

## ВПЛИВ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЕННЯ НА ФЕРМЕНТИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Я. Г. Іванушко<sup>1</sup>, Ю. П. Гриневич<sup>2</sup>, А. І. Липська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці

<sup>2</sup>Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ

Вивчали вплив 30-добового фракціонованого рентгенівського випромінювання за сумарних доз 0,3, 0,6, 0,9 та 1,2 Гр на антиоксидантну систему печінки щурів. Супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидазна активності гомогенату печінки знижувалися в усіх дослідних групах по закінченні курсу опромінення (1-ша доба) з наступною нормалізацією до 30-ї доби. Вміст відновленого глутатіону по закінченні опромінення змінювався різноспрямовано до 10-ї доби, а на 30-ту добу досягав максимальних значень.

Одне з провідних місць у забезпеченні процесів функціонування живого організму належить системі антиоксидантного захисту, що здійснює контроль над рівнем вільних радикалів, що утворюються за участю активних форм кисню. Вільнорадикальні процеси відіграють значну роль у функціонуванні біологічних систем за норми. Так, пероксид водню бере участь у складному комплексі реакцій регулювання клітинного метаболізму, а незначне збільшення концентрації  $O_2$ ,  $H_2O_2$  може стимулювати проліферацію клітин та інші клітинні функції. Активація переокисних процесів відіграє провідну роль в ушкодженні клітин, а накопичення їх продуктів і високотоксичних супероксидних аніонів призводить до значних біохімічних та біофізичних порушень в організмі та підвищення ендотоксикозу, що посилює негативний перебіг патологічного процесу. Унаслідок дії вільних радикалів відбуваються незворотні модифікації нуклеїнових кислот, окислювальна модифікація білків, ініціюються реакції окиснення ненасичених жирних кислот, якісні та кількісні зміни фосfolіпідів, значна кількість яких міститься в клітинах печінки. За фізіологічної норми є певні співвідношення окремих ферментів антиоксидантної системи (АОС), що забезпечують стаціонарну концентрацію активних форм кисню, вільних радикалів, і одночасний захист клітин та клітинних структур від їх негативного впливу [1].

У детоксикації ендогенних токсинів, радіотоксинів, інактивації надлишку вільних радикалів істотне значення відіграє печінка. Дія ксенобіотиків, як і ендогенних токсинів, супроводжується пошкодженням молекулярної організації мембран гепатоцитів і функціонування мембранозв'язаних ферментів. За дії радіації в низьких дозах можливі порушення у збалансованості АОС, що призводить до неконтрольованого перебігу переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Мета роботи: вивчити особливості впливу фракціонованого рентгенівського опромінення за

різних доз на стан антиоксидантної системи печінки в різні терміни після його дії.

### Матеріали та методи

Дослідження проводили на 126 білих нелінійних щурах-самцях масою 120 - 150 г, яких утримували на звичайному харчовому раціоні віварію. Фракціоноване тотальне рентгенівське опромінення здійснювали впродовж 30 діб з інтервалом 24 год на рентгенівський діагностичний установці 12 Пб. Потужність дози  $0,258 \text{ мКл/с}^{-1}$ , напруга 90 кВ, сила струму 40 мА, алюмінієвий фільтр, шкірно-фокусна відстань 48 см. Сумарні дози 0,3 Гр (щоденна доза  $0,258 \text{ мКл/кг}^{-1}$ ) (група 1), 0,6 Гр (щоденна доза  $0,516 \text{ мКл/кг}^{-1}$ ) (група 2), 0,9 Гр (щоденна доза  $0,774 \text{ мКл/кг}^{-1}$ ) (група 3) та 1,2 Гр (щоденна доза  $1,032 \text{ мКл/кг}^{-1}$ ) (група 4) відповідно. Декапітацію щурів проводили через одну, 10, 20 і 30 діб по закінченні курсу опромінення. У гомогенаті печінки визначали вміст відновленого глутатіону (GSN) (2), глутатіонпероксидази (ГПО) (3), активність супероксиддисмутази (СОД) (4) та каталази (КТ) (5). Результати досліджень обробляли за критерієм Ст'юдента (6).

### Результати досліджень та їх обговорення

За дії радіації інтенсивність утворення супероксидного аніон-радикалу, який на відміну від ОН-радикалу має триваліший час існування, може зростати як за рахунок розбалансування ферментативних процесів, так і внаслідок його неензиматичного (наприклад, індукованого рентгенівським або гамма-випромінюванням, інкорпорованими радіонуклідами, тощо) утворення [7]. У відносно невеликих концентраціях він ефективно дисмутується супероксиддисмутазою, ферментом, що каталізує дисмутацію радикалів і перетворення їх у менш реакційноздатні молекули переокису водню та триплетного кисню, знижуючи тим самим рівень  $O_2$  на кілька порядків. У гепатоцитах мідьвмісна СОД знаходиться в цито-

золі та міжмембранному просторі мітохондрій, а цинквмісна - у матриксі мітохондрій [8].

Результати наших досліджень показали, що по закінченні опромінення (1-ша доба) супероксиддисмутазна активність гомогенату печінки знижувалась у всіх дослідних групах тварин (рис. 1). Через 10 діб спостерігалось збільшення її активності до значень контролю у групах 1 і 2, тоді як у групі 3 вона незначно перевищувала їх показники. У групі 4 активність СОД хоча й зростала, але залишалась нижчою за контрольні показники (81 %). Максимальна супероксиддисмутазна активність спостерігалась у всіх групах через 20 діб (160, 128, 124 і 142 %). Найбільшою вона була в групі 1 (160 %).

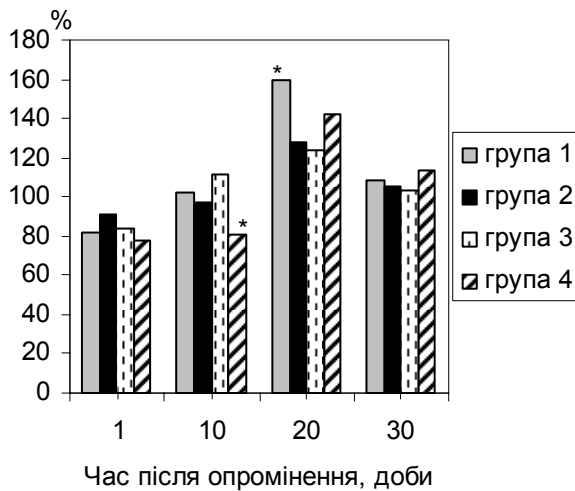


Рис. 1. Динаміка активності СОД у печінці по закінченні 30-добового фракціонованого рентгенівського опромінення щурів у різних сумарних дозах (% від контролю); \* - вірогідна різниця відносно контролю ( $p < 0,05$ ).

Подальше знешкодження перекису водню здійснюється каталазою або пероксидазами різної субстратної специфічності. Каталаза – хромопротеїд, що складається із чотирьох субодиниць, у кожній з яких міститься по одній групі гему з тривалентним залізом, прискорює реакції двох типів: каталазну та пероксидазну. Найбільша активність каталази в гепатоцитах. У пероксисомах останніх фермент становить до 40 % наявного білка [8, 9].

Каталазна активність гомогенату печінки (рис. 2) по закінченні курсу опромінення (1-ша доба) вірогідно знижувалась в усіх дослідних групах (16, 15, 22 і 31 % відповідно). Через 10 діб її активність залишалась зниженою у групах 1, 3 і 4 (82, 71 і 81 % відповідно). На 20-ту і 30-ту доби вона майже не відрізнялась від контролю, крім групи 1, де була збільшеною.

Зменшення активності СОД при зростанні активності каталази може бути пов'язане як із без-

посереднім ушкодженням молекули ферменту, особливо його активного центра, так і зі значним підвищенням концентрації  $H_2O_2$  як його інгібітора. У таких умовах зростання активності каталази недостатньо для знешкодження залишку  $H_2O_2$  [10, 11].

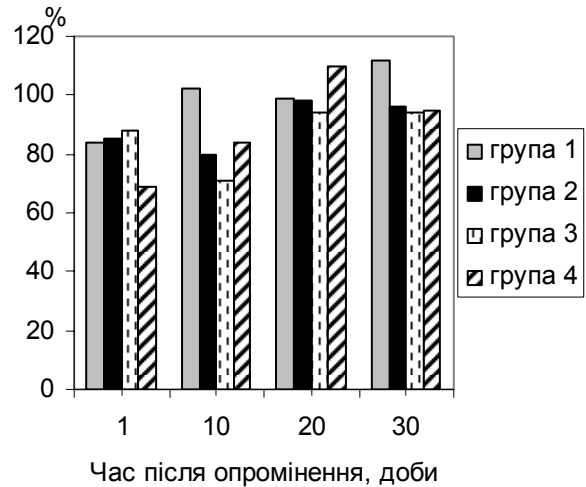


Рис. 2. Динаміка активності каталази в печінці по закінченні 30-добового фракціонованого рентгенівського опромінення щурів у різних сумарних дозах (% від контролю).

регуляторний вплив на активність СОД має глутатіон та інші SH-вмісні сполуки, зміна вмісту яких характерна для дії іонізуючої радіації в малих дозах.

Суттєву роль у забезпеченні антиоксидантного захисту відіграє ГПО – селен-вмісний білок, що каталізує реакцію відновлення гідроперекисів за допомогою відновленого глутатіону. На цитоплазму клітини припадає 2/3 активності ГПО, на мітохондрії – 1/3. У гепатоциті фермент локалізований переважно в перипортальних клітинах [8], а за нестачі її активності та наявності іонів змінної валентності ліпоперекисів можуть утворюватись нові вільні радикали, унаслідок чого відбувається продовження й розгалуження ланцюгових процесів ПОЛ [12, 13].

По закінченні курсу опромінення (1-ша доба) вміст ГПО (рис. 3) зменшився в усіх дослідних групах на 19, 12, 23 і 21 % відповідно. Через 10 діб він не відрізнявся від контролю лише в групі 1 і залишався зменшеним в інших групах. Через 20 діб вміст ГПО залишався зниженим у групі 3 і не відрізнявся від контрольних показників у групах 1 і 2 тварин і був збільшеним у групі 4. Збільшення вмісту ГПО спостерігалось через 30 діб у групах 1 і 3. В інших групах вміст ГПО коливався близько до значень контролю.

Аналогічні зміни активності СОД, каталази та ГПО в еритроцитах тонкого кишечника за рентгенівського опромінення в щоденній дозі 0,01 Гр

упродовж 30 діб відмічали в [14]. Різнострамовані зміни активності глутатіонзалежної системи в органах і крові щурів спостерігались також за тривалого рентгенівського опромінення за доз більше 1 сГр/добу [15].

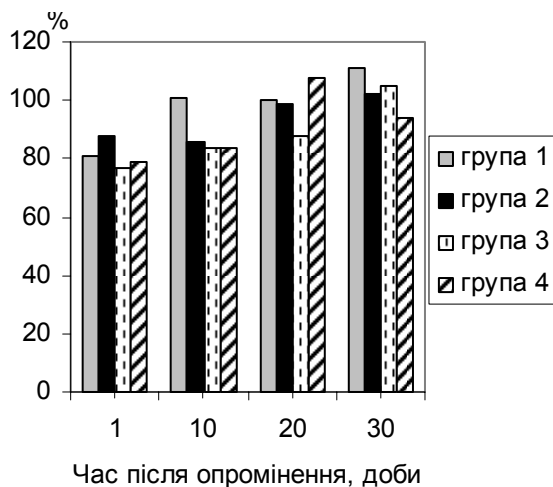


Рис. 3. Динаміка активності ГПО печінки по закінченні 30-добового фракціонованого рентгенівського опромінення щурів у різних сумарних дозах (% від контролю).

У захисті клітин від гідроксил-радикала, що утворюється в реакції Фентона або внаслідок радіолізу води під впливом іонізуючого випромінення, провідна роль належить SH-сполукам, зокрема відновленому глутатіону, який є інгібітором активних кисневих метаболітів і стабілізатором мембран [16, 17].

30-добове рентгенівське опромінення тварин у дозі 0,3 Гр (група 1) не призвело до змін у вмісті відновленого глутатіону в печінці щурів по закінченні опромінення (1-ша доба) і через 10 діб (рис. 4). У групі 2 по закінченні опромінення (1-ша доба) вміст глутатіону відновленого недовірно знижувався і досягав мінімальних значень на 10-ту добу. Найменшим він був у групі 3 по закінченні курсу опромінення (46 %). По закінченні опромінення для групи 4 характерним було збільшення його вмісту на 23 %, з подальшим зменшенням на 10-ту добу майже до контрольних показників (107 %). Зниження вмісту відновленого глутатіону за фракціонованого опромінення в низьких дозах у всіх органах тварин виявлено В. І. Федоровим. [18]. Збільшення вмісту відновленого глутатіону в гомогенаті печінки через 20 діб спостерігалось у всіх групах (145, 120, 131 і 154 % відповідно) з досягненням максимальних значень на 30-ту добу (156, 187, 174 і 174 % відповідно).

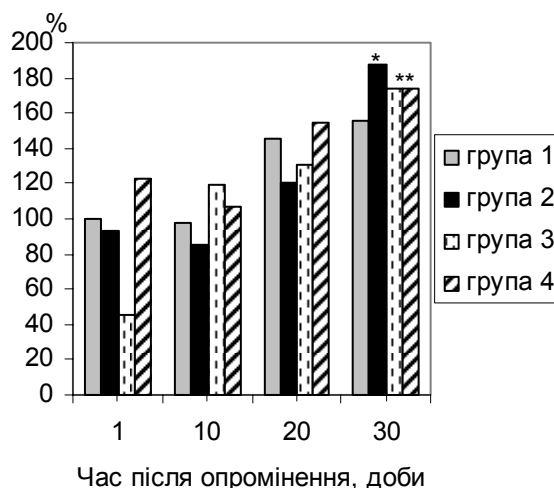


Рис. 4. Динаміка вмісту відновленого глутатіону у печінці по закінченні 30-добового фракціонованого рентгенівського опромінення щурів у різних сумарних дозах (% від контролю); \* - вірогідна різниця відносно контролю ( $p < 0,05$ ).

Існує думка, що взаємодія відновленого глутатіону з радикалами ефективна лише за умов видалення  $O_2^-$ . Саме тому глутатіон утворює із СОД своєрідну антиоксидантну систему, інакше розвиваються реакції з утворенням пероксиду водню і реакційних тіолових радикалів. Відновлені тіоли всередині клітини є захисниками, а поза клітиною – потенційно небезпечні, здатні генерувати активні кисневі метаболіти, індукувати ПОЛ, викликати окисне руйнування пептидних зв'язків [19].

Таким чином, 30-добове фракціоноване опромінення тварин рентгенівськими променями за сумарних доз 0,3, 0,6, 0,9 та 1,2 Гр зумовлює зменшення в усіх дослідних групах супероксидазної, каталазної та глутатіонпероксидазної активності гомогенату печінки по закінченні опромінення (1-ша доба) з наступною нормалізацією до 30-ї доби. Вміст глутатіону, відновленого в досліджуваних групах на 1-шу добу, по закінченні експозиції змінювався різнострамовано: зменшувався в групах 1, 2 та 3 і збільшувався в групі 4. У подальшому, починаючи з 10-ї доби, у всіх групах тварин вміст відновленого глутатіону в печінці збільшувався і досягав максимальних значень на 30-ту добу.

Сукупність представлених даних дозволяє зробити висновок, що тривала дія рентгенівського випромінення призводить у післярадіаційний період до суттєвих відхилень в АОС системі печінки щурів, ступінь і характер яких залежать від терміну впливу іонізуючого випромінення та його сумарної дози. Це має значення для функціонування цілісного організму, який постійно знає тривалого іонізуючого впливу.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гусев В.А., Брусов О.С., Панченко Л.Ф. Супероксиддисмутазы - радиобиологическое значение и возможности (обзор) // Вопр. мед. химии. - 1980. - Т. 26, вып. 3. - С. 291 - 301.
2. Мецишен И.Ф., Петрова И.В. Окисление и восстановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Укр. биохим. журн.- 1993. - Т. 55, № 5. - С. 571 - 573.
3. Мецишен И.Ф. Метод определения активности глутатион-S-трансферазы // Применение ферментов в медицине. - Симферополь, 1987 - С. 135 - 136.
4. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. - 1985. - № 11. - С. 678 - 681.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - № 1. - С. 16 - 19.
6. Стентон Гланц. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика, 1999. - 459 с.
7. Нікітченко Ю.В., Романько М.Е., Дзюба В.М., Фукс П.П. Пероксидне окиснення ліпідів і його регуляція у крові та печінці щурів за умов експериментального радіонуклідного впливу // Укр. біохім. журнал. - 2001. - Т. 73, № 5. - С. 43 - 47.
8. Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства / Под. ред. П. В. Гулака, А. М. Дудченко, В. В. Зайцева и др. - М.: Наука, 1985. - 272 с.
9. Кучеренко Н.Е., Виноградова Р.П., Литвиненко А.Р. и др. Биохимический справочник. - К: Вища шк., 1979. - 304 с.
10. Fush H.J.R., Borders L. Jr. Affinity inactivation of bovine Cu, Zn-superoxide dismutase by hydroperoxide anion, HO<sub>2</sub> // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1983. - No. 3. - P. 1107 - 1113.
11. Sando T., Konno K., Takei M. et al. Purification and characterization of rat liver cytosol catalase // Cell structura and function. - 1986. - Vol. 9, No. 2. - P. 125 - 133.
12. Абрамова Ж.И. Оксенгендлер Г.И. Человек и противокислительные вещества. - Л.: Наука, 1985. - 230 с.
13. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
14. Клевета Г.Я., Чайка Я.П., Старикович Л.С. Активность ферментів антиоксидантної системи ентероцитів тонкого кишечника щурів за хронічного впливу рентгенівського опромінювання низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. - 2002. - Т. 74, № 4 (додаток 2). - С. 223.
15. Рева А.Д., Лукьяненко А.И., Живалюк О.Б. и др. Динамика глутатиона и ферментов метаболизма в органах и крови крыс в разные сроки после хронического рентгеновского облучения в малых дозах // Радиобиол. съезд (Киев, 20 - 25 сент. 1993 г.): Тез. докл. - Ч. 3. - Пушино, 1993. - С. 859.
16. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. - М.: МАИК «Наука / Интерприодика», 2001. - 343 с.
17. Uclupiv B., Rice Evans C. Thiol compounds as protective agents in erythrocyte under oxidative stress // Free Radical Res. Commun. - 1992. - Vol. 16. - P. 315 - 323.
18. Федоров В.И. Вивчення вмісту відновленого глутатиону в тканинах при дії малих рівнів іонізуючої радіації та стресу // Матеріали симп. «Діагностика та профілактика негативних наслідків радіації». - К., 1997. - С. 259 - 261.
19. Heinecke J. W Superoxide-mediated oxidation of low density lipoprotein by thiols // Oxy - Radicals in Molecular Biology and Pathology. - 1988. - No. 4. - P. 443 - 457.

### ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФЕРМЕНТЫ АНТИОКСИДАТЕЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Я. Г. Иванушко, Ю. П. Гриневич, А. И. Липская

Исследовали влияние 30-суточного фракционированного рентгеновского облучения в суммарных дозах 0,3, 0,6, 0,9 и 1,2 Гр на антиоксидантную систему печени крыс. Супероксиддисмутазная, каталазная и глутатионпероксидазная активности гомогената печени снижались во всех исследованных группах животных по окончании облучения (1-е сутки) с последующей нормализацией к 30-м суткам. Содержание восстановленного глутатиона по окончании облучения изменялось разнонаправлено до 10-х суток у всех групп животных с последующим однонаправленным увеличением его содержания в печени крыс к 30-м суткам.

### INFLUENCE OF X-RAY RADIATION ON THE ANTIOXIDANT PROTECTION OF THE RAT LIVER

Ya. G. Ivanushko, Yu. P. Grinevich, A. I. Lypska

The impact of 30-day fractional x-ray irradiation in total doses of 0,3, 0,6, 0,9 and 1,2 Gy on antioxidant system of the rat liver has been studied. The superoxidedismutase, catalase, glutathione peroxidase activities of the liver homogenate decreased in all animal groups under study upon the termination of irradiation (the 1<sup>st</sup> 24-hour period) with a subsequent normalization by the 30<sup>th</sup> 24-hours period. The content of reduced glutathione changed in different directions (up to 10-days) upon the termination of radiation with a subsequent increase of its content in the rat liver by the 30<sup>th</sup> circadian period.

Надійшла до редакції 20.01.09,  
після доопрацювання – 23.03.09.