

І.В.Геруш, І.Ф.Мешишен

КОРЕКЦІЯ НАСТОЯНКОЮ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ ЗРУШЕНЬ В АНТИОКСИДАНТНІЙ СИСТЕМІ КРОВІ ПІСЛЯ ОДНОРАЗОВОГО ОПРОМІНЕННЯ НИЗЬКИМИ ДОЗАМИ

Кафедра медичної хімії (зав. - проф. І.Ф.Мешишен)
Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: антиоксидантна система крові, настоянка ехінацеї пурпурової, глутатіонова система, іонізуюче випромінення.

Резюме. Загальне одноразове опромінення тварин в дозі 0,3 Гр призводило до суттєвих зрушень в антиоксидантній системі крові. Введення опроміненим тваринам настоянки ехінацеї пурпурової сприяло нормалізації показників антиоксидантної системи. Встановлено, що використання настоянки до і після опромінення більш ефективно в порівнянні з лікуванням тільки після опромінення.

Вступ. Розвиток життя на Землі завжди відбувався у присутності радіаційного фону зовнішнього середовища. Радіоактивне випромінювання - не є щось нове, що виникло внаслідок діяльності людини, - це явище завжди присутнє на нашій планеті. Людина ж викликала додаткове радіаційне навантаження, яке впливає на неї [18].

Широке застосування атомної енергії підвищує ймовірність несприятливої дії радіації на здоров'я людини і тварин. Це, а також наслідки аварії на Чорнобильській АЕС, обґрунтовують необхідність поглибленого вивчення впливу невеликих доз іонізуючого випромінення на організм.

Дія іонізуючого випромінення ініціює і суттєво прискорює процеси пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) і біополімерів (білків і нуклеїнових кислот), які розвиваються за вільнорадикальним механізмом. В організмі існує також система антиоксидантного захисту, яка забезпечує захист клітин від активних форм кисню і продуктів вільнорадикального окислення. У випадку ослаблення антиоксидантної системи накопичуються продукти ПОЛ, які, як відомо, виявляють властивості радіо-сенсibilізаторів і первинних радіотоксинів, викликаючи появу і розвиток патологічних процесів. Тому вивчення процесу ПОЛ і стану антиоксидантної системи в органах і тканинах опроміненого організму є особливо важливим для виявлення механізмів зрушень внутрішньоклітинної регуляції [3, 8].

Сьогодні досить гостро стоїть і потребує швидкого вирішення проблема пошуку і розробки засобів профілактики та захисту людей від низькодозового радіаційного впливу. Такі засоби повинні обмежувати розвиток післярадіаційних ускладнень, мати помітні радіопротекторні властивості, підтримувати толерантність організму до ефектів низькодозового випромінення, мати антиоксидантні, адаптогенні та імуномодуючі властивості, сприяти підвищенню власних захисних сил організму

[2]. Цікавим в цьому є вивчення лікарських засобів з ехінацеї пурпурової. Препарати ехінацеї мають протизапальну, бактеріостатичну, вірусонейтралізуючу, фунгіцидну, імуномодулюючу, ранозагоючу дію, володіють антиоксидантними властивостями, пригнічуючи інтенсивність процесів вільнорадикального окислення ліпідів після γ -опромінення [5, 14].

Мета. Вивчити вплив спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на стан основних показників антиоксидантної системи крові за умов дії одноразового іонізуючого опромінення в низьких дозах.

Матеріали і методи. Експерименти проводили на білих безпородних щурах масою 140-160 г. Тварини зазнавали загального одноразового опромінення рентгенівським апаратом 12П6 з потужністю дози 1Р/сек, сумарною дозою в 0,3Гр. Настоянку коріння ехінацеї пурпурової (1:10 на 70% етиловому спирті) вводили щоденно інтрагастрально в дозі 0,25мл/кг. Контрольну групу тварин утримували в стандартних умовах віварію. Дослідні тварини були поділені на три групи: I-опромінені; II-отримували настоянку ехінацеї пурпурової протягом 7 днів після опромінення; III-отримували настоянку ехінацеї пурпурової 7 днів до і 7 днів після опромінення. Тварин забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом через 7 днів після опромінення.

Для дослідження брали плазму і гемолізат крові. В плазмі крові визначали активність глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) [КФ 2.5.1.18] і вміст церулоплазміну (ЦП) [КФ 1.16.3.1] за [9, 19]. В гемолізаті крові визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] за її здатністю інгібувати відновлення нітротетразолію синього [7] і активність каталази [КФ 1.11.1.6] за [10]. Вивчали активність глутатіонредуктази (ГР) [КФ 1.6.4.2] та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) [КФ 1.1.1.49] в гемолізаті крові за [12]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) [КФ 1.11.1.9] в гемолізаті крові вивчали за [6]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) в крові визначали титраційним методом [17]. Гемоглобін визначали гемоглобінціанідним методом за допомогою набору "Реахим". Одержані експериментальні дані обробляли на комп'ютері, використовуючи t-критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Як показали проведені дослідження, опромінення тварин в дозі 0,3 Гр призводить до суттєвих зрушень в антиоксидантній системі крові (табл.). Так, активність СОД достовірно зростала на 10,2% в порівнянні з контролем. Будучи радіопротектором, сам фермент, на відміну від інших антиоксидантних ферментів, стійкий до дії іонізуючого випромінювання. Скоріш за все стимулюючий вплив низьких доз радіації на активність СОД є наслідком збільшення кількості супероксиданіонрадикалу. Вважається також, що за дії радіації має місце і індукція синтезу СОД в гемопоетичних клітинах кісткового мозку [1, 15]. Активність каталази, ферменту, який перешкоджає накопиченню продукту супероксиддисмутазної реакції - пероксиду водню - в крові опромінених тварин була практично на рівні контролю.

Суттєвими були зміни в активності церулоплазміну - основного антиоксиданта плазми крові. Церулоплазмін володіє ферооксидазною активністю, викликає дисмутацію супероксидного радикалу, не утворюючи при цьому, на відміну від СОД, пероксиду водню, є "перехоплювачем" вільних радикалів, які циркулюють в крові. Також важливе значення для захисних

Таблиця
Вплив постійної еквінації пурпурової на стан показників антиоксидантної системи крові після одноразового опромінення в дозі 0,3 Гр
($M \pm m$, $n = 7-12$)

Групи тварин, умови досліді	Досліджувані показники (одиниці вимірювання)									
	СОД (Од/мл крові × хв)	Каталаза (мкмоль/мг Нв × хв)	ВГ (мкмоль/мл крові)	ГП (ммоль/мл крові × хв)	ГР (ммоль/мг Нв × хв)	Г-6-ФДГ (ммоль/мг Нв × хв)	Г-S-T (ммоль/мл × хв)	ЦП (мг/л)		
Контрольна	28,93±0,31	130,0±4,1	1,10±0,02	21,40±0,49	4,01±0,10	8,23±0,09	43,82±1,21	204,4±6,0		
I-опромінення	31,88±0,33**	127,2±5,3	1,29±0,04**	17,69±0,45**	4,39±0,11*	9,36±0,11**	49,78±2,01*	157,9±5,9**		
II-опромінення + еквінація	29,10±0,91	138,2±7,2	1,09±0,02	20,18±0,50	3,95±0,16	8,54±0,11	53,80±0,77**	282,2±9,6**		
III- еквінація + опромінення + еквінація	28,51±1,07	152,5±10,9	1,19±0,02*	21,04±0,79	3,86±0,13	8,37±0,15	46,22±3,07	226,6±5,3*		

Примітка: * - вірогідні зміни у порівнянні з інтактними тваринами (P<0,05).
** - вірогідні зміни у порівнянні з інтактними тваринами (P<0,01).

функцій організму має і те, що ЦП циркулює в крові, в той час як СОД - внутрішньоклітинний фермент [16]. В опромінених тварин активність ЦП знижувалась на 22,7% в порівнянні з контролем, що говорить про суттєве виснаження антиоксидантних ресурсів плазми крові. Таке пригнічення активності ЦП, очевидно, обумовлене порушенням біосинтезу цього ферменту, а також підвищеною його витратою для інгібування активованих процесів ПОЛ.

Істотні зрушення відмічені в глутатіоновій системі крові. Система глутатіону і взагалі тіолові сполуки виконують в опромінену організмі важливу захисну та детоксикаційну роль. Глутатіонова система відіграє унікальну роль в формуванні резистентності організму до дії різноманітних хімічних і фізичних факторів - це найбільш важливий захисний механізм клітини [13]. Так, під впливом опромінення вірогідно зростає у крові вміст ВГ, активність Г-6-ФДГ, ГР та Г-S-T, що вказує на мобілізацію ендogenous антиоксидантних ресурсів. Разом з тим, у опромінених тварин спостерігалось достовірне зниження активності ГП на 17,3 %, фермента, який використовує ВГ для знешкодження продуктів вільнорадикального окислення.

Таким чином, в крові опромінених тварин з одного боку за рахунок активації Г-6-ФДГ зростала кількість відновлених еквівалентів (НАДФН), які посилено використовуються в глутатіонредуктазній реакції для відновлення окисленого глутатіону. Разом з тим, спостерігається пригнічення шляхів використання ВГ глутатіонпероксидазою, активність якої пригнічується дією іонізуючого випромінювання, що, в підсумку, і призводить до зростання вмісту ВГ в крові опромінених щурів. При цьому не слід нехтувати і інші можливі шляхи (наприклад, індукція синтезу ВГ в печінці) його підвищення в крові опромінених тварин. Виявлене зростання активності Г-S-T після опромінення узгоджується з даними про те, що в деяких випадках Г-S-T плазми крові є більш чутливим маркером патологічного процесу, ніж аланінамінотрансфераза [11]. Це, в свою чергу, виявляється в підвищенні активності Г-S-T в залежності від ступеня пошкодження печінки. Таку дію на печінку опромінених тварин, скоріш за все, проявляють реакційноздатні продукти ПОЛ та їх метаболіти.

Отже, глутатіонзалежна система детоксикації є чутливою ланкою до дії низьких доз іонізуючого випромінювання і її зміни свідчать про глибоке ураження антиоксидантної та детоксикаційної систем крові.

При введенні настоянки ехінацеї пурпурової опроміненим тваринам спостерігали тенденцію до нормалізації основних показників антиоксидантної системи крові. Так, введення препарату протягом 7 днів після опромінення нормалізувало активність СОД та вміст ВГ. Активність ЦП під впливом настоянки ехінацеї суттєво зростала (на 78,7%) в порівнянні з показниками опромінених тварин і була достовірно вищою, ніж в контролі. Також спостерігалась тенденція до зростання активності каталази у лікованих тварин. Хоча активність ГП, ГР та Г-6-ФДГ мала тенденцію до нормалізації у тварин, які отримували настоянку ехінацеї пурпурової, проте показників контролю вони не досягали, а активність Г-S-T була на 22,8% вищою, ніж у інтактних тварин. Активація вищезазначених ферментів антиоксидантної системи крові під впливом

настоянки ехінацеї пурпурової запобігає накопиченню продуктів радіаційно - індукованого ПОЛ та їх метаболітів.

Аналіз даних, що стосуються тварин групи III, свідчить про досить високу ефективність використання настоянки ехінацеї пурпурової. Введення настоянки ехінацеї за 7 днів до і 7 днів після опромінення призводило до повної нормалізації активності СОД, ГПІ, ГР та Г-6-ФДГ. Разом з тим, активність ЦП та вміст ВГ залишалися достовірно більшими, ніж в контролі. Тенденція до підвищення також відмічалась в активності каталази та Г-S-T. Отже, застосування настоянки ехінацеї пурпурової з профілактично-лікувальною метою є більш ефективне, ніж тільки з лікувальною.

Отримані дані свідчать про те, що настоянка ехінацеї пурпурової стимулює антиоксидантну систему крові після одноразового опромінення в низьких дозах. Це можна пояснити також мембраностабілізуючою дією настоянки ехінацеї [4], оскільки зміни в структурі і функціях мембран розглядаються як одна з основних ланок в розвитку більшості патологічних процесів в організмі. Стимуляція антиоксидантної системи, як і видалення з організму токсичних речовин, призводить до пригнічення інтенсивності процесів ПОЛ, що сприяє збереженню структури і функцій мембран.

Отримані результати розкривають нові етапи в механізмі дії настоянки ехінацеї пурпурової і дозволяють рекомендувати її для подальшого вивчення як радіопротекторного та радіопротекторного засобу за умов експерименту та клініки при гострому і хронічному опроміненні.

Висновки.

1. Одноразове рентгенівське опромінення у дозі 0,3Гр призводить до істотних зрушень в антиоксидантній захисній системі крові.
2. Використання настоянки ехінацеї пурпурової (1:10 на 70% етиловому спирті) в дозі 0,25 мл/кг протягом 7 днів після опромінення зумовлює позитивний ефект щодо корекції основних показників антиоксидантної системи крові, сприяє підвищенню активності основних ферментів антиоксидантної системи захисту.
3. Використання настоянки ехінацеї за 7 днів до і 7 днів після опромінення тварин є більш ефективним, ніж її використання лише після опромінення.

Література. 1. *Барабой В.А., Олійник С.А., Хмельвський Ю.В.* Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн.-1994.-Т.66,№4.-С.3-18. 2. *Барабой В.А., Ятченко О.О.* Харчові продукти та добавки з антирадіаційною активністю (радіологічне обґрунтування їх застосування)//Укр.радіолог.журн.-1997.-Т.5, №3.-С.184-188. 3. *Гацко Г.Г., Мажуль Л.Н., Шаблинская О.В., Вольхина В.Е.* Влияние ионизирующего излучения на перекисное окисление липидов в крови крыс//Радиобиол.-1990.-Т.30,№4.-С.413-414. 4. *Геруш І.В., Мецишен І.Ф.* Вплив спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на проникність мембран еритроцитів//Матер. наук. конф. присвяченої 120-річчю заснування Чернівецького університету (Чернівці,4-6 травня 1995р.).-Чернівці: Рута, 1995.-Т.3.- С.13. 5. *Геруш І.В., Мецишен І.Ф.* Вплив спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на стан перекисного окислення ліпідів за умов дії низьких доз радіації//Ліки.-1997.-№6.-С.27-30. 6. *Геруш І.В., Мецишен І.Ф.* Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового враження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової//Вестник проблем биологии и медицины.-1998.-№7.-С.10-15. 7. *Дубитина Е.Е., Ефимова Л.Ф., Софронова Л.Н., Геронимус А.Л.* Сравнительный анализ активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов и цельной крови у новорожденных детей при хронической гипоксии // Лаб.дело.-1988.-№8.-С.16-19. 8. *Кожемякин Л.А., Краевой С.А.* Молекулярные механизмы воздействия ионизирующих излучений//Воен. мед. журн.-1993.-№ 4.-С.33-37. 9. *Колб В.Г., Камышиников В.С.*

Справочник по клинической химии.- Минск: Беларусь, 1982.-290с.
10. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы//Лаб. дело.- 1988.-№1.-С.16-19. 11. Леус Н.Ф., Коломийчук С.Г., Лищенко В.Б. Активность глутатион-S-трансферазы в плазме крови, тканях печени и хрусталика глаз в условиях действия ионизирующего излучения и полихромного света//Укр. біохім. журн.- 1997.-Т.69. №3.-С.47-54. 12. Мецишён И.Ф. Влияние этония на гликолиз в печени крыс//Укр. біохім. журн.-1982.-Т.54 №4.-С.452-454. 13. Мецишён И.Ф., Пішак В.П. Обмін речовин у людини.- Чернівці, 1995.-193с. 14. Паранич А.В., Почерняева В.Ф., Дубинская Г.М. и др. Изучение влияния предполагаемых радиопротекторов на состояние редокс-системы витамина Е в тканях облученных крыс // Радиационная биология.Радиоэкология.-1993.-Т.33,Вып.2(5).-С.653-657. 15. Поберезкина И.Б., Осинская Л.Ф. Биологическая роль супероксиддисмутазы//Укр.біохім. журн.- 1989.-Т.61,№2.-С.14-27. 16. Санина О.Л., Бердинских О.К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения // Вопр. мед. химии.- 1986.-Т.32, №5.- С.7-14. 17. Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. М.: Медгиз, 1955.-256с. 18. Холл Э.Дж. Радиация и жизнь: Пер.с англ.-М.: Медицина, 1989 -256с. 19. Habig H.W., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-Transferases // J.biol.chem.- 1974.- Vol.249, №22 -P 7130-7139.

CORRECTION OF CHANGES IN ANTIOXIDANT BLOOD SYSTEM BY ECHINACEA PURPUREA TINCTURE AFTER A SINGLE IRRADIATION IN LOW DOSES

I.V.Gerush, I.F.Meshchysheh

Abstract. A general single irradiation of rats by a dose of 0,3 Gy is proved to cause great changes in the antioxidant blood system, which was reflected in an increase of the activity of the following enzymes: SOD, glutathione-S-transferase, glutathionereductase, glucose-6-phosphatedehydrogenase and the concentration of reduced glutathione, while the glutathioneperoxidase and caeruloplasmin activity decreased. The introduction of *Echinacea Purpurea* tincture into the irradiated animals led to increase of the glutathione-S-transferase and caeruloplasmin activity, and also normalized other parameters of the antioxydant system. It was noticed that the introduction of *Echinacea Purpurea* tincture both before and after irradiation is more effective than in the treatment only after the irradiation. *Echinacea Purpurea* tincture may be recommended for a further study under conditions of acute and chronical irradiation.

Key words: antioxidant system, *Echinacea Purpurea* tincture, glutathione system, ionizing irradiation, small doses, blood, blood plasma.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
