

© 2011 А. О. Прохорова, Л. І. Степанова, Є. А. Грогуль, М. І. Дегтярева, С. В. Хижняк

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ***ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ НИЗЬКОЇ ПОТУЖНОСТІ ПОГЛИНЕНОЇ ДОЗИ НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ**

Досліджено пероксидне окиснення ліпідів та функціонування антиоксидантної системи крові, клітин слизової оболонки кишки та гепатоцитів щурів у результаті разового рентгенівського опромінення в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр за низької потужності (55 мГр/хв). Отримані результати свідчать про порушення окисно-антиоксидантного гомеостазу в організмі щурів у ранній післярадіаційний період (1, 12 та 24 год). Установлено активацію окисних процесів та порушення функціонування ферментів антиоксидантного захисту залежно від дози опромінення. Не спостерігається відновлення активності каталази та супероксиддисмутази до контрольних значень на 7-му добу після опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр.

*Ключові слова:* рентгенівське опромінення, низька потужність, антиоксидантні ферменти, тонка кишка, гепатоцити.

**Вступ**

Проблема наслідків дії на людину іонізуючого випромінювання малих доз і потужностей набула особливої гостроти та актуальності внаслідок забруднення довкілля радіонуклідами, до якого призводять радіоактивні викиди та аварії на АЕС, а також вплив іонізуючих випромінень при використанні радіоактивних джерел у господарському комплексі та при застосуванні методів лікування з використанням радіоактивних ізотопів.

Особливості біологічної дії іонізуючої радіації полягають у процесах збудження та іонізації атомів і молекул з наступним утворенням високоактивних радикалів, що ушкоджують клітинні структури [1]. У живій опроміненій системі зростає навантаження на захисні механізми, що запобігають неконтрольованому лавиноподібному зростанню продуктів окиснення, у тому числі на систему антиоксидантного захисту (АОЗ) [2]. На дію іонізуючого випромінювання в малих дозах організм реагує розвитком оксидативного стресу, що супроводжується генерацією активних форм кисню (АФК) та активацією пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3]. Залежно від концентрації АФК та продукти ПОЛ проявляють регуляторний або цитотоксичний ефект [4].

Метою цієї роботи було дослідження проокисно-антиоксидантного стану різних органів щурів у динаміці після рентгенівського опромінення в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр за низької потужності поглиненої дози.

**Матеріали та методи досліджень**

Дослідження проведено на білих безпорідних щурах-самцях масою 200 - 220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин піддавали разовому тотальному рентгенівському опроміненню на апараті РУМ-17 у дозах 0,1, 0,5 і 1,0 Гр

за таких умов: сила струму 5 мА, напруга 200 кВ, шкірно-фокусна відстань 1000 см, фільтри 0,5 мм Cu + 1 мм Al. Потужність поглинутої дози 55 мГр/хв. Декапітацію тварин проводили через 1, 12, 24 та 168 год (7 діб) після опромінення.

Об'єктами дослідження були сироватка крові, гомогенні препарати слизової оболонки тонкої кишки (СОТК), гепатоцитів, препарати мітохондріальної фракції СОТК та гепатоцитів. Сироватку крові отримували згідно з [5], інші препарати – методом диференційного центрифугування, як описано в роботі [6]. Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) [7]. Активність каталази визначали згідно з [8], а супероксиддисмутази (СОД) - [9]. Концентрацію білку визначали за методом Лоурі [10]. Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики [11].

**Результати дослідження та їхнє обговорення**

Показники, що визначають рівень вільнорадикальних процесів і стан антиоксидантної системи та характеризують функціонування захисно-приспосувальних механізмів організму на клітинному рівні [12], виступають чутливими тестами на дію різних екзогенних чинників, у тому числі іонізуючої радіації в малих дозах.

Активацію окисних процесів оцінювали по накопиченню ТБК-активних продуктів у крові та клітинах слизової оболонки тонкої кишки та печінки. Вміст цих продуктів у сироватці крові зростає зі збільшенням дози опромінення при всіх термінах дослідження (таблиця), а найбільший вміст реєстрували за дози 1,0 Гр, при якій збільшення становило 83 - 97 % відносно контрольних значень. Величина даного показника через 168 год (7 діб) після опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр становила відносно контрольних значень 153 та 205 % відповідно (див. таблицю).

**Вміст ТБК-активних продуктів, активність каталази та СОД у сироватці крові щурів  
через 1, 12, 24 та 168 год після опромінення в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр, (M ± m, n = 6)**

Показники	Доза опромінення, Гр	Терміни досліджень, год			
		1	12	24	168
Вміст ТБК-активних продуктів, мкмоль/л	Контроль	230,1 ± 18,4	235,1 ± 16,4	240,5 ± 15,1	229,4 ± 15,7
	0,1	218,7 ± 19,7	270,2 ± 24,3	390,1 ± 37,2*	264,6 ± 23,5
	0,5	300,2 ± 22,1*	320,4 ± 28,8*	388,8 ± 31,1*	350,3 ± 28,1*
	1,0	453,2 ± 27,2*	430,3 ± 30,1*	468,2 ± 32,7*	470,0 ± 33,2*
Активність каталази, мкмоль/(хв·л)	Контроль	1,28 ± 0,09	1,31 ± 0,10	1,23 ± 0,08	1,35 ± 0,11
	0,1	1,48 ± 0,13	1,25 ± 0,11	1,52 ± 0,13	1,55 ± 0,15
	0,5	1,28 ± 0,11	1,38 ± 0,10	2,01 ± 0,13*	1,41 ± 0,11
	1,0	2,12 ± 0,12*	1,69 ± 0,09*	2,50 ± 0,17*	2,03 ± 0,15*
Активність СОД, ум.од.	Контроль	1,21 ± 0,09	1,43 ± 0,13	1,46 ± 0,11	1,22 ± 0,09
	0,1	1,06 ± 0,08	1,47 ± 0,12	1,38 ± 0,12	1,32 ± 0,12
	0,5	1,01 ± 0,09	1,16 ± 0,09	1,36 ± 0,11	1,24 ± 0,11
	1,0	1,11 ± 0,06	1,33 ± 0,09	1,01 ± 0,07*	1,14 ± 0,09

\* P < 0,05 відносно контролю.

У клітинах СОТК вміст ТБК-активних продуктів зростає в післярадіаційний період, причому достовірні зміни спостерігаються при опроміненні в дозі 0,5 Гр на 80, 36 і 78 %, а в дозі 1,0 Гр на 40, 98 і 42 % через 1, 12 та 24 год відповідно. На 7-му добу після опромінення відбувається відновлення до контрольних значень вмісту цих продуктів у клітинах СОТК (рис. 1). Установлено, що в печінці вміст ТБК-активних продуктів зростає внаслідок опромінення в досліджуваних дозах у середньому на 36, 60 і 45 % відповідно через 1, 12 та 24 год після опромінення. На 7-му добу після опромінення спостерігається відновлення вмісту цих продуктів у клітинах гепатоцитів (рис. 2). Отримані дані свідчать, що ланцюгова реакція вільнорадикальних процесів, які індукуються опроміненням у даних дозах, триває в післярадіаційний період. Це може свідчити про розвиток оксидативного стресу, що носить тимчасовий характер.

Протікання проокисних та антиоксидантних процесів підтримується на стаціонарному рівні завдяки функціонуванню різноманітних систем, що існують на різних рівнях організації (клітинному, тканинному тощо) і порушення функціонування яких може призвести до розвитку оксидативних ушкоджень [1, 2].

Стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ) організму оцінювали за активністю таких важливих ферментів, як СОД, – ферменту, який каталізує утворення пероксиду водню при дисмутації супероксидного аніон-радикалу, а також каталази – ферменту, який нейтралізує пероксид водню, що утворився. Ці ферменти працюють сумісно [2]. Активність каталази в сироватці

крові найбільше зростає за дози 1,0 Гр, причому через 1 год на 66 %, 12 год – 29 %, 24 год – 100 %, а через 7 діб на 50 %. Активність каталази в клітинах СОТК зростає при всіх термінах після опромінення: у дозі 0,1 Гр у середньому на 40 %, у дозах 0,5 та 1,0 Гр – на 50 – 70 % відносно контрольних значень, а через 7 діб після опромінення не повертається до контрольного рівня (див. рис. 1). Підвищується активність каталази і в клітинах гепатоцитів (особливо через 1 год після опромінення в досліджуваних дозах) (див. рис. 2). Зростання активності каталази за даних умов опромінення можна розглядати як реакцію на інтенсифікацію окисних чи інших метаболічних процесів.

Позаклітинна Cu, Zn-СОД циркулює в крові й має важливе значення для ендотелію та його захисту від ушкодження АФК. Установлено незначне зростання її активності за всіх умов опромінення, а найбільше (на 32 %) – через 24 год після опромінення в дозі 1,0 Гр (див. таблицю).

Активність досліджуваних ферментів АОЗ у препаратах СОТК у післярадіаційний період змінюється різнонаправлено: активність каталази підвищується, а СОД зменшується при всіх термінах. Найбільше зниження активності СОД становить у середньому 33 % відносно контрольних значень через 24 год після опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр (див. рис. 1). Для клітин печінки зміни в активностях СОД та каталази найбільше проявляються через 1 год після опромінення: активність каталази, як відзначалось, зростає, а СОД – знижується в середньому на 32 % відносно контрольних значень (див. рис. 2).

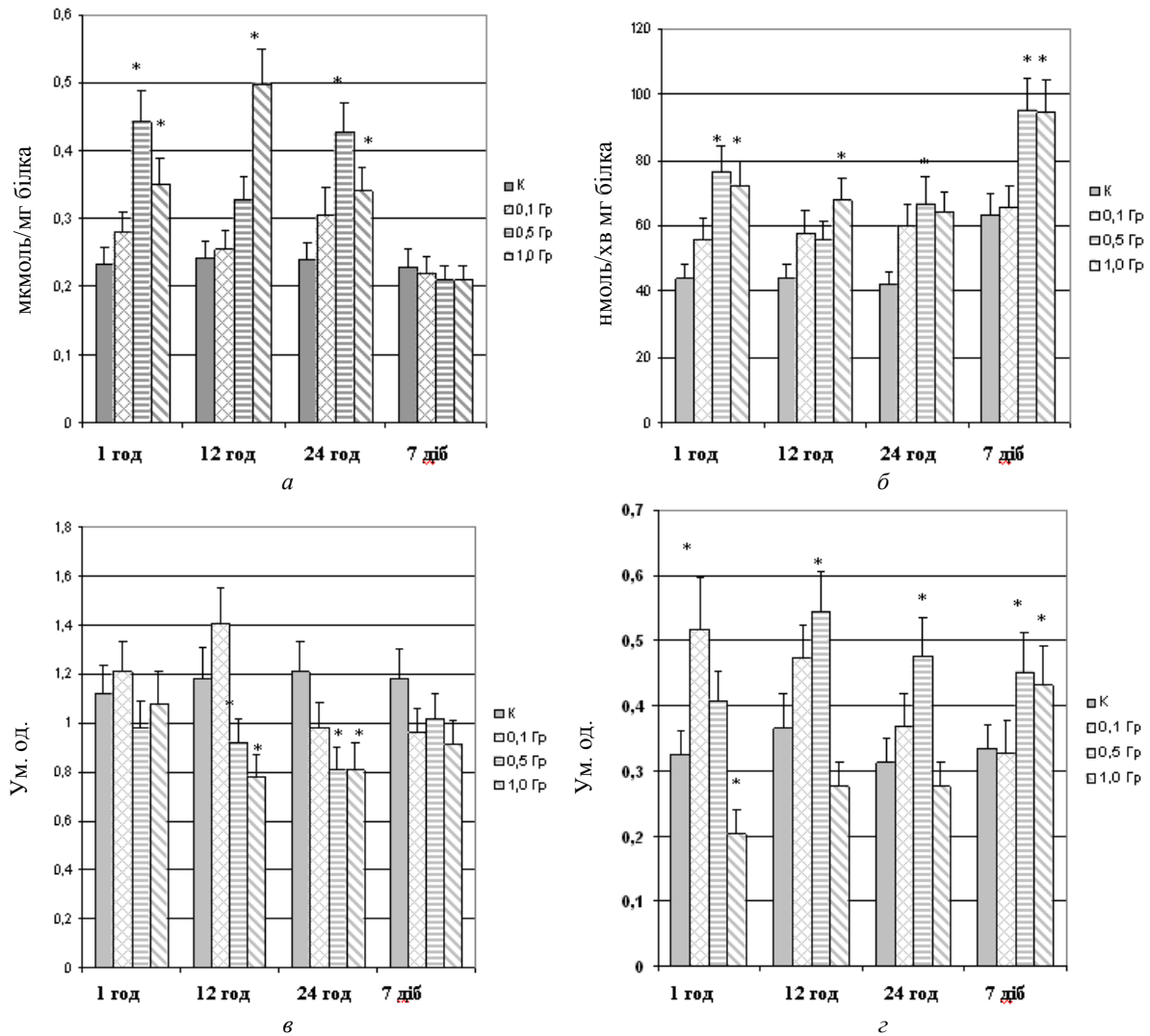


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів (а); активність каталази (б) та супероксиддисмутази загальної (в) і мітохондрій (г) у клітинах слизової оболонки тонкої кишки шурів через 1, 12, 24 та 168 год після опромінення в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр, (M ± m, n = 4 - 6). \*P < 0,05 відносно контролю.

Враховуючи різну локалізацію ферментів АОЗ у клітинах, в умовах експерименту визначали також активність СОД мітохондріальної фракції, яка обумовлена функціонуванням ізоферментів (Cu, Zn-СОД та Mn-СОД). Достовірне зниження активності мітохондріальної СОД клітин печінки спостерігається в середньому на 37 % відносно контрольних значень через 1 год після опромінення в дозі 1,0 Гр (див. рис. 2). У подальші терміни досліджень активність як загальної, так і мітохондріальної СОД зростає і через 7 дiб після опромінення збільшення мітохондріальної СОД становить 21 - 41 % відносно контролю для всіх доз опромінення. Таким чином, із зростанням терміну після дії опромінення активуються ферменти АОЗ (СОД та каталаза) у клітинах печінки.

Дослідження активності СОД у клітинах СOTК свідчать про неоднозначну реакцію цього

ферменту залежно від дози опромінення й характеризується відмінностями в динаміці після опромінення. Протягом доби після опромінення в дозах 0,1 та 0,5 Гр активність СОД у препаратах мітохондрій клітин СOTК зростає, а в дозі 1,0 Гр – знижується. Так, через 1 год зростання становить 141 та 125 % відповідно, а зниження 62 % (див. рис. 1). У більш віддалені терміни (7 дiб) активність ферменту в мітохондріях зростає в середньому на 25 % відносно контрольних значень унаслідок опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр (див. рис. 1). Отримані результати свідчать про чутливість мітохондріальної СОД у клітинах СOTК до опромінення в досліджуваних дозах. Причому якщо за опромінення в дозі 0,1 Гр у ранній післярадіаційний період спостерігається зростання активності СОД як загальної, так і мітохондріальної, то за опромінення в дозі

0,5 Гр зростає активність мітохондріальної СОД. Водночас опромінення в дозі 1,0 Гр призводить до зниження активності ферменту в клітинах СОТК.

Активність СОД пов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від накопичення інтермедіатів останнього [1]. Незначне зростання токсичних оксидних продуктів активує СОД, а їхнє накопичення викликає пригнічення активності СОД та інших антиоксидантних ферментів. Отримані результати свідчать, що зростання вмісту

ТБК-активних продуктів у сироватці крові та тканинах спостерігається зі зростанням дози опромінення. Крім того, можна припустити, що виснаження активності СОД у післярадіаційному періоді відбувається внаслідок змін у структурі ферменту за участі вільнорадикальних форм кисню, яке пов'язане з окисною модифікацією карбонільних груп амінокислотних залишків у складі активного центру ферменту і/або порушенням конформаційної стабільності ділянок у його оточенні [13].

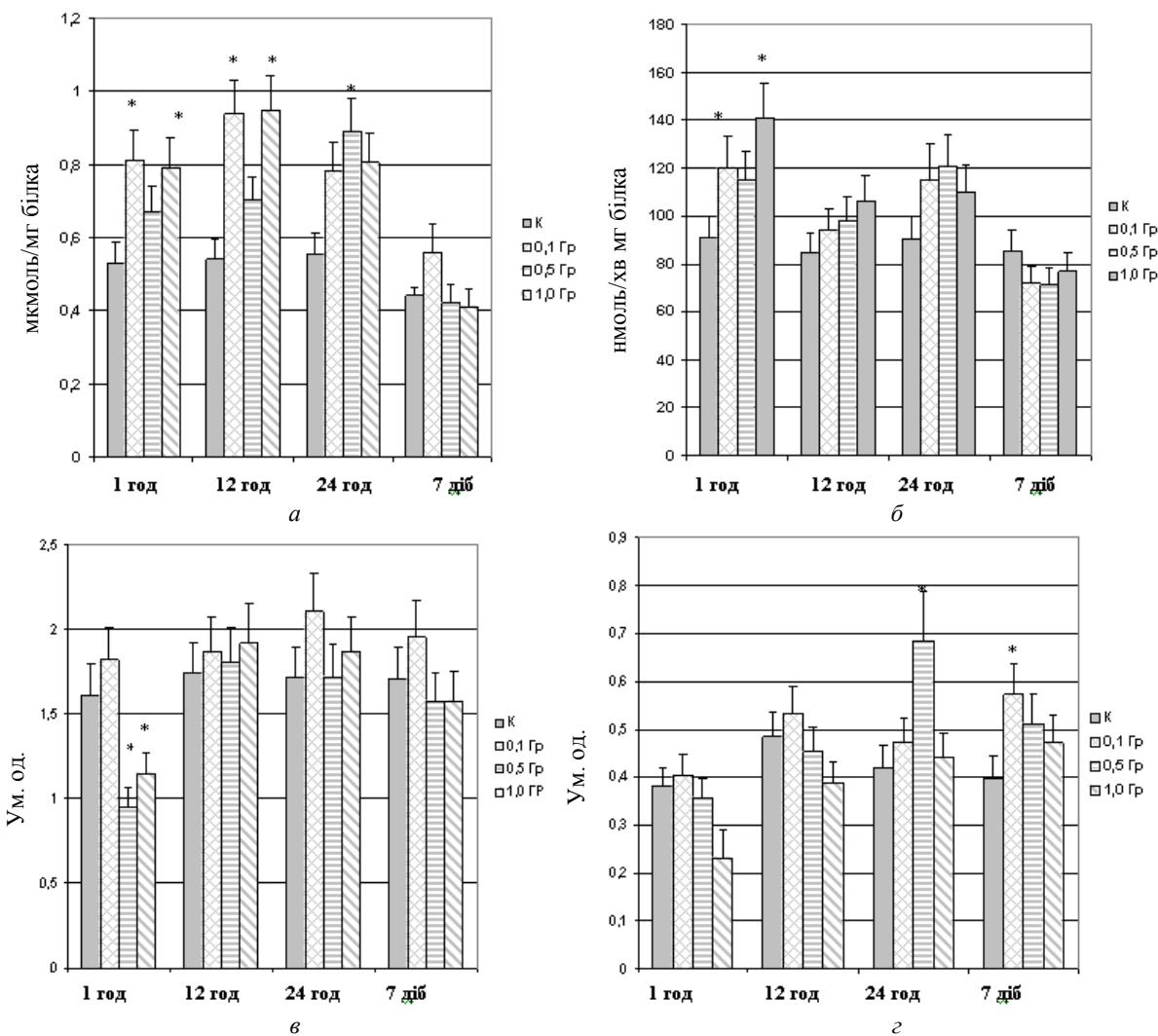


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів (а); активність каталази (б) та супероксиддисмутази загальної (в) і мітохондрій (г) у клітинах печінки шурів через 1, 12, 24 та 168 год після опромінення в дозах 0,1, 0,5 та 1,0 Гр, ( $M \pm m$ ,  $n = 4 - 6$ ). \* $P < 0,05$  відносно контролю.

Необхідно враховувати, що мітохондрії клітини значною мірою обумовлюють характер порушень при різних впливах на організм, у тому числі й за впливу іонізуючої радіації. Висока ступінь ушкодження цієї клітинної органели обумовлена значною радіочутливістю металомісних структур, що формують дихальний ланцюг [13]. Зниження активності СОД збільшує

чутливість мембран мітохондрій до супероксиданіону, яке може призводити до порушення функціонування цих органел у клітинах.

Слід відзначити особливості дії іонізуючої радіації в досліджуваних дозах потужністю 55 мГр/хв. Опромінення в дозі 0,1 Гр не призводить до суттєвих змін досліджуваних показників крові, однак у клітинах печінки та, особливо,

СОТК спостерігається активація ферментів антиоксидантного захисту (каталази та СОД, у тому числі мітохондріальної) на тлі незначного накопичення ТБК-активних продуктів. За умов опромінення в дозах 0,5 та 1,0 Гр інтенсифікація окисних процесів, про що свідчить зростання рівня ТБК-активних продуктів у досліджуваних препаратах, супроводжується різнонаправленими змінами в активності ферментів антиоксидантного захисту, перш за все реактивним збільшенням активності каталази в сироватці крові та клітинах СОТК і печінки, а також інгібуванням активності СОД у клітинах СОТК. Величини активностей досліджуваних ферментів не повертаються до контрольного рівня через 7 діб після опромінення. Таким чином, у результаті рентгенівського опромінення зниження потужності поглиненої дози до 55 мГр/хв призводить до різнобічних змін окисно-антиоксидантного рівноваги в організмі щурів. Як показано раніше [14], при опроміненні з потужністю поглинутої дози 340 мГр/хв порушення окисно-антиоксидантного гомеостазу в клітинах СОТК спостерігається лише зі зростанням дози опромінення вище 1,0 Гр.

### Висновки

Аналізуючи отримані результати, слід відзначити інтенсифікацію процесів вільнорадикально-

го окиснення та порушення функціонування антиоксидантної системи організму щурів із зростанням величини дози іонізуючої радіації від 0,1 до 1,0 Гр з потужністю поглинутої дози 55 мГр/хв. Характер цих змін має особливості для різних органів. Для клітин печінки виявлено зростання вмісту ТБК-активних продуктів у середньому в 1,5 рази поряд із незначними змінами в активності СОД та каталази. Клітини СОТК більш чутливі до дії радіації. Зміни в активності СОД (клітинної та мітохондріальної) у клітинах із високою радіочутливістю за впливу низьких доз іонізуючої радіації характеризуються нелінійністю. Активація СОД у гомогенній та мітохондріальній фракціях клітин СОТК (при дозі опромінення 0,1 Гр) спостерігається при незначному накопиченню в них окисних продуктів, а зростання їхнього накопичення, із збільшенням дози до 1,0 Гр, проявляється в інгібуванні активності СОД. Активність каталази в клітинах СОТК зростає при всіх дозах та термінах після опромінення. Отримані результати свідчать про індукцію в післярадіаційний період ланцюгової реакції вільнорадикальних процесів та порушення проокисно-антиоксидантної рівноваги в клітинах, що може призвести до розвитку оксидативного стресу.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиокислительный гомеостаз в норме и патологии. - К.: Чернобыльинтерформ, 1997. - Ч. 1. - 202 с. - Ч. 2. - 220 с.
2. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. - К.: Книга плюс, 2006. - 462 с.
3. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Горбунова Н.Б. Особенности биологического действия малых доз облучения // Радиобиология. - 1996. - Т. 36, № 4. - С. 610 - 623.
4. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. - Oxford, 1985. - 320 p.
5. Скляр О.Я. Біохімічний склад рідин організму та їх клітинно-діагностичне значення - К.: Здоров'я, 2004. - 188 с.
6. Практикум по биохимии: учебное пособие / Под ред. С. Е. Северина, Г.А. Соловьевой. - М.: Изд-во МГУ, 1989. - 509 с.
7. Стальная И.Д., Гаршивили Т.Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С. 66 - 68.
8. Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. - 1988. - № 1. - С. 16 - 19.
9. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Там же. - 1985. - Вып. 11. - С. 678 - 681.
10. Lowry O.H., Rosenbrouch N.J., Fair A.L. et al Protein measurement with the Foil Phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol. 193, No. 1. - P. 265 - 275.
11. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю.Д., Войціцький В.М. Сучасні методи біохімічних досліджень. - К.: Фітосоціоцентр, 2001. - 412 с.
12. Колесов О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах // Лабораторное дело. - 1984. - № 9. - С. 540 - 546.
13. Міронова Н.Г., Древаль В.І., Січевська Л.В. Зміни структури мітохондріальних мембран печінки щурів за дії іонізуючої радіації // Укр. біохім. журнал. - 1999. - Т. 71, № 4. - С. 95 - 98.
14. Кучеренко М.Є., Хижняк С.В., Веклярський Р.З., Войціцький В.М. Ентероцити тонкої кишки та радіація. - К.: Фітосоціоцентр, 2003. - 176 с.

**А. А. Прохорова, Л. И. Степанова, Е. А. Грогуль, М. И. Дегтярева, С. В. Хижняк**

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НИЗКОЙ МОЩНОСТИ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ  
НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС**

Исследовано пероксидное окисление липидов и функционирование антиокислительной системы крови, клеток слизистой оболочки кишечника и гепатоцитов крыс в результате рентгеновского излучения в дозах 0,1, 0,5 и 1,0 Гр низкой мощности (55 мГр/мин). Полученные результаты свидетельствуют о нарушении окислительно-антиокислительного гомеостаза в организме крыс в ранний послерадиационный период (1, 12 и 24 ч). Показана активация окислительных процессов и нарушение функционирования антиокислительных ферментов в зависимости от дозы облучения. Не наблюдается восстановление активности каталазы и супероксиддисмутазы до контрольных значений через 7 сут после облучения в дозах 0,5 и 1,0 Гр.

*Ключевые слова:* рентгеновское облучение, низкая мощность, антиоксидантные ферменты, тонкая кишка, гепатоциты.

**A. A. Prohorova, L. I. Stepanova, Eu. A. Grogul, M. I. Degtyareva, S. V. Khyzhnyak**

**INFLUENCE OF IONIZING IRRADIATION OF LOW POWER ABSORBED DOSES  
ON THE ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN RATS**

Intensity of lipid peroxidation and the functional ability of antioxidant system in blood, hepatocytes and small intestine mucosa cells of rats at one-time action of low power X-irradiation (55 mGy/min) in the doses 0,1, 0,5 and 1,0 Gy were investigated. Obtained results testify the disturbances in pro-oxidant and antioxidant homeostasis in rats at the early post-radiation terms (1, 12 and 24 h). Revealed activation of oxidative processes and dysfunction of antioxidant enzymes in blood serum, small intestine mucosa cells and hepatocytes in dependence to the irradiation dose were shown. The reversion of catalase and superoxide dismutase activity to the control values has not been observed on the 7<sup>th</sup> day after irradiation in doses 0,5 and 1,0 Gy.

*Keywords:* X-ray irradiation, low power, antioxidant enzymes, small intestine, hepatocytes.

Надійшла до редакції 16.03.11,  
після доопрацювання - 30.05.11.