

**І.М. Звягольська**

## **Вплив пептидного екстракту еритроцитів на показники перекисного окиснення та гемостаз тварин при дробному дозованому $\gamma$ -опроміненні**

*В двух сериях экспериментов изучено влияние пептидного экстракта эритроцитов на функциональное состояние показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и гемостаза, как составляющих адаптационных реакций, при дробном дозированном  $\gamma$ -облучении. Облучение производили на протяжении 6 сут (по 1 Гр в сутки). Параллельно облучению морским свинкам опытной группы каждой серии внутримышечно вводили пептидный экстракт эритроцитов - 0,1 мг/кг, разведенного в 0,2 мл стерильного физиологического раствора; контрольной группе - эквивалентный объем стерильного физиологического раствора. Забой морских свинок I серии производили на следующие сутки, после облучения, а морских свинок II серии - 12 сут спустя. Выявлены нарушения функционального состояния изучаемых показателей, характер которых, по сравнению с интактными животными, определялся пострадиационным сроком. При введении пептидного экстракта эритроцитов модулирующий эффект наблюдался у экспериментальных животных не сразу после 6-суточного дробного облучения, а через 12 сут после действия  $\gamma$ -лучей.*

### **Вступ**

Однією з актуальних проблем сучасної радіобіології, медицини є вивчення адаптаційних можливостей організму живих істот на різних структурно-функціональних рівнях при дії іонізуючого випромінювання, а також розробка і впровадження в медичну практику препаратів-біорегуляторів, коригуючих функціональний стан систем, які зумовлюють формування адекватних реакцій організму у екстремальній для нього ситуації.

Перспективним підходом до вирішення цієї проблеми є застосування регуляторних пептидів природного походження, зокрема виділених із тканин, органів чи клітин тварин різних таксономічних груп. Результати досліджень останніх років [1-3,5-7,10,12,15,20,21] показали, що такі біологічно активні пептиди беруть участь у регуляції фізіологічних процесів або окремих реакцій різного функціонального рівня як за досить стабільних умов існування, так і у разі дії на організм різноманітних збурюючих агентів навколишнього середовища. Є численні дані про позитивний вплив регуляторних пептидів на перебіг багатьох патологічних процесів - нефритів, гепатитів, пневмоній, імунодефіцитів тощо [4,5,8,11,13,16].

Для окремих регуляторних пептидів та їх систем властивим є регіональна (органна чи тканинна) специфічність біосинтезу, локалізація та фізіологічний ефект дії, і в той же час, у більшості із них виявлено поліфункціональну дію.

Відомо, що одним із маркерів міри ураження організму іонізуючим випромінюванням є зміна інтенсивності процесів перекисного окиснення

© І.М. Звягольська

ліпідів (ПОЛ) і стану його лімітуючої альтернативи - антиоксидантного (АО) захисту. Водночас реакції ПОЛ та АО-захисту пов'язані з гемостатичними процесами [14]. Тому ми вважали за доцільне вивчити дію пептидного екстракту еритроцитів на стан ПОЛ, АО-захисту, коагуляційний і тромбоцитарний гемостаз у морських свинок за умов моделювання дробного дозованого  $\gamma$ -опромінення.

## **Методика**

Проводили дві серії експериментів на 60 морських свинках-самцях масою 350-400 г. До обох серій входило три групи тварин (по 10 морських свинок): в I групу ввійшли інтактні тварини, до II - контрольні, до III - дослідні тварини. Експериментальних морських свинок опромінювали за допомогою  $\gamma$ -кобальтової гармати "Агат-2" протягом 6 діб по 1 Гр за добу. Загальна доза дробного опромінення дослідних тварин становила 6 Гр [9].

Морським свинкам дослідних груп I і II серій паралельно до опромінення (протягом 6 діб) внутрішньом'язово вводили пептидний екстракт еритроцитів свиней - 0,1 мг/кг, розведеного в 0,2 мл стерильного фізіологічного розчину; контрольним тваринам - такий самий об'єм стерильного фізіологічного розчину.

Забій морських свинок I і II серій і взяття матеріалу для досліджень проводили на 2-гу добу та через 12 діб по закінченні опромінювання відповідно. Пептидний екстракт еритроцитів одержано за допомогою оригінального метода, який розроблений в ЦНДЛ Української медичної стоматологічної академії [17].

Стан ПОЛ та АО-захисту оцінювали за вмістом ТБК-реактивних продуктів метаболізму, дієнових кон'югатів, приростом малонового діальдегіду (МДА) після 1,5-годинної інкубації в прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині, активністю супероксиддисмутази (СОД), активністю каталази, вмістом церулоплазміну, перекисною резистентністю еритроцитів (ПРЕ). Зміни в системі коагуляційного і тромбоцитарного гемостазу оцінювали за кількістю тромбоцитів, за часом рекальцифікації, тромбіновим, протромбіновим і каоліновим часом, вмістом фібриногену і продуктів його деградації, активністю антитромбіну III, агрегаційною активністю тромбоцитів (визначали сумарний індекс агрегації тромбоцитів - СІАТ). Для визначення зазначених показників використали загальноприйняті клініко-лабораторні методи досліджень [18]. Лабораторних тварин утримували за умов віварію на стандартному раціоні харчування. Кров від дослідних тварин забирали з правого передсердя під гексеналовим наркозом.

Результати проведеного дослідження статистично оброблені з використанням критерію  $t$  Стьюдента [19].

## **Результати та їх обговорення**

Під час досліджень спостерігали, що у морських свинок I серії після 6-добового дробного опромінювання намітилася загальна тенденція до зменшення інтенсивності процесів ліпопереокиснення на тлі зміненої активності ферментів АО-захисту (табл. 1): вміст ТБК-реактантів і МДА після 1,5-годинної інкубації зменшився на 19,37 і 36,02% відповідно, активність

СОД знизилася на 24,42%, відсоток спонтанно гемолізованих еритроцитів збільшився на 32,23% і незначно змінилась активність каталази і вміст церулоплазміну.

Однак виявлено неповну закономірну зміну показників ПОЛ. Так, вміст дієнових кон'югованих продуктів, навпаки, збільшився на 26,64%.

Під впливом дробного  $\gamma$ -опромінення у дослідних тварин цієї ж серії зафіксовано послаблення проагрегаційних властивостей тромбоцитів (СІАТ зменшився на 41,92%) і прокоагуляційного потенціалу крові (див. табл. 1): час рекальцифікації подовжився на 11,52%, тромбіновий час - на 27,97%, коаліновий час - на 7,97%, вміст антитромбіну III збільшився на 18,43% і практично не змінилась концентрація фібриногену і вміст продуктів деградації фібриногену. Одержані результати збігаються з даними літератури [10] .

У морських свинок II серії через 12 діб після дробного опромінювання зберігалися порушення показників ПОЛ та АО-захисту: підвищений вміст дієнових кон'югатів (на 15,51%), знижений відсоток спонтанно гемолізованих еритроцитів (на 20,70%), знижена активність СОД (на 20,51%), зменшення концентрації церулоплазміну (на 33,93%): кількісний вміст вторинних продуктів ліпоперекиснення й активність каталази практично не відрізнялися від показників інтактних тварин (табл. 2).

Через 12 діб після дробного 6-добового опромінювання у морських свинок II серії спостерігали подальше зниження агрегаційної активності тромбоцитів (СІАТ зменшився на 76,16%), в той час як зміни коагуляційного гемостазу зареєстровані за окремими показниками (див. табл. 2): подовження тромбінового часу на 40,09%, скорочення протромбінового часу на 34,24%, підвищення активності антитромбіну III на 36,93%.

6-добове введення пептидного екстракту еритроцитів морським свинкам дослідної групи I серії не справило суттєвої біокоригуючої дії на змінені внаслідок дробного опромінювання показники ПОЛ і АО-захисту, за виключенням таких характеристик, як резистентність еритроцитів до перекисного гемолізу і активність супероксиддисмутази (відсоток корекції 23,36 і 42,87% відповідно; табл. 1).

Введення пептидного комплексу не сприяло відновленню агрегаційної активності тромбоцитів і коагуляційного потенціалу (див. табл. 1), а за деякими тестами (тромбіновий, протромбіновий і коаліновий час) навіть намітилася тенденція до подальшого порушення активності коагулогічних показників; позитивні зрушення намітились у відношенні тривалості часу рекальцифікації (напрямок до скорочення) і активності антитромбіну III (напрямок до зниження).

Отже, аналіз одержаних результатів свідчить, що введення пептидного екстракту еритроцитів морським свинкам I серії не мало помітної коригуючої дії на змінені внаслідок 6-добового дробного опромінювання показники ПОЛ, АО-захисту і гемостазу, як складових загальної системи реагування організму, на несприятливі екзо- і ендофактори.

У морських свинок дослідної групи II серії відбулося відновлення стану показників, які були змінені і через 12 діб після опромінення (див. табл. 2): вміст дієнових кон'югатів порівняно з контролем зменшився на 12,34%,

підвищилась активність СОД на 70,97%, концентрація церулоплазміну - на 54,99%. Водночас у дослідних тварин (теж порівняно з контрольною групою) приріст МДА підвищився на 157,78% і перевищував значення цього показника щодо інтактних морських свинок на 85,22%. Поряд з цим відмічається підвищення на 11,65 і 29,94% відповідно резистентність еритроцитів до перекисного гемолізу порівняно з контрольною і інтактною групами тварин .

Кількість тромбоцитів та їх здатність до агрегації у морських свинок, яким паралельно до 6-добового дробного опромінювання вводили пептидний екстракт еритроцитів, відновилася практично до значень інтактних тварин.

Таблиця 1.

**Вплив пептидного екстракту еритроцитів на показники ПОЛ, активність АО-ферментів і гемостазу морських свинок першої серії після дробного  $\gamma$ -опромінення (М  $\pm$  м)**

Показник	Інтактні тварини	Опромінення	
		Контроль	Дослід
ТБК-активні продукти після 1,5-годинної інкубації, мкмоль/л	14,61 $\pm$ 0,79	11,78 $\pm$ 0,52*	11,86 $\pm$ 1,06*
Приріст МДА за 1,5 год інкубації, мкмоль/л	9,91 $\pm$ 0,15	6,34 $\pm$ 0,08*	10,40 $\pm$ 1,31..
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	30,52 $\pm$ 1,26	38,65 $\pm$ 2,12*	23,90 $\pm$ 1,25*..
Спонтанний гемоліз еритроцитів, % гемолізу	3,32 $\pm$ 0,52	4,39 $\pm$ 0,41	4,14 $\pm$ 0,48
Активність СОД, од. акт.	0,86 $\pm$ 0,04	0,65 $\pm$ 0,03*	0,74 $\pm$ 0,04*
Каталазний індекс	2,63 $\pm$ 0,25	2,68 $\pm$ 0,33	2,15 $\pm$ 0,19
Каталазний показник, ум. од.	14,60 $\pm$ 0,67	11,93 $\pm$ 0,48*	10,48 $\pm$ 0,95*
Церулоплазмін сироватки крові, мг/л	245,88 $\pm$ 16,41	231,61 $\pm$ 26,00	235,44 $\pm$ 34,45
Кількість тромбоцитів, $\times 10^9$ /л	142,43 $\pm$ 12,9	82,41 $\pm$ 9,74*	31,25 $\pm$ 8,90*
Сумарний індекс агрегації тромбоцитів, %	58,78 $\pm$ 1,50	34,14 $\pm$ 4,47*	32,49 $\pm$ 1,95*
Час рекальцифікації тромбоцитної плазми, с	82,54 $\pm$ 1,66	92,05 $\pm$ 1,63*	88,04 $\pm$ 1,56*
Тромбіновий час безтромбоцитної плазми, с	25,24 $\pm$ 0,37	32,30 $\pm$ 1,08*	36,90 $\pm$ 1,03*..
Протромбіновий час тромбоцитної плазми, с	52,36 $\pm$ 1,74	50,08 $\pm$ 0,99	54,46 $\pm$ 1,76
Каоліновий час тромбоцитної плазми, с	49,16 $\pm$ 0,96	53,08 $\pm$ 1,43*	58,18 $\pm$ 1,56*..
Антитромбін III, с	24,64 $\pm$ 1,08	29,18 $\pm$ 1,33*	28,03 $\pm$ 1,37
Фібриноген, г/л	2,47 $\pm$ 0,17	2,68 $\pm$ 0,11	2,56 $\pm$ 0,29
Продукти деградації фібриногену, мг/л	7,40 $\pm$ 1,48	6,21 $\pm$ 0,82	7,42 $\pm$ 1,25

Примітка. Тут і в табл. 2: \* - вірогідні відмінності між значеннями у інтактних тварин і тварин, які зазнали дії  $\gamma$ -променів; \*\* - вірогідні відмінності між значеннями у тварин контрольних і дослідних груп.

Це свідчить про позитивну дію пептидного комплексу на тромбоцитарну ланку гемостазу. Суттєвих змін коагуляційного гемостазу під дією пептидного комплексу у експериментальних тварин II серії не зареєстровано (табл. 2).

Таблиця 2.

**Вплив пептидного екстракту еритроцитів на показники ПОЛ, активність АО-ферментів і гемостазу морських свинок II серії після дробного  $\gamma$ -опромінення ( $M \pm m$ )**

Показник	Інтактні тварини	Опромінення	
		Контроль	Дослід
ТБК-активні продукти після 1,5-годинної інкубації, мкмоль/л	12,22 ± 0,82	12,10±1,25	13,20±0,42
Приріст МДА за 1,5 год інкубації, мкмоль/л	15,56 ± 1,23	11,18±0,82*	28,82±2,06**
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	35,86±0,65	41,42±0,86*	36,31±0,82**
Спонтанний гемоліз Еритроцитів, % гемолізу	3,14±0,05	2,49±0,17	2,20±0,15*
Активність СОД, од. акт.	0,78±0,03	0,62±0,04*	1,06±0,09**
Каталазний індекс	1,66±0,20	1,62±0,16	1,31±0,21
Каталазний показник, ум. од.	7,10±0,09	9,12±0,08*	6,11±0,83**
Церулоплазмін сироватки крові, мг/л	250,72±3,97	233,48±2,89*	251,91±3,53**
Кількість тромбоцитів, $\times 10^9$ /л	169,72±21,41	125,33±10,60*	147,43±11,91
Сумарний індекс агрегації тромбоцитів, %	56,30±2,25	13,42±1,91*	48,31±3,75
Час рекальцифікації тромбоцитної плазми, с	57,14±2,02	56,12±2,12	57,34±1,80
Тромбіновий час безтромбоцитної плазми, с	18,42±1,33	22,12±1,28*	23,74±1,00*
Протромбіновий час тромбоцитної плазми, с	40,60±2,51	26,70±0,97*	40,89±1,96**
Каоліновий час тромбоцитної плазми, с	35,70±2,90	35,06±1,76	38,36±1,46
Антитромбін III, с	37,80±0,78	51,79±1,87*	50,04±2,62*
Фібриноген, г/л	1,50±0,07	2,01±0,14*	1,81±0,07*
Продукти деградації фібриногену, мг/л	5.10±1,11	4.81±0,65	4,17±0,78

Отже, біорегулююча дія пептидного екстракту еритроцитів після шестидобового дробного опромінювання мала позитивний ефект не відразу після впливу  $\gamma$ -променів, а через 12 діб потому; підтвердження цього - відновлення окремих показників, характеризуючих процеси ПОЛ, функціональний стан АО-захисту і системи гемостазу саме в більш віддалений пост-радіаційний строк.

Аналізуючи одержані результати, можна припустити, що застосований у роботі пептидний комплекс сприяв, перш за все, відновленню тромбопластичних властивостей еритроцитів, їх функціонального стану, а при

залученні в систему “пептидрегуляторного континуума” [2] кровотоку, фізіологічно пов’язаних з ним тканин - відновленню функціонального стану системи гемостазу і ПОЛ та АО-захисту. Водночас підвищення приросту МДА порівняно з контрольною і інтактною групами тварин при паралельній нормалізації інших вивчених показників, які характеризують активність процесів ПОЛ і АО, вказують на необхідність подальшого вивчення ролі регуляторних пептидів в адаптаційних реакціях організму при дії  $\gamma$ -променів із врахуванням дози певних пептидних комплексів і пострадіаційних строків. Той факт, що пептидний комплекс еритроцитів при введенні його експериментальним тваринам під час  $\gamma$ -опромінення посилює свою негативний ефект, свідчить про те, що пептидний комплекс може виконувати стимулюючу проліферативну дію на клітини кісткового мозку. Тому доцільні подальші дослідження фізіологічної активності пептидного комплексу проводити в віддалені строки після  $\gamma$ -опромінення.

Таким чином, результати проведеного експерименту підтверджують перспективність вивчення впливу пептидних екстрактів клітинного, тканинного чи органного походження (як потенційно лікарських препаратів) на різні ланки єдиного механізму захисту при дії на організм несприятливих факторів довкілля.

**I.N.Zvyagolskaya**

**THE INFLUENCE OF THE ERYTHROCYTE PEPTIDE EXTRACT ON THE SEPARATE INDEXES OF THE LIPID PEROXIDE OXYDATION, ANTIOXIDANT PROTECTION AND HAEMOSTASIS OF ANIMAL'S ON WHEN EXPOSED TO DOSED FRACTIONS GAMMA-RAYS IRRADIATION**

We have studied the influence of the erythrocyte peptide extract on the functional condition of the indexes of the lipid peroxide oxydation and antioxidant protection and haemostasis, as the composite adaptational reactions, in two series of guinea-pigs, which were exposed to the fractions dosed gamma-rays irradiation for 6 days (on 1 Gr per day). The visible effect was observed in guinea-pigs, which had injection of the erythrocyte peptid extract not immediately after 6-days exposure fractions gamma-rays radiation, but in 12 days.

*Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava*

**Список літератури**

1. Ашмарин И.П. Перспективы практического применения и некоторых фундаментальных исследований малых регуляторных пептидов // *Вопр. мед. химии.* - 1984. - № 3. - С. 2 - 7.
2. Ашмарин И.П., Обухова М.Д. Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная совокушность // *Биохимия.* - 1986. - 51, № 4.- С. 531 - 545.
3. Аюшев О.Д., Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н. Влияние полипептидов, выделяемых тромбоцитами в процессе реакции высвобождения на иммунитет и гемостаз // *Физиол. журн.* - 1995. - 81, № 7. - С. 80 - 85.
4. Будажабон Г.Б., Кузник Б.И., Морозов В.Г. Состояние иммуногенеза и гемостаза у больных с обострением хронического гломерулонефрита, леченых тималином // *Терап. архив.* - 1984. - № 10. - С. 62 - 66.

5. *Витковский Ю.А.* Влияние полипептидов печени на иммунитет, гемостаз и неспецифическую резистентность организма в эксперименте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- Чита, 1990. - 16 с.
6. *Данилова Н.В., Куценко Л.А., Кайдашев И.П.* Влияние "Вермилата" на некоторые показатели метаболизма миокарда при сердечной недостаточности у животных // Физиология та патологія імунітету, гемостазу та перекисного окислення ліпідів: 36. наук. праць. -Полтава, 1997. - С. 75 - 79.
7. *Кайдашев І.П.* Механізм утворення та дії поліпептидних біорегуляторів-цитомедінів //Фізіол. журн. - 1994. - 40, № 1. - С. 51 - 63.
8. *Кайдашев И.П.* Влияние почечных полипептидов на активность лимфоцитов при экспериментальном нефрите // Там же - 1993. - 39, № 5-6. - С. 52 - 56.
9. *Катрушов О.В.* Використання нових органоспецифічних поліпептидних препаратів для експериментальної терапії патологій, викликаних пошкоджуючими факторами навколишнього середовища: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук.- Київ, 1995.- 39 с.
10. *Крючко Т.О.* Порушення гемато-імунологічного гомеостазу у дітей груп радіаційного ризику та спроба їх корекції за допомогою тимічних поліпептидів - В кн.: Физиология та патологія імунітету, гемостазу та перекисного окислення ліпідів: 36. наук. праць. -Полтава, 1997. - С. 126 - 129.
11. *Кузник Б.И., Степанов А.В., Цыбиков Н.Н. и др.* Коррекция иммунитета и гемостаза пептидами из сумки Фабрициуса и костного мозга у эмбрионально бурсоэктомированных цыплят //Фармакология и токсикология. - 1988. - 51, № 1. - С. 53 - 55.
12. *Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Цитомедины и их роль в регуляции физиологических функций //Усп. совр. биологии. - 1995. - 115, вып. 3. - С. 363 - 367.
13. *Литвиненко Н.В.* Перекисное окисление липидов, физиологическая антиоксидантная система и гемостаз в тканях головного мозга в норме, при экспериментальной патологии и их регуляция кортексином: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Харьков, 1992. - 20 с.
14. *Мищенко В.П., Лобань-Черета Г.А.* Корреляция антиоксидантной и свертывающей системы крови в физиологических условиях //Физиол. журн. - 1989. - 39, № 1. - С. 9 - 13.
15. *Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Кузник Б.И. и др.* Влияние полипептидов, выделенных из костного мозга, на иммунитет и гемостаз //Гематология и трансфузиология. - 1984. - № 4. - С. 35 - 37.
16. *Пархоменко В.К.* Вплив поліпептидів серця, печінки та нирок на стан тканинної ланки гемостазу при активації пероксидації в умовах експериментальної патології: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Львів, 1994. - 18 с.
17. *Патент України № 5743 А61К37/02.* Кайдашев І.П., Катрушов О.В., Цебржинський О.І. та ін. Препарат тканинних біологічно активних речовин, який має регенераторну дію та спосіб його одержання (Україна № 93080807. Заявл. 29.06.93; опубл. 29.12.94, Бюл. 8-1).
18. *Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині.* / Під ред. Кайдашева І.П., Соколенко В.М., Катрушова О.В. -Полтава, Вид-во УМСА, 1996. - 271 с.
19. *Румшинский И.З.* Математическая обработка результатов эксперимента. - М., 1971. - С. 25 - 41.
20. *Bing C., Wang O., Pickavance L., Williams G.* The central regulation of energy homeostasis: Roles of neuropeptide V and other brain peptides //Biochtm. Soc. Transactions. - 1996. - 24, № 2. - ? 559 - 565.
21. *Lorenzo G.A.,Ester A.,Chilmonczar S.,Coll J.M.* Different peptides from hemorrhagic septicemia rhabdoviral proteins stimulate leucocyte proliferation with individual fish variation //Virology. - 1995. - 212, № 2. - P. 348 -355.