пилку з кислотним числом 6,5 мг/кг екстракту в дозі 0,3 мл на 30 г маси тварин в умовах радіаційно-забрудненої зони, а також при окремій та поєднаній дії рентгенівського опромінення і сульфату талію на організм мишей проявляє виражені антиоксидантні і радіопротекторні властивості, про що свідчить нормалізація процесів пероксидного окислення ліпідів і стану антиоксидантної системи в крові та печінці мишей.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бевзо В.В., Морозова Т.В., Оплачко Л.Т. Активність ферментів білкового обміну у тварин в умовах підвищеного радіаційного фону// Міжнар. наук. конф. "Навколишнє середовище і здоров'я", тези доп., Чернівці, 1993. - С. 65.
2. Мещинен І.Ф., Григор'єва Н.П., Марченко М.М., Бевзо В.В. Біохімія печінки тварин в умовах забруднення та її корекція// Міжнар. наук. конф. "Навколишнє середовище і здоров'я", тези доп., Чернівці, 1993. - С. 94.

3. Бевзо В.В., Паньків Л.І., Оплачко Л.Т., Мешишен І.Ф. Вплив малих доз радіації та солей талію на обмінні процеси в органах мишей// Матеріали міжнар. симпозіуму "Медико-екологічні проблеми охорони здоров'я в Україні", Чернівці, 1994.- С. 11.
4. Оплачко Л.Т., Бевзо В.В., Костюк С.І. Вплив радіації та іонів талію на показники білково-нуклеїнового обміну// Матеріали наук. конф. викладачів, співробітників та студентів, присвяченої 120-річчю заснування Чернівецького університету, Чернівці, 1995.- Т.3.- С. 36.
5. Бевзо В.В., Оплачко Л.Т. Динаміка стану глутатіонової системи печінки шурів при дії одноразового опромінення в малих дозах та її корекція// VII Укр. біохім. з'їзд, тези доп. Ч.3.- К.: Вид-во НАН України, 1997.- С. 137-138.
6. Бевзо В.В., Григор'єва Н.П., Марченко М.М., Мешишен І.Ф. Стан глутатіонової системи печінки мишей в умовах радіаційно-забрудненої зони та її корекція бджолиним пилком// Доп. НАН України.- 1997.- N 2.- С. 141-146.
7. Бевзо В.В., Марченко М.М., Григор'єва Н.П., Мешишен І.Ф. Поєднана дія рентгенівського опромінення і солей талію на стан глутатіонової системи в печінці мишей та її корекція// Доп. НАН України.- 1997.- N8.- С. 161-164.
8. Бевзо В.В., Григор'єва Н.П. Вплив екстракту бджолиного пилку на стан глутатіонової системи печінки мишей за умов рентгенівського опромінення// Укр. біохім. журн. - 1997.- N4.- С. 125-129.
9. Бевзо В.В., Николук І.Д., Оплачко Л.Т. Вміст макро- і мікроелементів в органах і сироватці крові шурів при дії рентгенівського опромінення та екстракту бджолиного пилку// Науковий вісник Чернівецького університету.- 1997.- Вип. 1. Біологія.- Т. 1.- С. 21-33.
10. Marchenko M., Bevzo V., Kostyshyn S. Oxidating and antioxidating systems of organisms at long term small doses radiation exposure// Proceedings of the international regional seminar "Environment protection: modern studies in ecology and microbiology", Ukraine.- Uzhgorod, 1997.- P. 21-24.

АННОТАЦІЯ

Бевзо В.В. Антиоксидантна система організму мишей при дії малих доз радіації та її корекція екстрактом бджолиного пилку. Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 - біохімія. Чернівецький державний університет ім. Ю.Федьковича, Чернівці, 1997.

Захищається дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, основні положення якої викладені в 10 наукових публікаціях. В дисертації містяться дані про вплив малих доз радіації як в природних, так і в лабораторних умовах на стан компонентів антиоксидантної системи, вміст малонового діальдегіду в організмі мишей та їх корекція екстрактом бджолиного пилку. Встановлено, що головним фактором в підсиленні процесів пероксидного окислення ліпідів та порушенні антиоксидантної системи мишей є вплив внутрішнього опромінення (інкорпоровані радіонукліди) в порівнянні з зовнішнім опроміненням (підвищений природний радіаційний фон).

В лабораторних умовах показано, що дробне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 1,8 мКл/кг протягом двох тижнів призводить до значних змін стану глутатіонової захисної системи і підсилення ПОЛ в порівнянні з одноразовим в тій же дозі. Показано, що дробне рентгенівське опромінення підсилює ефект дії сульфату талію на організм мишей. Встановлені антиоксидантні та радіопротекторні властивості спиртового екстракту бджолиного пилку в умовах впливу іонізуючої радіації, сульфату талію і їх сумісного впливу на організм мишей.

Ключові слова: малі дози радіації, кров, печінка, малоновий діальдегід, антиоксидантна система, миші.

Бевзо В.В. Антиоксидантная система организма мышей при воздействии малых доз облучения и ее коррекция экстрактом пчелиной пыльцы. Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 - биохимия. Черновицкий государственный университет им. Ю.Федьковича, Черновцы, 1997 год.

Защищается диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, основные положения которой изложены в 10 научных публикациях. В диссертации содержатся данные о воздействии малых доз радиации, как в природных, так и в лабораторных условиях на состояние основных компонентов антиоксидантной системы, содержание малонового диальдегида в организме мышей и их коррекция спиртовым экстрактом пчелиной пыльцы. Установлено, что главным фактором в усилении процессов пероксидного окисления липидов и нарушении антиоксидантной системы организма мышей является воздействие внутреннего облучения (инкорпорированные радионуклиды) в сравнении с внешним облучением (повышенный естественный радиационный фон).

В лабораторных условиях показано, что фракционированное рентгеновское облучение в суммарной дозе 1,8 мКл/кг на протяжении двух недель приводит к значительным изменениям состояния глутатионовой защитной системы и усилению ПОЛ в сравнении с одноразовым в той же дозе. Установлено, что фракционированное рентгеновское облучение усиливает эффект действия сульфата таллия на организм мышей. Установлены антиоксидантные и радиопротекторные свойства спиртового экстракта пчелиной пыльцы в условиях воздействия ионизирующей радиации, сульфата таллия и их совместного влияния на организм мышей.

Ключевые слова: малые дозы радиации, кровь, печень, малоновый диальдегид, антиоксидантная система, мыши.

ABSTRACT

Bevzo V.V. The mice anti-oxidative system in the condition of influence of small doses of radiation and its correction by bee-pollen extraction. Manuscript. A dissertation submitted for the degree of Candidate of Biological Sciences, specialization 03.00.04 - Biochemistry, Chernivtsi, 1997.

The thesis for the scientific degree of Candidate of Biological Sciences is defended. The results of this thesis are exposed in 10 scientific publication. A thesis consists of results and data regarding influence of small doses of radiation on the main components of antioxidation system and malonyl dialdehyde content both for natural and laboratory conditions. The possibility of correction of antioxidant systems state of mice which were exposed to small doses of radiation by means of alcohol extract of bee-pollen has been found. The inner radiation of incorporated radio-nuclides was found to be the main destructive factor regarding speeding up of the lipid peroxidation. In the same time defeat of antioxidation system of mouse while influence of external radiation was found to be lesser.

It was proven that fractionated X-rays radiation in total dose of 1,8 mKl/kg during for the two weeks led to significant changes in the state of glutathione system and speeding up processes of lipid peroxidation in comparison to the same but nonfractionated radiation at the same conditions. It was found that fractionated of the X-rays radiation increased the effects of the Tl sulphate on organisms of the mice. Were possibility antioxidative and radioprotection properties of bee-pollen alcohol extraction at the condition of Tl sulphate and X-radiation separate and joint action on the mouse organism.

Key words: small doses of radiation, blood, liver, malonyl dialdehyde, antioxidation system, mice.

Bevzo

Підписано до друку 17.10.97.
Формат 60x84/16.Папір друкарський.
Друк офсетний. Ум.друк.арк. 1,1.
Обл.-вид. арк. 1,2. Тираж 100 прим.
Зам. 337.

Друкарня видавництва "Рута" Чернівецького держуніверситету
274012, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2

433870
AB 38.701