

У.В. Коник, М.Р. Гжегоцький, С.М. Ковальчук

Метаболічні ефекти олії амаранту та імпульсного гіпоксичного тренування за умов дії фтористої інтоксикації та малих доз радіації

Исследовано влияние масла амаранта и импульсной гипоксической тренировки на перекисное окисление липидов, антиоксидантную активность в крови, гомогенатах печени и сердца, а также метаболиты оксида азота в ткани мозга крыс при комбинированном воздействии ионизирующего облучения и хронической фтористой интоксикации. Установлено, что комплексное использование масла амаранта импульсной гипоксической тренировки вызывает повышение как ферментативных так и неферментативных звеньев антиоксидантной защиты во всех исследуемых тканях. Отмечено также увеличение содержания метаболитов оксида азота в гомогенатах мозга, нормализацию липопероксидации в печени и сердце. Полученные результаты дают основания считать, что применение в комплексе масла амаранта и импульсной гипоксической тренировки позволяют значительно повысить адаптационные возможности организма и могут быть использованы для коррекции бинарного действия фтористой интоксикации и ионизирующего излучения.

ВСТУП

Одним з основних завдань медицини та біології є збереження гомеостазу організму людини. За сучасних умов ця проблема тісно пов'язана з вивченням закономірностей комплексної дії різних екстремальних факторів з метою прогнозування вірогідності формування тих чи інших патологічних станів та розробки адекватних заходів щодо їх попередження [1, 7]. В Україні є низка ендемічних вогнищ флюорозу, які часто географічно збігаються із зонами підвищеного радіаційного фону. Тому важливо з'ясувати та порівняти між собою реакції-відповіді організму за умов одинарного та поєднаного впливу іонізуючого випромінювання та хімічних факторів для найбільш адекватної корекції та профілактики виявлених порушень.

Відбір згаданих методів часто базується на необхідності пристосування до такої

неспецифічної ланки різних патологічних станів, як гіпоксія. Очевидно, з цим пов'язане широке використання методів нормобаричної та гіпобаричної гіпоксії для оздоровлення організму, підвищення його фізіологічних резервів, профілактики патологічних станів, лікування та реабілітації хворих [5, 16]. У наших попередніх дослідженнях показано ефективність застосування імпульсної гіпоксії при хронічній фтористій інтоксикації [6]. В експериментах інших учених доведено можливість газових гіпоксичних сумішей підвищувати стійкість організму до побічних дій іонізуючої радіації [4]. За даними літератури радіопротекторний ефект властивий також препарату природного походження - олії амаранту [21].

Оскільки метою дослідження було вивчення метаболічних зрушень за умов дії малих доз опромінення на тлі довготривалого введення натрію фториду та можли-

востей корекції цих змін, безумовний інтерес викликає обґрунтування застосування імпульсного гіпоксичного тренування та олії амаранту при бінарній дії цих екстремальних чинників.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 50 статевозрілих щурах-самцях. Хронічну фтористу інтоксикацію викликали пероральним введенням натрію фториду в дозі 10 мг/кг впродовж 30 діб [15]. Радіаційний вплив здійснювали чотириразово по 0,25 Гр з використанням приладу “Агат” (джерело Со) [2]. Гіпоксичне тренування проводили в барокамері в такому режимі: п’ятиразове піднімання тварин на “висоту” 3000 м по 10 хв. Перерва між сеансами гіпоксії – 15 хв, тривалість тренування – 10 діб. Швидкість “піднімання” – 20 м/с. На 1-шу добу тренування напруження кисню відповідало висоті 1000 м, на 2-гу – 2000 м, на 3-тю і до десяти діб – 3000 м [10]. Одночасно щоденно тварини споживали олію амаранту з їжею у дозі 38 мг/кг [12]. Утримання, годування та евтаназія (за допомогою декапітації) лабораторних тварин продилися за загальноприйнятими методиками.

У сироватці крові, тканинах печінки та серця визначали вміст первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – дієнових кон’югатів (ДК) [3], вміст ТБК-активних продуктів ліпопероксидації [17]. Досліджували активність антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази (СОД) [9], каталази (КАТ) [7], глутатіонпероксидази (ГПО) [13], загальну антиокисну активність (I_{AOA}) [11]. Крім того, у крові визначали вміст β -ліпопротеїнів (β -ЛП). Вміст метаболітів оксиду азоту в гомогенатах мозку визначали спектрофотометрично за допомогою реактиву Гріса [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У наших попередніх дослідженнях було показано, що комплексна дія іонізуючого вип-

ромінювання та хронічної фтористої інтоксикації суттєво змінює метаболічні перетворення як відносно контролю, так і відносно одноразового впливу кожного з цих факторів. Головний ефект впливу малих доз іонізуючої радіації при хронічній фтористій інтоксикації проявляється зниженням у крові продуктів ліпопероксидації на тлі пригнічення активності ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) (табл. 1). У тканинах печінки та серця бінарна дія фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання призводить до підвищення відносно контролю вмісту ТБК-активних продуктів ліпопероксидації, більш вираженого у тканині серця (табл. 2, 3). При цьому спостерігається зменшення потужності антиоксидантної системи, про що свідчить зниження щодо контролю загальної антиоксидантної активності, беручи до уваги ІАОА, активності глутатіонпероксидази в обох тканинах, проте більш істотніше - у тканині серця. Крім того, у печінці спостерігається зменшення активності каталази, у серці – СОД. Підвищена активність каталази у серці та супероксиддисмутази у печінці є недостатніми для нормалізації продуктів ПОЛ. Таким чином, за даних умов активація одного з ферментів початкових етапів антирадикального захисту при зниженні активності основного ферменту антиперекисної дії – глутатіонпероксидази, а також на тлі пригнічення загальної антиокисної активності не забезпечують підтримання рівня ліпопероксидації у межах контролю. Одночасно спостерігається зменшення на 31,55 % вмісту одного з метаболітів NO – нітриту в мозку, що, із врахуванням вищезгаданого зниження антиоксидантного потенціалу може свідчити про послаблення адаптивного захисту організму при бінарній дії досліджуваних екстремальних факторів.

При десятидобовому імпульсному гіпоксичному тренуванні контрольних тварин та споживанні ними доданої до їжі олії амаранту у тканині печінки відмічається зниження вмісту ТБК-активних продуктів (на 21 %) при тенденції до підвищення рівня АОЗ (див. табл. 2).

Таблиця 1. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту (АОЗ) у крові щурів при застосуванні імпульсного гіпоксичного тренування та олії амаранту після бінарної дії хронічної фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контроль	NaF та іонізуюче випромінювання	Імпульсне гіпоксичне тренування та олія амаранту	Комплексна дія і лікування
ТБК-активні продукти, мкмоль/мл	112,36±5,91	92,6±3,5*	98,70±7,21	96,63±4,00*
Дієнові кон'югати, од.Е/мл	1,32±0,08	0,64±0,08*	0,94±0,07*	1,35±0,12**,***
Загальна антиокисна активність (I_{AOA}), од.	1,34±0,04	1,18±0,05*	1,36±0,08**	1,51±0,09**,**
Каталаза, мкмоль $H_2O_2 \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$	0,104±0,008	0,073±0,008*	0,104±0,010	0,118±0,011
Супероксиддисмутаза, од. акт. $\cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$	545,57±35,98	398,10±30,54*	497,4±33,86	560,94±37,77
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH $\cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$	1,16±0,08	0,43±0,09*	1,18±0,09	1,18±0,10**
β -ліпопротеїни, ум. од. $\cdot \text{мл}^{-1}$	7,25±1,01	9,9±1,88	6,3±0,60	7,76±0,83

Примітка. Тут і в табл. 2 та 3: * $P < 0,05$ – різниця показників щодо контролю; ** $P < 0,05$ – щодо бінарної дії NaF та радіації; *** $P < 0,05$ – щодо імпульсного гіпоксичного тренування та олії амаранту.

У крові та тканині серця також спостерігається тенденція до зниження вмісту ТБК-активних продуктів та підвищення антиоксидантного потенціалу (див. табл. 1, 3).

Комплексне застосування імпульсного гіпоксичного тренування й олії амаранту після бінарної дії фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання сприяло нормалізації суттєво змінених внаслідок дії цих чинників показників системи ПОЛ - АОА.

Це виявляється у зменшенні суттєво підвищеного відносно бінарної дії екстремальних

факторів вмісту ТБК-активних продуктів у тканині печінки та серця, зростанні потужності антиоксидантного захисту. Про це свідчить підвищення у тканині печінки загальної антиоксидантної активності на 24,6 %, збільшення каталазної активності на 58,8 %, глутатіонпероксидазної – в 4,6 раза. Спостерігається також збільшення загальної АОА на 23,5 %, супероксиддисмутазної активності в 1,78 раза, глутатіонпероксидазної – в 2,17 раза у тканині серця. Найбільш несприятлива внаслідок сумісної дії екстремальних чинників ме-

Таблиця 2. Зміни показників ПОЛ і АОЗ у тканині печінки щурів при застосуванні імпульсного гіпоксичного тренування та олії амаранту після бінарної дії хронічної фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контроль	NaF та іонізуюче випромінювання	Імпульсне гіпоксичне тренування та олія	Комплексна дія імпульсного гіпоксичного тренування та олії
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	1109,05±84,79	1436,46±85,11*	875,9±66,39	999,84±46,82**
Дієнові кон'югати, од.Е/мл	5,1±0,70	13,48±1,05*	5,60±0,98	5,39±0,92**
Загальна антиокисна активність (I_{AOA}), од.	2,59±0,12	1,99±0,13*	2,66±0,13	2,48±0,33**
Каталаза, мкмоль $H_2O_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$	109,46±8,57	82,66±7,30*	117,80±16,77	131,29±6,78**
Супероксиддисмутаза, од. акт. $\cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$	619,88±30,85	914,19±41,58*	707,77±56,45	666,1±28,33**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH $\cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$	2,43±0,10	0,58±0,02*	2,57±0,12	2,65±0,25**

Таблиця 3. Зміни показників ПОЛ і АОЗ у тканині серця щурів при застосування імпульсного гіпоксичного тренування та олії амаранту після бінарної дії хронічної фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контроль	NaF та іонізуюче випромінювання	Імпульсне гіпоксичне тренування та олія	Комплексна дія імпульсного гіпоксичного тренування та олії
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	981,32±64,18	1454,31±98,34*	907,81±74,12	979,28±38,87**
Дієнові кон'югати од.Е/мл	5,67±0,35	7,21±0,52	6,33±0,41	5,65±0,46**
Загальна антиокисна активність (I_{AOA}), од.	1,67±0,11	1,36±0,09*	1,56±0,10	1,68±0,12**
Каталаза, мкмоль $H_2O_2 \cdot g^{-1} \cdot год^{-1}$	3,3±0,14	3,8±0,24*	3,28±0,06	3,44±0,19**
Супероксиддисмутаза, од. акт. · мг ⁻¹ · хв ⁻¹	639,2±47,31	398,11±38,81*	619,29±48,41	710,44±53,99**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH·г ⁻¹ · хв ⁻¹	1,86±0,14	0,86±0,05*	1,71±0,13	1,87±0,15**

таболічна ситуація у крові, яка виявляється у зниженні вмісту вмісту ТБК-активних продуктів на тлі достовірного пригнічення активності ферментів АОЗ, при дії коригуючих чинників також нормалізується. Простежується вірогідне щодо бінарної дії збільшення активності всіх ланок ферментативного АОЗ, а також підвищення загальної антиоксидантної активності (на 28%), при цьому вміст вмісту ТБК-активних продуктів не відрізняється від такого у разі комплексної дії досліджуваних чинників.

Одночасно вміст метаболітів NO в мозку збільшився на 15% відносно контрольних значень, а щодо бінарної дії екстремальних факторів - на 69,7%. Підвищення концентрації нітриту при комплексному застосуванні імпульсного гіпоксичного тренування й олії амаранту корелює з активацією АОЗ. Ці зміни узгоджується з літературними даними, згідно яких короткочасна адаптація до гіпоксії може лежати в основі захисних ефектів до пошкоджуючих чинників [14].

Отримані результати дають підстави стверджувати, що комплексна дія імпульсного гіпоксичного тренування й олії амаранту призводить до підвищення антиоксидантного потенціалу, що можливе внаслідок мобілізації внутрішніх резервів АОЗ, у тому числі посилення енергетичного статусу, стимулюючи залучення продуктів

ПОЛ до аеробних процесів. Одним з механізмів коригуючого впливу досліджуваних показників є нагромадження за умов короткочасної гіпоксичної експозиції при імпульсному гіпоксичному тренуванні відновлених носіїв і як наслідок зростання рівня вільнорадикальних перетворень, а при реоксигенації - зумовлена зміною кисневого режиму активація окисно-відновних процесів [18]. Сприятливий ефект коригуючих чинників значною мірою пов'язаний із дією екзогенних антиоксидантів, введених з олією амаранту, до складу якої, виходячи з даних літератури, входять сквален, токоферол, каротиноїди тощо [20]. Застосування оптимального комплексу антиоксидантів та ненасичених жирних кислот олії амаранту на тлі пригнічення окисно-відновних процесів при поєднаній дії хронічної фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання забезпечує ефективну мобілізацію енергетичних ресурсів і засвоєння вільної енергії в системі структурно-метаболічних перетворень, що сприяє підвищенню адекватності компенсаторних реакцій організму, спричинених екстремальними чинниками.

Таким чином, комплексне дослідження процесів ПОЛ, системи антиоксидантного захисту, метаболітів оксиду азоту вперше обґрунтовує доцільність використання олії амаранту та імпульсного гіпоксичного тре-

нування для корекції бінарної дії фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання, оскільки застосування цих показників зумовлює підвищення адаптаційної здатності організму за досліджуваних умов. Включення в терапевтичний комплекс засобів, які активують окисно-відновні процеси і стабілізують клітинні та субклітинні мембрани, а, відповідно, і мембранозалежний метаболізм, забезпечує підвищення ефективності лікування комплексної дії фтористої інтоксикації та іонізуючої радіації.

Дослідження виконано завдяки частковій підтримці гранту WUBMRC (West-Ukrainian BioMedical Research Center).

Олія амаранту люб'язно надана НВЦ "Даніка" / Харків, Україна.

U.V. Konyk, M.R. Gzhegotsky, S.M. Kovalchuk

METABOLIC EFFECT OF AMARANTH OIL AND IMPULSE HYPOXIC TRAINING UNDER CHRONIC FLUORIDE INTOXICATION AND SMALL – DOSES OF IONIZING RADIATION

Lipid peroxidation and antioxidative defence system in blood, liver and heart tissues, nitric oxide metabolites content in brain tissue of rats under binary action of small – doses of ionizing radiation and fluoride intoxication treated by amaranth oil and interval hypoxic training have been studied. Complex using of amaranth oil and interval hypoxic training result in increase both enzymatic, as nonezymatic links of antioxidant defence in all investigated tissues. It was revealed also enhance of NO system metabolites content in brain homogenate. In this conditions lipid peroxidation processes in liver and heart tissues normalize comparison with essential increase level LPO under binary action influence. On the basis of obtained results LPO metabolites content we can suppress that complex using of amaranth oil and interval hypoxic training result in increase of organism adaptative possibility. This complex can be using for binary action of ionizing radiation and fluoride intoxication correction.

Lviv Danilo Galytsky State Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ананьева Т.В., Лихолат Е.А., Дворецкий А.И. Биологические эффекты комбинированного воздействия низкодозового облучения и ионов тяжелых металлов // Радиацион. биология. Радиоэкология. – 2000. – 40, № 4. – С. 410 – 415.
2. Барабой В.А., Олійник С.А., Туманов В.А. та ін. Дина-

міка перекисного окислення ліпідів в органах шурів при опроміненні та антиоксидний ефект яктону // Мед. хімія. – 2000. – 2, № 4. – С. 16 – 22.

3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 35.
4. Горбань Є.М., Топольникова Н.В. Вплив гіпоксичного тренування на глюкокортикоїдну функцію надниркових залоз і перекисне окислення ліпідів деяких органів шурів, підданих хронічному R-опроміненню // Одес. мед. журн. – 2000. – 61, № 5. – С. 4 – 7.
5. Коваленко Е. А. Гипоксическая тренировка в медицине // Нурохіа Med. J. – 1993. – 3, № 1. – Р. 3 – 5.
6. Конык У.В., Гжегоцкий М.Р., Коваленко Е.А. и др. Особенности кислородзависимого метаболизма у животных с хронической фтористой интоксикацией в условиях гипокситерапии // Ibid. – 2001. – 9, № 1 – 2. – Р. 6 – 8.
7. Королук М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.
8. Костенко А.Г., Міщенко А.В. Зміна активності антиоксидантного захисту і процесів перекисного окислення ліпідів у тканинах тонкого кишечника і печінці при фтористій інтоксикації та радіації // Одес. мед. журн. – 2000. – 62, № 6. – С. 13 – 15.
9. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88 – 91.
10. Красиков С.И., Твердохлеб В.П., Чавкин И.И. Ограничение нарушений сердечного ритма у больных с хроническим алкоголизмом адаптацией к периодической гипоксии // Нурохіа Med. J. – 1996. – № 3 – 4. – Р. 21 – 23.
11. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф. и др. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. – № 3. – С. 19 – 22.
12. Махотина О.А. Фитопрепараты. – Харьков: Biola, 2002. – 80 с.
13. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 6. – С. 724 – 727.
14. Пшеничкова М.Г., Смирин Б.В., Бондаренко О.Н. и др. Депонирование оксида азота у крыс разных генетических линий и его роль в антистрессорном эффекте адаптации к гипоксии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – 86, № 2. – С. 174 – 181.
15. Силенко Ю.И., Цебржинский О.И., Мищенко В.П. Механизмы действия фтора на ткани пародонта // Физиол. журн. – 1992. – 38, № 2. – С. 85. – 90.
16. Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. – Екатеринбург, 2001. – 398 с.
17. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липид-содержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209 – 211.

18. Тимочко М.Ф., Єлісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. - Львів, 1998. – 141 с.
19. Green L.C., David A.W., Glogovski J. Analysis of nitrate and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – **126**, № 1. – P. 131 – 138.
20. Pandit J., Danley D.E., Shulte G.k. et al. Crystal structure of human squalene synthase // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 39. – P. 3610 – 3616.
21. Spitteler G. Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent disease // Mech. Ageing and Develop. – 2001. **122**. – P.617 – 657.

Львів. мед. ун-т ім. Данила Галицького

Матеріал надійшов до редакції 10.06.2002