

Є.М. Горбань,
І.М. Звягольська

Інститут геронтології
АМН України,
м. Київ
Українська медична
стоматологічна академія,
м. Полтава

Зміни процесів пероксидації в організмі морських свинок унаслідок гамма-опромінення та їх корекція за допомогою пептидного екстракту, виділеного з еритроцитів

The change of peroxidation processes
in the guinea-pig organism as a result
of gamma-ray action and their correction
with the help of peptid complex derived
from erythrocytes

Цель работы: Изучить изменения процессов пероксидации в организме морских свинок, обусловленные влиянием однократного и хронического гамма-облучения, и исследовать возможность их коррекции с помощью пептидного экстракта, выделенного из эритроцитов (ПЭЭ) крупного рогатого скота.

Материалы и методы: На 120 морских свинках проведено 4 серии экспериментов. В каждой выделены четыре группы животных: **а** – контроль; **б** – облучение; **в** – облучение + физраствор; **г** – облучение + ПЭЭ. Животных групп **б**, **в** и **г** 1-й и 2-й серий подвергали хроническому облучению в течение 6 суток (ежедневная доза 1 Гр, кобальтовая пушка АГАТ-2), а 3-й и 4-й серий – однократному облучению в дозе 4, 5 Гр. Во всех 4 сериях облученным животным группы **г** вводили в/м ПЭЭ, полученный по оригинальному методу, из расчета 0,1 мг на 1 кг массы животного в сутки. При этом животным 1-й и 2-й серий ПЭЭ вводили в течение 6 суток параллельно с облучением, 3-й серии – в течение 6 суток после однократного облучения, а животным 4-й серии – в течение 14 суток после однократного облучения. Облученным животным группы **в** всех 4 серий по аналогичным схемам вводили физраствор. Определяли в крови уровень малонового диальдегида, активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (Кат); исследовали перекисную резистентность эритроцитов (ПРЭ). Кровь для исследования брали у животных 1-й и 3-й серий на 7-е сутки исследования, 2-й серии – через 12, а 4-й серии – через 14 суток от начала эксперимента.

Результаты: Не выявлено различий исследованных показателей у облученных животных групп **б** и **в** всех четырех серий, поэтому они для удобства представления результатов объединены в группу **б-в**. У животных этой группы, подвергнутых облучению, по сравнению с группой **а** (контроль), в 1-й и 2-й сериях наблюдалось угнетение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ); в 3-й серии – активация ПОЛ на фоне снижения активностей антиоксидантных ферментов; в 4-й серии – повышенные активности антиоксидантных ферментов.

Введение ПЭЭ облученным животным группы **г** дало следующий эффект по сравнению с группой **б-в**: в 1-й серии восстановление уровня МДА в крови без существенного изменения остальных показателей; во 2-й – существенное повышение активности СОД; в 3-й – отсутствие положительного эффекта, в 4-й – максимальный корригирующий эффект: существенное снижение интенсивности ПОЛ с одновременным повышением активности СОД.

Выводы: Выраженность сдвигов показателей процессов пероксидации у морских свинок, подвергнутых гамма-облучению, определяется его дозой, кратностью облучения и сроками наблюдения после облучения. Введение животным ПЭЭ оказывает корригирующее влияние на указанные сдвиги, степень выраженности которого также зависит как от вышеуказанных факторов – дозы, кратности облучения и сроков наблюдений, – так и от длительности введения ПЭЭ.

Ключевые слова: процессы пероксидации, гамма-излучение, пептидный комплекс из эритроцитов, коррекция.

Objective: To study the changes of peroxidation processes in the organism of guinea-pigs caused by the influence of single and chronic gamma-irradiation and to investigate the possibility of their correction with the help of the peptid extract, received from erythrocytes (PEE).

Material and Methods: Four series of experiments were carried out with 120 guinea-pigs. Four groups of animals participated in each series: **a** – control; **b** – irradiation; **c** – irradiation + isotonic NaCl solution injection; **d** – irradiation + PEE injection.

The animals of group **b**, **c** and **d** of the 1st and 2nd series were irradiated with gamma-rays during 6 days (every day dosage being 1 Gy, Cobalt unit "AGAT-2"), and of the 3rd and 4th series were irradiated once at the dose of 4.5 Gy. In all 4 series the irradiated animals of group **d** were injected intramuscularly by PEE, received with the original method 0.1 mg one body mass kilogram per day. The animals of the 1st and 2nd series were injected PEE for 6 days simultaneous to irradiation; the animals of the 3rd series were injected PEE for 6 days after single irradiation; the animals of the 4th series were injected PEE for 14 days after a one-time irradiation. The irradiated animals of group **c** of all series of experiments were injected isotonic NaCl solution according to the same protocol.

The blood level of the malonic dialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity were estimated; peroxid resistance of erythrocytes (PRE) was studied.

The blood for the investigation was taken from the animals of the 1st and 3rd series on the 7th day of the research; of the 2nd series – 12 days after the beginning of the experiment; of the 4th series – 14 days after the beginning of the experiment.

Results: No differences between investigated indices in groups **b** and **c** of irradiated animals were noticed in all series of experiments, therefore the indices of these series was similar in groups **b-c**. In the irradiated animals of group **b-c** in series 1st and 2nd inhibition of lipid peroxidation (LPO) was observed; the 3rd series animals had tendency to activation of LPO against a background of enzymes antioxidant activity reduction; in series 4th the activity of antioxidant enzymes was increased. The injection of PEE to the irradiated animals (group **d**) compared to group **b-c** in the 1st series restored of PRE and did not change essentially the other indices; in the 2nd series it increase SOD activity; in the 3rd series no positive effect of PEE injection was noticed; in the 4th series it produced maximal corrective effect: considerable decrease of LPO intensity with simultaneous increase of SOD activity.

Conclusion: The expressiveness of the data changes of peroxidation processes in gamma-irradiated guinea-pigs is evaluated with the dosage, irradiation repeating times and the days of the observation after irradiation. PEE injection slows the correcting influence of the changes mentioned, the degree of its effectiveness depending on the factors mentioned above: dosage, irradiation repeating times, the dates of observation and duration of PEE injection.

Key words: peroxidation processes, gamma-irradiation, peptid complexes from erythrocytes, correction.

Результатами досліджень останніх років доведено існування сполук пептидної природи, які відіграють регуляторну роль у метаболічних і фізіологічних процесах та адаптогенну—у випадках дії на організм ушкоджувальних факторів. Для визначення таких сполук запропоновано ряд синонімічних термінів: «регуляторні пептиди» [1–3], «малі регуляторні пептиди» [4], «поліпептиди-біорегулятори» [5], «біологічні регулятори» [6] тощ. Доведено також, що зазначені пептидні сполуки являють собою природні метаболіти і беруть участь у численних метаболічних та фізіологічних процесах, погоджуючи і коригуючи їх складові на різних структурно-функціональних рівнях організації живого, від субклітинних утворень до цілісного організму [1–6].

За умов дії на організм багатьох несприятливих чинників, зокрема, йонізуючого випромінювання, одним з інтегральних показників, який відображає стан адаптаційних систем організму, є зміна співвідношення компонентів окисно-антиоксидантної системи гомеостазу, а також інтенсивності вільнорадикального окиснення біомолекул, стан системи антиоксидантного захисту організму [7, 8].

Метою даної роботи стало вивчення змін процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі морських свинок, зумовлених впливом одноразового й хронічного гамма-опромінювання (опромінення) та дослідження можливості їх корекції за допомогою пептидного екстракту, виділеного з еритроцитів (ПЕЕ) великої рогатої худоби.

Методика дослідження

Досліди проведено на 120 морських свинках-самцях масою 350–400 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Проведено чотири серії експериментів. У кожній виділено чотири групи тварин: **а** – контроль; **б** – опромінювання; **в** – опромінювання + фізрозчин; **г** – опромінювання + ПЕЕ. Тварин груп **б**, **в**, **г** – 1-ї та 2-ї серій піддавали хронічному опромінюванню протягом 6 діб (щоденна доза 1 Гр), а 3-ї та 4-ї серій – одноразовому – в дозі 4,5 Гр. Опромінювання тварин здійснювали за допомогою гамма-терапевтичного апарата (кобальтової пушки) АГАТ-2 (відстань між джерелом випромінювання і об'єктом опромінювання – 0,75 м, потужність експозиційної дози – 102 рентгени за 1 хвилину).

У всіх 4 серіях опроміненим тваринам групи **г** вводили внутрим'язово ПЕЕ, одержаний за оригінальним методом, розробленим у Центральній науково-дослідній лабораторії Української медичної стоматологічної академії [9], з розрахунку 0,1 мг на 1 кг маси на добу. При цьому тваринам 1-ї та 2-ї серій ПЕЕ вводили протягом 6 діб паралельно з опромінюванням, піддослідним 3-ї і 4-ї серій – відповідно протягом 6 та 14 діб після одноразового опромінювання. Опроміненим тваринам групи **в** усіх 4 серій за аналогічними схемами вводили фізіологічний розчин.

Дослідження системи окисно-антиоксидантного гомеостазу проведено з використанням загальноприйнятих методів визначення в крові рівнів сполук, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів) і відображують концентрацію малонового діальдегіду (МДА), активності супероксиддисмутази (СОД) та каталази (Кат), з дослідженням перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) [10].

Кров для дослідження забирали з правого передсердя під гексеналовим наркозом – у тварин 1-ї та 3-ї серій експериментів – на 7-му добу дослідження, у 2-ї та 4-ї серій через 12 та 14 діб від початку експерименту відповідно.

Одержані результати оброблено з використанням стандартних статистичних методів [11].

Результати та їх обговорення

Встановлено, що ступінь зрушень досліджених показників в системі окисно-антиоксидантного гомеостазу в опромінених тварин усіх 4 серій визначався дозою та кратністю опромінювання, а також термінами спостереження після радіаційного впливу.

У тварин групи **б-в** 1-ї та 2-ї серій, підданих впливу хронічного опромінювання протягом 6 діб, як на 7-му добу після початку експерименту (тобто, через 1 добу після завершення 6-добового опромінювання), так і на 12-ту добу (тобто через 6 діб після його завершення), спостерігалось пригнічення процесів ПОЛ.

Аналіз зрушень досліджених показників у тварин, підданих одноразовому опромінюванню в дозі 4,5 Гр, свідчить, що через 7 діб після радіаційного впливу (група **б-в** 3-ї серії) істотно підвищувалась активність ПОЛ (вірогідне зростання рівня продуктів вільного перекиснення) на фоні послаблення антиоксидантного захисту (вірогідне зниження активностей СОД і Кат). Через 2 тижні після одноразового опромінювання (група **б-в** 4-ї серії) вже не спостерігалось ознак активації реакцій пероксидації, при підвищенні активності СОД. Найбільш відчутними були зміни таких

показників, як приріст МДА, резистентність еритроцитів до перекисного гемолізу, активності СОД та Кат. Тому аналіз динаміки досліджених показників системи окисно-антиоксидантного гомеостазу у тварин групи **б-в** усіх 4 серій, підданих впливу хронічного або одноразового опромінювання, проведено у порівнянні з даними, отриманими в групі **а** усіх 4 серій (контроль), саме за вказаними показниками, що видно з таблиці.

Введення ПЕЕ тваринам усіх серій експерименту (група **г**) справило нетотожні ефекти на досліджені показники системи окисно-антиоксидантного гомеостазу.

У 1-й серії – хронічне опромінювання тварин протягом 6 днів, взяття крові для дослідження на 7-му добу – коригувальний ефект введення ПЕЕ був відсутній.

У 2-й серії експериментів – хронічне опромінювання протягом 6 днів, взяття крові для дослідження через 12 днів від початку опромінювання – зафіксовано істотний позитивний ефект введення ПЕЕ відносно активності одного з провідних ферментів антиоксидантного захисту – підвищення активності СОД.

Відсутність коригувальної дії застосування ПЕЕ зареєстровано у тварин 3-ї серії, при 6-денному його введенні тваринам, підданим одноразовій дії випромінювання.

У тварин 4-ї серії, яким ПЕЕ вводили впродовж 14 днів після одноразового опромінювання, виявлено значний коригувальний ефект: ознаки зниження інтенсивності реакцій ПОЛ за переважною кількістю досліджених показників.

Таким чином, ступінь коригувального впливу введення ПЕЕ на показники стану процесів ПОЛ у крові морських свинок, підданих гамма-опромінюванню, залежить, як і сам характер зрушень, зумовлених дією радіаційного чинника, від дози і кратності опромінювання, тривалості введення зазначеного пептидного екстракту та термінів спостереження після опромінювання.

Виявлення коригувального впливу ПЕЕ на процеси пероксидації за умов дії на організм гамма-випромінювання дозволяє зробити висновок про перспективність подальшого вивчення дії пептидних субстанцій природного походження як потенційних лікарських засобів.

Зміни показників стану процесів пероксидації в крові морських свинок унаслідок дії гамма-опромінювання та введення пептидного екстракту, виділеного з еритроцитів
The changes in peroxidation processes in the blood of guinea pigs caused by gamma-rays and injection of PEE

Показник		Дробне опромінювання, серія						Одноразове опромінювання, серія					
досліджений	статистичний	1			2			3			4		
		а	б-в	г	а	б-в	г	а	б-в	г	а	б-в	г
Рівень МДА, мкмоль/л	$M \pm p_1$ p_z	9,91 0,15	6,34 0,08 <0,05	10,40 1,31 >0,05 <0,05	15,56 1,23	11,18 0,82 <0,05	28,82 2,06 <0,001 <0,001	9,91 0,15	19,67 1,09 <0,001	19,21 1,82 <0,001 >0,05	9,48 0,28	10,88 1,21 >0,05	7,16 0,08 <0,05 <0,01
ПРЕ, % гемолізу	$M \pm p_1$ p_z	3,32 0,52	4,39 0,41 >0,05	4,14 0,48 >0,05 >0,05	3,14 0,05	2,49 0,17 <0,01	2,20 0,15 <0,001 >0,05	3,32 0,52	3,96 0,25 >0,05	6,44 0,50 <0,01 <0,01	7,18 0,05	4,15 0,08 <0,001	5,19 0,16 <0,001 <0,001
Активність СОД, умов. од.	$M \pm p_1$ p_z	0,86 0,04	0,65 0,03 <0,01	0,74 0,04 <0,05 >0,05	0,78 0,03	0,62 0,04 <0,01	1,06 0,09 <0,05 <0,001	0,86 0,04	0,39 0,09 <0,002	0,35 0,02 <0,001 >0,05	0,55 0,06	0,86 0,08 <0,01	0,97 0,10 <0,01 >0,05
Активність каталази, умов. од.	$M \pm p_1$ p_z	14,60 0,67	11,93 0,48 <0,05	10,48 0,95 <0,01 >0,05	7,10 0,09	9,12 0,08 <0,001	6,11 0,83 >0,05 <0,01	14,60 0,67	8,69 1,57 <0,02	3,22 1,03 <0,001 <0,05	9,10 0,46	9,56 0,28 >0,05	7,29 0,39 <0,02 <0,01

Примітка: Вірогідність відмінностей між величинами показників: p_1 – у групі інтактних (група **а**) і групах тварин, які зазнали дії гамма-випромінювання; p_z – у групах **б-в** і **г**.

Висновки

1. Зрушення в перебігу реакцій пероксидації в морських свинок, підданих дії гамма-випромінювання, зумовлюються дозою, кратністю опромінення та термінами спостереження після його завершення.

2. Введення тваринам ПЕЕ коригувально впливає на зміненій унаслідок опромінення рівень активності процесів пероксидації. Ступінь коригувального впливу введення вказаного екстракту на відновлення досліджених показників в системі пероксидації залежить, як і сам характер виявлених зрушень, від дози і кратності опромінення, тривалості введення зазначеного пептидного екстракту та термінів спостереження після радіаційної дії.

3. Доцільне подальше вивчення дії пептидних субстанцій природного походження на різні складові адаптаційних реакцій за умов впливу на організм іонізуючого випромінювання.

Література

1. Ашмарин И.П. // Эвол. биохим. и физиол. – 1982. – № 1. – С. 3-10.
2. Громов Л.А. Нейропептиды. – К.: Здоров'я, 1992. – 248 с.
3. Гомазков О.А. // Вестн. Рос. АМН. – 1995. – № 2. – С. 10-12.
4. Ашмарин И.П. // Вопр. мед. хим. – 1984. – № 3. – С. 2-7.
5. Кайдашев І.П. // Фізіол. журн. – 1994. – Т. 40, № 1. – С. 51-63.
6. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. // Успехи совр. биол. – 1983. – Т. 96, № 6. – С. 339-352.
7. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. – 256 с.
8. Барабой В.А., Сутовой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под ред. Ю.А. Зозули. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с.
9. А.с. № 93080807 Заявл. 29.06.93. Опубл. 29.12.94. Бюл. 8-1. А.61.К 37/02. Патент України № 5743. Препарат тканинних біологічно активних речовин, який має регенераторну дію, та спосіб його одержання / Кайдашев І.П., Катрушов О.В., Цебржинський О.І. та ін.
10. Беркало Л.В., Бобович О.В., Боброва Н.О. та ін. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині / За ред. І.П.Кайдашева, В.М. Соколенко, О.В. Катрушова. – Полтава: УМСА, 1997. – 271 с.
11. Румшинский И.З. Математическая обработка результатов эксперимента. – М., 1971. – 216 с.

Дата надходження: 20.03.2000.

Дата остаточного надходження: 20.05.2002.

Адреса для листування:

Горбань Євген Миколайович,
відділ медичної науки МОЗ України, вул. Грушевського, 7,
Київ, 01021, Україна