

Н.Є. Узленкова

ДУ Інститут медичної
радіології ім. С.П. Григор'єва
АМН України,
Харків

Особливості змін колагену в органах щурів за умов одноразової дії зовнішнього ікс-опромінення

Peculiarities of collagen changes in the organs
of rats at single x-ray exposure

Цель работы: Изучить особенности изменения коллагена в легких и коже крыс при одноразовом действии внешнего рентгеновского облучения в минимальнолетальной и среднелетальной дозах.

Материалы и методы: Эксперименты проводились на 178 белых крысах-самцах массой 160–180 г. Животных подвергали однократному тотальному рентгеновскому облучению на установке РУМ-17 при стандартных условиях. Поглощенные по мягким тканям дозы составляли 4,0 и 6,2 Гр. Количественные изменения коллагена в органах крыс оценивали по определению общего содержания коллагена и коллагена отдельных фракций в реакции окисления гидроксипролина с хлорамин-Т. В плазме крови определяли уровень КЛА и содержание свободного и связанного с коллагеноподобным белком крови гидроксипролина. О скорости гидролиза коллагена судили по уровню гидроксипролина в 2 часовых гидролизатах тканей при прямом кислотном гидролизе с соляной кислотой в молярной концентрации 6 моль/л. Исследования проводили на 3-и, 7-е и 14-е сутки и через 1, 3 и 6 месяцев после воздействия. Возрастной контроль использовали на каждый срок исследований. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием пакета программ Biostatistics v.4.03 для Windows.

Результаты: Установлено, что изменения коллагена в органах крыс в результате однократного внешнего рентгеновского облучения в дозах 4,0 и 6,2 Гр в ранние сроки (3–7-е сутки) характеризовались нарушением соотношения отдельных фракций растворимого коллагена в зависимости от типа ткани и возрастом в легких коллагена фракции I в 1,7 раза и в коже — коллагена фракции II в 1,4 раза. Выявленные изменения не зависели от дозы облучения и сопровождалось повышением уровня КЛА в среднем в 2 раза с одновременным возрастанием в 2,5 и 1,8 раза фракций свободного и белковосвязанного гидроксипролина в крови. В поздние сроки (3–6 месяцев) после облучения установлено повышение содержания суммарного коллагена в легких в 1,2 раза и в коже — в 1,4 раза с устойчивым накоплением коллагена нерастворимой фракции в обоих органах.

Выводы: Однократное внешнее рентгеновское облучение в минимальнолетальной и среднелетальной дозах вызывает длительное повышение интенсивности обмена коллагена и закономерные изменения его содержания в органах крыс, которые по своему характеру и направленности не зависят от дозы облучения, но зависят от типа ткани и времени после облучения.

Ключевые слова: внешнее рентгеновское облучение, легкие, кожа, соединительнотканый матрикс, коллаген.

Ключові слова: зовнішнє ікс-опромінювання, легені, шкіра, сполучнотканинний матрикс, колаген.

Нині не викликає сумніву значна роль сполучної тканини в адаптації організму до змін у навколишньому середовищі, зокрема й до дії радіаційних факторів. Одним з основних компонентів сполучної тканини є колагенові струк-

Objective: To investigate the peculiarities of collagen changes in the lungs and skin of the rats due to single x-ray external irradiation at a minimum and medium lethal doses.

Material and Methods: The experiments were performed on 178 white male rats weighing 160–180 g. The animals were exposed to single total x-ray irradiation using RUM-17 unit under standard conditions. The doses absorbed by soft tissues were 4.0 and 6.2 Gy. Quantitative changes in the collagen in the rat organs were assessed according to the amount of total collagen and collagen of separate fractions in reaction of hydroxyproline oxidation with chloramine-T. Collagenolytic activity as well as free and bound with collagen-like blood protein blood hydroxyproline were investigated. Collagen hydrolysis rate was estimated according to hydroxyproline level in 2-hour hydrolyzates of the tissue at direct acid hydrolysis with hydrochloric acid in molar concentration of 6 mol/l. The study was performed on days 3, 7, 14 and 1, 3, 6 months after the exposure. Age-matched controls were taken for each term of the study. Statistical processing of the obtained findings was done using Biostatistics v.4.03 for Windows.

Results: It was established that the changes of collagen in the organs of rats caused by single external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy in early terms (day 3 – 7) were characterized by disorders in the ratio of several fractions of soluble collagen depending on the type of tissue as well as 1.7-fold increase of collagen I fractions in the lungs and 1.4-fold increase of collagen II amount in the skin. The revealed changes did not depend on the dose and were accompanied by 2-fold increase of CLA amount with 2.5-fold and 1.8-fold elevation of free and protein-bound hydroxyproline in the blood. In late terms (3–6 month) after the exposure 1.2-fold increase of total collagen amount in the lungs and 1.4-fold increase of its amount in the skin with stable accumulation of insoluble collagen in the both organs were established.

Conclusion: Single external x-ray exposure to minimal lethal and mean lethal doses causes prolonged elevation of collagen metabolism intensity and regular changes of its content in the organs of rats, which do not depend on the dose in character and tendency, but depend on the type of the tissue and time after the exposure.

Key words: external x-ray exposure, lungs, skin, connective-tissue matrix, collagen.

тури, які становлять майже третину білків організму і виконують різноманітні біологічні функції. На сьогодні колагенові надмолекулярні структури віднесено до інформаційних систем щодо діяльності клітин, з якими вони контактують.

Будучи мікрооточенням клітин будь-якого типу та формуючи архітектуру позаклітинного матриксу, вони забезпечують процеси морфогенезу, цитодиференціювання, руху клітин та механічну міцність усіх органів [1, 2]. Кожна клітина має рецептори до колагенових структур на поверхні своєї мембрани. Взаємодія колагену з поверхневими рецепторами змінює мембранний потенціал клітини, впливаючи цим самим на спрямованість у ній біохімічних процесів [3]. Утворюючи нековалентні комплекси з деякими ферментами, колагени через регуляцію їхньої активності можуть опосередковано впливати на метаболічні процеси, тому зміни в структурі та метаболізмі колагену супроводжують майже кожний патологічний процес [4, 5]. Модифікувальний вплив радіації на структуру молекули колагену визначали в багатьох експериментальних роботах, але більшість із них були виконані *in vitro* [6, 7]. У досліджах *in vivo* вивчали зміни в структурі поліпептидних ланцюгів колагену кістки та шкіри щурів за умов комбінованого одночасного впливу зовнішнього та внутрішнього опромінення у малих дозах [8, 9], а також впливу пролонгованого хронічного опромінення у тварин в Чорнобильській зоні відчуження [10]. У клінічних дослідженнях встановлені радіаційно-індуковані зміни синтезу колагену у шкірі пацієнтів, які виникали під впливом радіотерапії і зберігалися протягом тривалого часу після опромінення [11, 12]. Водночас про зміни колагену за дії зовнішнього опромінення у значних дозах повідомляється лише в окремих працях [13]. Тим часом, дослідження характеру змін колагену за умов різних внутрішніх та позаклітинних порушень, які виникають унаслідок дії загального зовнішнього опромінення у значних дозах, залишаються актуальними. З огляду на це, у даній роботі метою стало вивчення особливостей змін колагену у легенях та шкірі щурів за умов дії одноразового зовнішнього ікс-опромінення у мінімальній та середньолетальній дозах.

Методика дослідження

Експерименти були проведені на 178 білих щурах-самцях масою 160–180 г, яких утримували за стандартних умов на звичайному раціоні віварію. Використовували

модель одноразового загального ікс-опромінення тварин у поглинутих м'якими тканинами дозах 4,0 Гр і 6,2 Гр. Загальне зовнішнє ікс-опромінення тварин здійснювали на установці РУМ-17 при стандартних технічних умовах: напруга — 200 кВ, сила струму — 10 мА, фільтр — 0,5 мм Cu + 1 мм Al, тубус F-40, потужність дози 0,554 Гр/хв, $E_{\text{ср}} = 80,3$ кеВ. Потужність поглинутої дози дорівнювала 0,64 Гр/хв. Тварин контрольної групи піддавали псевдоопроміненню. Досліди проводили на 3-тій, 7-му та 14-ту добу, а також через 30, 90 і 180 днів (1, 3 і 6 місяців) після опромінення. В ці терміни тварин у кожній групі декапітували з дотриманням правил евтаназії. Контрольна група була використана для кожного терміну досліджень, оскільки це дозволило враховувати вікові зміни в умовах тривалого експерименту.

Особливості змін колагену у легенях і шкірі щурів оцінювали за визначенням концентрації сумарного колагену, а також його окремих фракцій. Колаген фракціонували за методом послідовної екстракції розчинами з різною іонною силою [14]. Фракцію I одержували за допомогою розчину натрію хлориду в молярній концентрації 2 моль/л на фосфатному буфері (молярна концентрація 0,04 моль/л, рН = 7,0) з 0,04 % Твін 20 (PBS-Tween 20), фракцію II — цитратним буфером з молярної концентрацією 0,35 моль/л, рН = 4,3. Для одержання нерозчинного колагену (НК) осад суспендували у розчині вуглекислого амонію у молярній концентрації 0,2 моль/л і проводили гідроліз з трипсином (100 мг ТРСК, Worthington Biochemicals, Freehold, NJ). Кількісно колаген у кожній окремій фракції визначали за методом окиснювання гідроксипроліну в його реакції з хлораміном T [15]. Для визначення інтенсивності обміну колагену оцінювали концентрацію у крові вільної та зв'язаної з колагеноподібним білком фракції гідроксипроліну [16], а також колагенолітичну активність крові [17]. За рівнем гідроксипроліну у 2-годинних гідролізатах судили про швидкість гідролізу колагену, у 6-годинних — про сумарну кількість колагену (СК) у тканині. Виконували прямий гідроліз тканин у розчині хлористоводневої кислоти в молярній концентрації 6 моль/л. Стандартом слугував гідроксипролін фірми Reanal. Отримані дані статистично опрацьовували за допомогою пакета Biostatistics v.4.03 для Windows з використанням непараметричного критерію Манна—Уїтні, множинного порівняння за критерієм Крускала—Уолліса з поправкою Данна, а також t-критерію Стьюдента. Для оцінки кореляційних залежностей розраховували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена.

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження дозволили охарактеризувати зміни колагену та його складу у сполучній тканині органів щурів унаслідок дії однократного загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 та 6,2 Гр. Було доведено, що встановлені радіаційні зміни з боку колагену за своїм характером не залежали від дози опромінення, але відрізнялися в залежності від типу тканини та часу, який минув після опромінювання. Одержані результати представлені у табл. 1, 2. Як можна побачити з наведених даних, у ранній період після опромінювання загальна концентрація сумарного колагену в легенях і шкірі тварин не зазнавала суттєвих змін, але відбувалося зростання вмісту

розчинних колагенів та порушення співвідношень їх фракцій. Так, у легенях характерною ранньою реакцією на опромінення було максимальне зростання розчинного колагену фракції I, здатного найбільш легко екстрагуватися з тканини, та зниження при цьому розчинного колагену фракції II, який екстрагували з тканини розчинами зі зниженою іонною силою. На 3-тю і 7-му добу після опромінювання вміст розчинного колагену фракції I складав відповідно $(36,4 \pm 2,1) \%$ і $(34,1 \pm 2,6) \%$ та $(40,1 \pm 4,2) \%$ і $(34,3 \pm 2,0) \%$ від рівня сумарного колагену у тканині проти $(21,5 \pm 1,6) \%$ і $(21,8 \pm 1,5) \%$ у контролі. На відміну від цього, в шкірі щурів вміст колагену цієї фракції залишався зниженим, але вірогідно зростав вміст колагену фракції II, у середньому, в 1,4 разу (див. табл. 2).

Далі вміст метаболічно активного колагену фракції I у легенях знижувався порівняно з ранніми строками спостережень, але вірогідно перевищував рівень контрольних величин у легенях в 2,2 разу та у шкірі в 1,3 разу у віддалені терміни на 90-ту та 180-ту добу після опромінювання. Як можна побачити з наведених даних, характерним для віддаленого післярадіаційного періоду було стійке зростання концентрації сумарного колагену та переважне накопичення нерозчинних форм колагену у тканинах. На завершальному етапі досліджень рівень сумарного колагену у легенях та шкірі опромінених тварин перевищував рівень контрольних значень у середньому в 1,5 разу. При цьому вміст колагену нерозчинної фракції зростав відносно рівня сумарного колагену

Таблиця 1

Вміст колагену в легенях щурів за умов одноразової дії загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр (мкмоль гідроксипроліну/г тканини)
Collagen amount in the lungs of the rats at single external x-ray irradiation at a dose of 4.0 and 6.2 Gy (μmol of hydroxyproline / g of tissue)

Термін, доба	Колаген, фракція	n	Контроль	Опромінення 4,0 Гр		Опромінення 6,2 Гр	
			$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	p	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	p
3	Фракція I	9	$9,2 \pm 0,7$	$14,4 \pm 0,9$	0,010	$17,3 \pm 1,8$	0,001
	Фракція II	9	$3,5 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,3$	0,115	$3,2 \pm 0,2$	0,010
	НК	9	$25,8 \pm 1,9$	$24,3 \pm 1,4$	0,157	$26,8 \pm 1,5$	0,118
	СК	9	$42,6 \pm 2,9$	$43,3 \pm 2,8$	0,864	$51,1 \pm 3,7$	0,916
7	Фракція I	10	$8,3 \pm 0,6$	$12,6 \pm 1,1$	0,010	$13,0 \pm 0,9$	0,010
	Фракція II	10	$3,5 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,2$	0,001	$2,7 \pm 0,3$	0,001
	НК	10	$25,2 \pm 1,9$	$28,9 \pm 2,1$	0,425	$28,7 \pm 1,7$	0,847
	СК	10	$38,0 \pm 3,0$	$46,8 \pm 3,2$	0,286	$48,8 \pm 4,7$	0,249
14	Фракція I	9	$8,6 \pm 0,7$	$9,7 \pm 1,1$	0,411	$12,3 \pm 0,8$	0,003
	Фракція II	9	$3,9 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,4$	0,435	$3,3 \pm 0,3$	0,176
	НК	9	$26,4 \pm 1,6$	$30,7 \pm 2,5$	0,166	$33,7 \pm 1,6$	0,005
	СК	9	$43,5 \pm 3,6$	$50,1 \pm 3,1$	0,184	$52,3 \pm 2,8$	0,072
30	Фракція I	10	$9,4 \pm 0,7$	$11,5 \pm 0,7$	0,047	$12,8 \pm 1,1$	0,018
	Фракція II	10	$4,2 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,4$	0,178	$5,4 \pm 0,5$	0,053
	НК	10	$27,8 \pm 1,6$	$39,7 \pm 2,0$	0,010	$38,3 \pm 3,0$	0,006
	СК	10	$47,4 \pm 3,0$	$58,3 \pm 3,7$	0,034	$60,6 \pm 4,7$	0,029
90	Фракція I	9	$9,2 \pm 0,5$	$10,0 \pm 0,9$	0,448	$13,5 \pm 0,8$	0,010
	Фракція II	9	$4,4 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,4$	0,332	$4,6 \pm 0,5$	0,736
	НК	9	$31,2 \pm 1,7$	$57,4 \pm 2,0$	0,010	$61,1 \pm 2,7$	0,010
	СК	9	$51,3 \pm 3,7$	$79,2 \pm 3,6$	0,010	$82,3 \pm 4,0$	0,010
180	Фракція I	9	$7,4 \pm 0,6$	$15,2 \pm 0,6$	0,010	$17,4 \pm 1,0$	0,010
	Фракція II	9	$5,2 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,6$	0,785	$5,1 \pm 0,4$	0,862
	НК	9	$35,3 \pm 2,3$	$62,1 \pm 2,9$	0,010	$69,6 \pm 3,1$	0,010
	СК	9	$56,2 \pm 3,6$	$83,4 \pm 4,5$	0,010	$88,1 \pm 4,7$	0,010

Вміст колагену в шкірі щурів за умов одноразової дії загального зовнішнього ікс- опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр
(мкмоль гідроксипроліну/г тканини)
Collagen amount in the skin of the rats at single external x-ray irradiation at a dose of 4.0 and 6.2 Gy
(μmol of hydroxyproline / g of tissue)

Термін, доба	Колаген, фракція	n	Контроль	Опромінення 4,0 Гр		Опромінення 6,2 Гр	
			$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	p	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	p
3	Фракція I	9	44,0 ± 3,0	29,1 ± 2,1	0,001	28,3 ± 1,8	0,010
	Фракція II	9	18,2 ± 1,0	25,2 ± 2,2	0,010	26,0 ± 1,7	0,001
	НК	9	178,4 ± 9,8	173,4 ± 11,2	0,741	195,9 ± 12,6	0,289
	СК	9	316,9 ± 12,6	294,6 ± 16,8	0,304	305,4 ± 9,7	0,480
7	Фракція I	10	42,1 ± 2,4	32,1 ± 1,3	0,002	28,3 ± 2,0	0,010
	Фракція II	10	20,1 ± 1,2	23,2 ± 1,6	0,136	25,6 ± 2,2	0,005
	НК	10	182,2 ± 10,6	206,4 ± 12,0	0,147	271,1 ± 27,6	0,007
	СК	10	301,2 ± 12,8	315,8 ± 19,8	0,543	330,8 ± 13,1	0,123
14	Фракція I	9	42,6 ± 2,9	39,5 ± 1,1	0,332	35,7 ± 1,2	0,043
	Фракція II	9	19,7 ± 1,3	20,9 ± 1,3	0,523	23,9 ± 2,2	0,119
	НК	9	204,9 ± 16,5	227,9 ± 17,4	0,352	255,2 ± 15,9	0,043
	СК	9	323,8 ± 19,4	349,7 ± 14,0	0,295	352,3 ± 18,6	0,304
30	Фракція I	10	47,3 ± 3,2	52,5 ± 2,3	0,203	50,6 ± 2,8	0,446
	Фракція II	10	18,8 ± 0,8	22,2 ± 0,8	0,007	21,9 ± 0,9	0,017
	НК	10	217,2 ± 16,5	267,3 ± 18,7	0,059	311,5 ± 27,7	0,009
	СК	10	327,7 ± 16,7	379,5 ± 13,2	0,025	396,4 ± 13,8	0,005
90	Фракція I	9	41,8 ± 2,7	56,6 ± 3,4	0,004	60,1 ± 3,6	0,001
	Фракція II	9	24,2 ± 1,8	28,7 ± 1,9	0,105	33,1 ± 1,7	0,002
	НК	9	234,3 ± 10,6	316,5 ± 18,0	0,001	357,2 ± 14,6	0,010
	СК	9	362,8 ± 20,0	424,8 ± 19,5	0,041	451,5 ± 20,4	0,007
180	Фракція I	9	39,4 ± 1,9	54,9 ± 3,0	0,010	51,9 ± 4,1	0,014
	Фракція II	9	25,7 ± 1,8	29,3 ± 2,1	0,211	32,0 ± 2,1	0,037
	НК	9	252,5 ± 18,8	354,5 ± 15,7	0,001	386,3 ± 23,3	0,010
	СК	9	374,9 ± 13,7	439,9 ± 29,8	0,065	470,3 ± 26,1	0,005

у легенях відповідно до $(74,5 \pm 3,5) \%$ і $(79,0 \pm 3,5) \%$ проти $(62,8 \pm 4,1) \%$ у контролі та у шкірі — до $(80,6 \pm 3,6) \%$ і $(82,1 \pm 4,9) \%$ проти $(67,3 \pm 5,0) \%$ у контролі. Інтенсифікація утворення нерозчинного колагену під впливом опромінення дуже відрізнялася від такої у контрольних тварин, в яких вікові зміни абсолютних значень сумарного колагену через 6 місяців від початку експерименту хоча і призводили до зростання його концентрації у легенях та шкірі, у середньому, в 1,2 рази, але не супроводжувалися істотними змінами кількісних співвідношень фракцій розчинного та нерозчинного колагенів та підвищенням відсоткового вмісту колагену нерозчинної фракції у тканинах. Відомо, що зміни відносних концентрацій окремих фрак-

цій колагену у тканинах відображають зміни інтенсивності у них процесів синтезу, розпаду та дозрівання молекул колагену. Під час підвищення інтенсивності обміну колагену прискорюються не тільки процеси його синтезу та утворення колагенових структур, але і посилюються процеси його розпаду. У зв'язку з цим причиною встановленого на ранніх етапах спостережень зростання концентрацій розчинних колагенів і порушення нормальних співвідношень їх окремих фракцій у легенях і шкірі опромінених тварин при відсутності суттєвих змін з боку сумарного колагену може бути підвищення швидкості його ферментативного руйнування під впливом опромінення. З даних літератури відомо, що гальмування біосинтезу та посилення процесів протеолізу білків є одним

з основних ранніх ефектів дії радіації [18]. На підтримку цього свідчили дані визначення колагенолітичної активності (КЛА) та концентрації у крові метаболітів колагену, які не включаються у процеси утворення колагенового волокна, що істотно зростали у ранні терміни спостережень.

Як свідчать дані табл. 3, на 3-тю добу після опромінення у дозі 4,0 Гр КЛА крові зростала в 1,9 разу, у дозі 6,2 Гр — 2,2 разу та на 7-му добу залишалася підвищеною в 1,3 і 1,5 разу відносно контролю.

Про посилення інтенсивності розпаду колагену в ранні терміни після опромінювання свідчили також дані, відображені на рис. 1. Згідно з рисунком, вміст вільної фракції гідроксипроліну в крові підвищувався на 3-тю добу відповідно в 2,3 і 2,6 разу, на 7-му добу — в 1,4 і 1,7 разу та фракції пептиднозв'язаного гідроксипроліну — в 1,7 і 1,9 та 1,6 разу. Згідно з даними, наведеними на рис. 2, інтенсивність гідролізу знов синтезованого колагену, не включеного до складу надмолекулярних структур (гідроліз 2 години), на 3-тю і 7-му добу зростала у легенях в 1,5 і 2,2 разу та у шкірі — у середньому, в 1,3 разу, при цьому вміст вільної фракції гідроксипроліну вірогідно підвищувався у легенях більш ніж у 2 рази, а у шкірі — у середньому в 1,2 разу. У віддалений період, на 90-ту і 180-ту добу після опромінювання, рівень КЛА крові визначався, практично, як у контролі; вміст вільної фракції гідроксипроліну у крові та тканинах також знижувався порівняно з ранніми строками спостережень. Отже, отримані дані дозволяли припустити, що

зовнішнє опромінення інтенсифікувало обмін колагену у тканинах, але встановлені зміни в ранні та віддалені терміни після опромінювання мали у своїй основі різні механізми розвитку. На відміну від початкового періоду, коли переважали процеси розпаду колагену, встановлені за результатами тривалих досліджень зміни складу колагену та характеристики інтенсивності його метаболізму, навпаки, вказували на активацію процесів його утворення у тканинах в більш пізні строки після опромінювання.

З метою визначення характеру взаємодій з боку колагену проводили кореляційний аналіз з обчисленням коефіцієнта попарної лінійної кореляції (r) та виявленням статистично значущих кореляцій ($r \geq 0,7$) серед максимально можливих у ранньому та віддаленому періодах після опромінювання. Проведений аналіз показав, що опромінення значно змінювало структуру кореляційних залежностей серед величини досліджуваних показників порівняно з контролем. Так, у легенях в ранні терміни після опромінювання зміни колагенових білків характеризувалися наявністю 17 кореляцій, з них статистично значущими виявилися серед 14 пар показників, які створювали єдину кореляційну систему, середня величина коефіцієнтів кореляції у якій складала 0,82. Роль протеолітичних процесів переважала у цей період. Максимальне число зв'язків припадало на параметр рівня розчинного колагену фракції I, що вірогідно корелював з рівнем КЛА ($r_{4,0} = 0,889$, $r_{6,2} = 0,815$) та продуктами метаболізму колагену в крові ($r_{4,0} = 0,892$, $r_{6,2} = 0,818$) і ($r_{4,0} = 0,793$, $r_{6,2} = 0,721$). Висо-

Таблиця 3

Колагенолітична активність у крові щурів за умов одноразової дії загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр (ммоль/л/год)
Collagenolytic activity in the blood in the rats at single external x-ray irradiation at a dose of 4.0 and 6.2 Gy (mmol/l/ hour)

Термін, доба	Контроль		Опромінення 4,0 Гр			Опромінення 6,2 Гр		
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	p	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	p
3	10	10,0 ± 1,1	10	18,2 ± 2,1	0,003	10	20,5 ± 2,2	0,010
7	9	10,2 ± 0,7	10	12,0 ± 1,2	0,234	10	13,8 ± 1,3	0,036
14	9	10,3 ± 0,5	10	11,1 ± 0,9	0,479	10	14,6 ± 1,4	0,015
30	10	9,8 ± 0,6	10	9,4 ± 0,6	0,662	10	12,5 ± 0,84	0,021
90	9	8,5 ± 1,1	10	9,8 ± 1,0	0,389	10	11,6 ± 1,3	0,091
180	9	8,8 ± 0,6	10	9,3 ± 1,0	0,688	10	11,4 ± 1,6	0,168

ковірогідний рівень кореляцій спостерігався між значеннями КЛА і параметрами інтенсивності розпаду колагену у тканині ($r_{4,0} = 0,812$, $r_{6,2} = 0,706$) та концентрації у крові вільної ($r_{4,0} = 0,804$, $r_{6,2} = 0,755$) та пептиднозв'язаної фракції гідроксипроліну ($r_{4,0} = 0,825$, $r_{6,2} = 0,718$). Про переважання процесів розпаду колагену у легенях у ранній період свідчила також наявність вірогідної кореляції між концентрацією вільної фракції гідроксипроліну у крові та тканині ($r_{4,0} = 0,917$, $r_{6,2} = 0,730$) і рівнем 2-годинного гідролізу ($r_{4,0} = 0,904$, $r_{6,2} = 0,721$). Разом з тим у шкірі зберігався той же характер взаємодій, але число вірогідних взаємозв'язків складало 9 пар, середня величина коефіцієнтів кореляції яких дорівнювала 0,71. Визначалася також роль протеолітичних процесів, рівень колагену фракції I корелював з рівнем КЛА ($r_{4,0} = 0,709$, $r_{6,2} = 0,767$), концентрацією

вільної фракції гідроксипроліну у крові ($r_{4,0} = 0,712$, $r_{6,2} = 0,797$) та шкірі ($r_{4,0} = 0,761$, $r_{6,2} = 0,758$) і з швидкістю 2-годинного гідролізу колагену у шкірі ($r_{4,0} = 0,721$, $r_{6,2} = 0,773$). На відміну від цього, в контрольних тварин у ці терміни значущі кореляції склали лише 8 % з числа максимально можливих в обох досліджуваних типах тканин, при цьому роль розчинного колагену в інтегративних процесах була помітною, але незначною. У віддаленому періоді змінювалися число і характер інтеграції та внутрішня структура виявлених взаємозв'язків з боку колагенових білків. У контрольних тварин це проявлялося зростанням до 20 % кількості значущих кореляцій порівняно з ранніми строками спостережень, при цьому показники метаболізму колагену у крові відображали інтенсивність процесів його метаболізму у тканинах. У той же час в опроміненіх тварин в інтегративних взаємодіях зростала

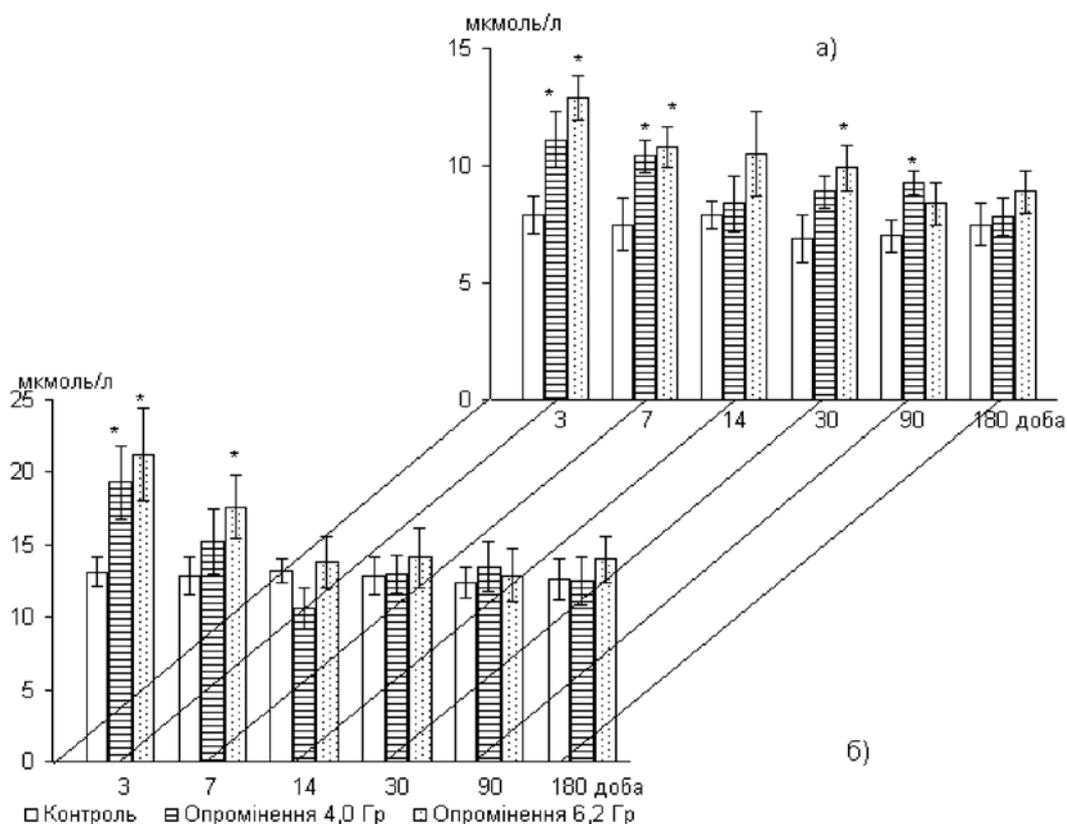


Рис. 1. Показники метаболізму колагену у крові щурів за умов одноразової дії загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр (мкмоль/л): а — пептиднозв'язаний гідроксипролін; б — вільний гідроксипролін

Примітка. Тут і далі * — вірогідно порівняно з контролем, $p < 0,05$

Fig. 1. Collagen metabolism parameters in the blood of the rats at single external x-ray irradiation at a dose of 4.0 and 6.2 Gy (μmol / l): a) peptide-bound hydroxyproline; b) free hydroxyproline

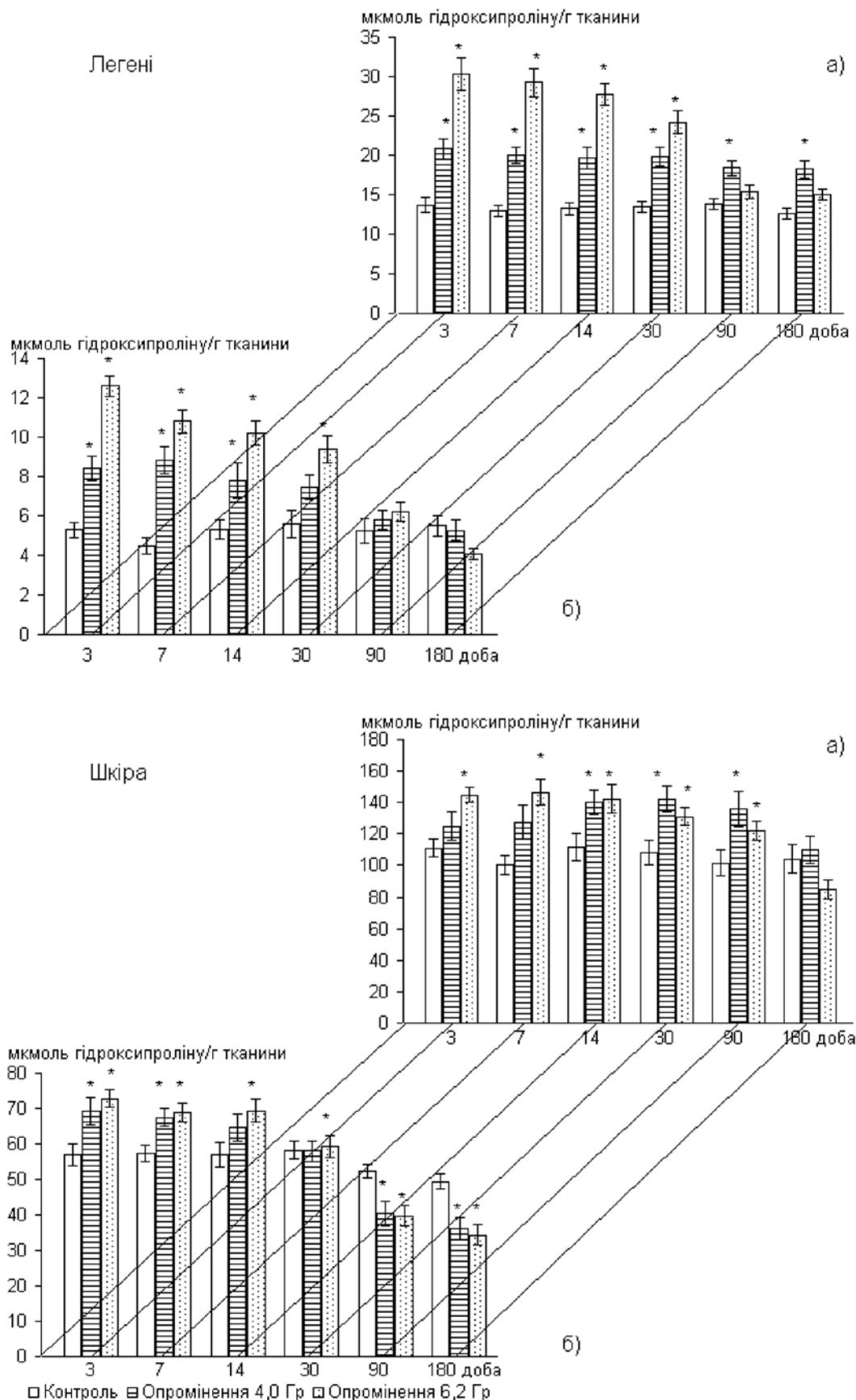


Рис. 2. Характеристики інтенсивності метаболізму колагену в органах щурів за умов одноразової дії загального зовнішнього ікс-опромінення у дозах 4,0 і 6,2 Гр: а — швидкість гідролізу, 2 год; б — вільний гідроксипролін

Fig. 2. Collagen metabolism intensity in the rat organs at total external x-ray exposure at a dose of 4.0 and 6.2 Gy: a — hydrolysis rate, 2 hours; б — free hydroxyproline

роль параметрів, що відображали посилення процесів накопичення колагену у тканинах. Про це свідчив високий рівень кореляцій між величинами кількісних показників сумарного і нерозчинного колагену у легенях ($r_{4,0} = 0,700$, $r_{6,2} = 0,785$) та шкірі ($r_{4,0} = 0,803$, $r_{6,2} = 0,715$), а також наявність взаємозв'язків між метаболічно активним колагеном фракції I і рівнем сумарного колагену відповідно у легенях ($r_{4,0} = 0,891$, $r_{6,2} = 0,745$) та шкірі ($r_{4,0} = 0,782$, $r_{6,2} = 0,770$). Отже, результати кореляційного аналізу дозволяють твердити, що радіаційні зміни з боку колагену мали тканинні особливості і за характером розвитку відрізнялися у ранньому та віддаленому періодах після опромінювання. У ранньому періоді ці ефекти зумовлювалися підвищенням інтенсивності ферментативного руйнування колагену внаслідок посилення процесів протеолізу і були найбільш виражені в легенях, але у віддаленому періоді мало місце прогресуюче прискорення утворення нерозчинного колагену з переважанням цього процесу у шкірі щурів. Встановлені радіаційні зміни з боку колагену вказували на тривалий прогресуючий характер відповіді сполучної тканини на вплив іонізуючої радіації і підкреслювали її особливу роль у механізмах розвитку віддалених радіаційно зумовлених ефектів в організмі.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що однократне загальне зовнішнє ікс-опромінення у дозах 4,0 та 6,2 Гр викликало тривале підвищення інтенсивності обміну колагену у тканинах і призводило до закономірних змін вмісту колагену та його окремих фракцій у легенях і шкірі щурів. Встановлені зміни за своїм характером та спрямованістю не залежали від дози опромінення, але визначалися типом тканини та часом після опромінювання.

2. Було встановлено, що на 3-тю і 7-му добу відбувалося порушення співвідношень окремих фракцій розчинних колагенів у легенях та шкірі щурів залежно від типу тканини та зростання колагену фракції I у легенях в 1,7 разу та колагену фракції II у шкірі в 1,4 разу. Підвищення рівня КЛА в 2 рази та зростання у крові

вільної та пептиднозв'язаної фракції колагену в 2,5 і 1,8 разу свідчило про посилення процесів протеолізу та руйнування молекул колагену в ранні терміни після опромінювання.

3. Встановлено на 90-ту і 180-ту добу збільшення рівня сумарного колагену у легенях в 1,2 та у шкірі — в 1,4 разу з прогресуючим наростанням фракції нерозчинного колагену вказувало на тривалу активацію процесів утворення колагену та прискорення його дозрівання у віддаленій період під впливом загального ікс-опромінення.

Література

1. Mieneke V., Gilbert K.P., Schilperoort K. et al. // *Stahl-enther Oncol.* – 2002. – Vol. 178, № 12. – P. 709–714.
2. Speziale P., Meloni M.L., Raucci G. et al. // *Macromol. Funct. Cell. Proc. 5th Sov. Ital. Symp., Pavia, Sept., 22–24.*
3. Juliano R.L., Hasskell S. // *The Journal of cell biolog.* – 2003. – Vol. 120, № 3. – P. 577–585.
4. Stone H.B., VcBride W.H., Coleman C.N. // *Radiat. Res.* – 2002. – Vol. 157. – P. 203–223.
5. Бондаренко Л.Б. // *Укр. биохим. журн.* – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 12–23.
6. Garnevali S., Mio T., Adachi Y. et al. // *Tissue Cell.* – 2003. – Vol. 35, № 6. – P. 459–469.
7. Carrasco L., Moreno C., Pastor M.A. et al. // *Am. J. Dermatol.* – 2001. – Vol. 23, № 4. – P. 283–287.
8. Володина Т.Г., Алесина М.Ю., Печенова Т.Н. и др. // *Отдаленные медицинские последствия Чернобыльской катастрофы; Тез. 2-й междунар. конф.* – К., 1998. – С. 204.
9. Володина Т.Т., Печенова Т.Н., Шимановская А.К. и др. // *Чернобыль-94: Итоги 8 лет работы по ликвидации последствий аварии на ЧАЭС / Сб. докл. 4-й междунар. науч.-тех. конф., Зеленый Мыс, 1994.* – Чернобыль, 1996. – Т. 2. – С. 390–398.
10. Вплив радіаційного фактора Чернобыльської зони відчуження на організм тварин: Монографія / За ред. Я.І. Серкіза, М.Ю. Алесіної. – К.: Аміка, 2006. – 320 с.
11. Riekkilä R., Jukkola A., Sassi M.-L. et al. // *Br. J. Dermatol.* – 2000. – Vol. 142. – P. 874–880.
12. Sassi M.-L., Jukkola A., Riekkilä R. et al. // *Radiother. Oncol.* – 2001. – Vol. 58. – P. 317–323.
13. Friedrich R.E., Bartel-Friedrich S., Roser K. et al. // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol. 23, № 2A. – P. 927–930.
14. Мазуров В.И. Биохимия коллагеновых волокон. – М.: Медицина, 1974. – 248 с.
15. Замаараева Т.В. // *Современные методы в биохимии.* – М.: Медицина. – 1997. – С. 262–264.
16. Шараев П.Н. // *Лаб. дело.* – 1981. – № 5. – С. 283–285.
17. Шараев В.П., Пишков В.Н., Зворыгина Н.Г. и др. // *Лаб. дело.* – 1987. – № 1. – С. 60–62.
18. Кудряшов Ю.Б., Гончаренко Е.Н. // *Радиобиол. Радиоэкол.* – 1999. – Т. 39, № 2–3. – С. 197–211.

Надходження до редакції 04.03.2008.

Прийнято 05.03.2008.

Адреса для листування:
Узленкова Наталія Євгенівна,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна