

MEDICINE AND PHARMACY

Вплив гормонально-вітамінного комплексу на вміст метаболітів гліколізу у нащадків опромінених щурів

Степанов Геннадій Федорович¹

¹ кандидат медичних наук, доцент,
завідувач кафедри клінічної хімії та лабораторної діагностики;
Одеський національний медичний університет; Україна

Анотація. У сучасних умовах широкомасштабного техногенного радіаційного забруднення оточуючого середовища і радіаційного навантаження на біосферу, надзвичайно актуальною є оцінка біологічної ефективності пролонгованої дії тотального опромінення. Загальний стан організму після дії іонізуючого опромінення та викликані цим опроміненням зміни багато в чому визначають функціонування м'язової тканини, яка відіграє важливу роль у забезпеченні життєдіяльності організму. Фармакологічна корекція індукованих іонізуючим опроміненням змін функціональної активності органів та систем організму не задовольняє сучасним медичним, економічним та соціальним вимогам. Ймовірні напрями дослідження ефективності фармакотерапії спричинених радіаційним забрудненням функціональних, біохімічних, морфологічних та інших порушень та сформованих дисфункцій не обрані зі стовідсотковою впевненістю та доказовістю. Через це дослідження радіопротекторної ефективності тестованого нами гормонально-вітамінного комплексу вважаємо доцільним, актуальним та патогенетично обґрунтованим. Мета роботи – дослідження впливу гормонально-вітамінного комплексу на вміст лактату та пірувату у крові та м'язовій тканині нащадків опромінених у різних дозах тварин. Експериментальні дослідження проведені на білих щурах-самцях лінії Вістар, та їх 1-місячних нащадках, яких піддавали тотальному гама-опроміненню Со60 натще. У крові опромінених щурів, а також у кістковому та серцевому м'язах визначали вміст лактату і пірувату до та після 12-денного введення гормонально-вітамінного комплексу, до якого входили токоферолу ацетат, ретаболіл, кокарбоксілаза та нікотинамід. Введення нащадкам опромінених у різних дозах тварин, які були піддані опроміненню у дозі 1,0 Гр, гормонально-вітамінного комплексу призводить до зменшення вмісту лактату у серцевому та скелетному м'язах, а також у крові нащадків, народжених від опромінених у дозі 0,5 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр. Після фармакологічної корекції вміст пірувату у крові та м'язах нащадків не змінювався суттєво. Співвідношення лактат/піруват у досліджуваних тканинах нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин, які отримали лікування, є меншим порівняно з таким показником у нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин, які не отримували фармакологічну корекцію, що свідчить про збільшення окиснених форм нікотинамідних коферментів, які детермінують стан редокс-системи вказаних коферментів у м'язовій тканині. Показано, що введення гормонально-вітамінного комплексу з метою корекції метаболічних порушень в м'язовій тканині нащадків опромінених у різних дозах тварин, які в подальшому також були піддані опроміненню, призводило до покращення енергетичних ресурсів у м'язовій тканині через нормалізацію вмісту у крові та м'язах метаболітів гліколізу лактату та пірувату. Отримані дані розцінюються як експериментальне обґрунтування доцільності подальшого з'ясування ефективності оригінального гормонально-вітамінного комплексу в аспекті відновлення

MEDICINE AND PHARMACY

функціональної активності вітальних органів і систем організму при впливі іонізуючої радіації.

Ключові слова: іонізуюче опромінення, нащадки опроміненних тварин, гліколіз, лактат, піруват, скелетний м'яз, серцевий м'яз, гормонально-вітамінний комплекс.

У сучасних умовах широкомасштабного техногенного радіаційного забруднення оточуючого середовища і радіаційного навантаження на біосферу, надзвичайно актуальною є оцінка біологічної ефективності пролонгованої дії тотального опромінення [1]. Адаже результат дії радіації в достатньо високій дозі на біологічні об'єкти в ряді випадків співставний з впливом того ж опромінення в дозі, в десятки разів меншій [2].

Загальний стан організму після дії іонізуючого опромінення та викликані цим опроміненням зміни багато в чому визначають функціонування м'язової тканини [3, 4], яка відіграє важливу роль у забезпеченні життєдіяльності організму, а якщо враховувати, що фізичному навантаженню піддаються нащадки опроміненних тварин, то слід очікувати більш глибоких біохімічних змін у метаболізмі м'язової тканини [5, 6]. Опромінення викликає ряд метаболічних порушень, пов'язаних з функцією вітамінів, зменшується вміст не тільки вітамінів у тканинах, але й коферментних форм ферментів, до складу яких входять вітаміни [5].

Доведено, що небезпечність опромінення в малих дозах є значно вищою, ніж радіаційний вплив максимальною дозою. Сьогодні більшість досліджень свідчать про більш виражений альтеруючий вплив гострого і хронічного опромінення в малих дозах на генетичний апарат клітин [6, 7].

Фармакологічна корекція індукованих іонізуючим опроміненням змін функціональної активності органів та систем організму не задовольняє сучасним медичним, економічним та соціальним вимогам. При цьому, зважаючи на термін, який вже пройшов з моменту Чорнобильської техногенної катастрофи в нашій країні, йдеться вже про вплив іонізуючого опромінення на організм другого покоління людей. Інакше кажучи, недослідженими остаточно є механізми впливу іонізуючого опромінення на генетичні процеси кодування інформації при її передачі нащадкам. Ймовірні напрями дослідження ефективності фармакотерапії спричинених радіаційним забрудненням функціональних, біохімічних, морфологічних та інших порушень та сформованих дисфункцій не обрані зі стовідсотковою

MEDICINE AND PHARMACY

впевненістю та доказовістю. Доведено, що лише незначна кількість радіопротекторних сполук може бути призначена з цією метою, оскільки, відомо, що більшість з яких є токсичними і лише незначній кількості ліків рослинного походження притаманні радіопротекторні ефекти [8]. Таким чином, дослідження радіопротекторної ефективності тестованого нами гормонально-вітамінного комплексу вважаємо доцільним, актуальним та патогенетично обґрунтованим.

Мета роботи – дослідження впливу гормонально-вітамінного комплексу на вміст лактату та пірувату у крові та м'язовій тканині нащадків опромінених у різних дозах тварин.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар та їх 1-місячних нащадках, що утримувалися на стандартній дієті віварію. Утримання, обробка та маніпуляції з тваринами проводились відповідно із «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013), при цьому керувалися рекомендаціями Європейської конвенції про Захист хребетних тварин для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження препаратів» (2001) та правилами гуманного поводження з піддослідними тваринами та умовами, затвердженими Комісією з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол № 32Д від 17.03.2016 р.).

Тварин піддавали тотальному гама-опроміненню Co^{60} натше на установці для телегаматерапії «Агат». Відстань до джерела поглинання 75 см, потужність дози 0,54 Гр/хв, поглинута доза 0,5 Гр; 1,0 Гр. Експериментальних тварин розділяли на 5 груп: 1 група (n=10) – 1-місячні щурята, народжені інтактними тваринами, 2 група (n=10) – 1-місячні щурята, народжені тваринами, одноразово тотально опроміненими дозою 0,5 Гр; 3 група (n=10) – 1-місячні щурята, народжені тваринами, одноразово тотально опроміненими дозою 1,0 Гр; 4 група (n=10) – 1-місячні щурята, народжені тваринами, одноразово тотально опроміненими дозою 0,5 Гр і піддані опроміненню дозою 1,0 Гр.; 5 група (n=10) – 1-місячні щурята, народжені тваринами, одноразово тотально опроміненими дозою 1,0 Гр і піддані опроміненню дозою 1,0 Гр.

До складу гормонально-вітамінного комплексу входили токоферол ацетат (50 мг/кг, в/м, через 30 хв після опромінення), ретаболіл (2,5 мг/кг, в/м, через 3 год після опромінення), кокарбоксілаза (5 мг/кг, п/ш) та нікотинамід

MEDICINE AND PHARMACY

(10 мг/кг п/ш), які вводили через 1 добу після опромінення у 0,5 мл фізіологічного розчину. Гормонально-вітамінний комплекс вводили тваринам протягом 12 діб.

Тварин виводили із досліджу через евтаназію під пропофоловим (в/в, 60 мг/кг) наркозом. Після розтину тварин збирали кров, видалляли серце і передню групу м'язів стегна. Кров для отримання сироватки центрифугували її при 3000 г протягом 10 хвилин. Видалені серцевий і скелетні м'язи промивали охолодженим 0.9% фізіологічним розчином NaCl, подрібнювали і гомогенізували, а також піддавали диференційному центрифугуванню.

Для біохімічних досліджень використовували мітохондрії, мітохондріальний супернатант міокарду, передньої групи м'язів стегна та сироватку крові, в яких загальноприйнятими методами визначали вміст лактату і пірувату.

Отримані дані піддавалися статистичній обробці способом оцінки середньої за допомогою «таблиць Т» з використанням критерію χ^2 та комп'ютерних програм. Мінімальну статистичну вірогідність визначали при $p < 0,05$.

Отримані результати та їх обговорення.

Після введення гормонально-вітамінного комплексу спостерігається незначне збільшення вмісту лактату у міокарді та скелетному м'язі 1-місячних щурят, народжених від опромінених у дозі 0,5 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр, та більш виражене зростання концентрації лактату у м'язовій тканині нащадків, народжених від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр, які не отримували терапію ($p < 0,05$, таблиця).

Таблиця 1

Вплив гормонально-вітамінного комплексу на вміст метаболітів гліколізу у досліджуваних тканинах 1-місячних щурят, народжених від опромінених у різних дозах тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр

№	Групи щурів	Міокард, мкмоль/г тканини	Скелетні м'язи, мкмоль/г тканини	Кров, мкмоль/мл
Вміст лактату (МІМ)				
1	Інтактні, n=10	3,286±0,163	3,884±0,205	1,102±0,086
До корекції				
2	Опромінення 0,5 Гр, n=10	3,452±0,164	4,238±0,208	1,352±0,078
3	Опромінення 1 Гр, n=10	5,392±0,216*	6,726±0,232*	2,234±0,092*
Після корекції				
4	Опромінення 0,5 Гр, n=10	3,312±0,166	4,246±0,212	1,234±0,072

MEDICINE AND PHARMACY

Продовження табл. 1

5	Опромінення 1 Гр, n=10	3,528±0,224#	4,738±0,218#	1,896±0,078
Вміст пірувату (МІm)				
1	Інтактні, n=10	0,376±0,017	0,406±0,022	0,112±0,004
До корекції				
2	Опромінення 0,5 Гр, n=10	0,412±0,022	0,426±0,024	0,134±0,006*
3	Опромінення 1 Гр, n=10	0,468±0,024*	0,468±0,026*	0,162±0,008*
Після корекції				
4	Опромінення 0,5 Гр, n=10	0,398±0,022	0,428±0,022	0,126±0,006
5	Опромінення 1 Гр, n=10	0,412±0,024	0,434±0,024	0,162±0,008

Примітки: * - $p < 0.05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними у інтактних щурят.

- $p < 0.05$ - вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з відповідними даними у тварин до корекції.

Вміст лактату у крові досліджених груп також перевищує цей показник у інтактних щурят, причому значно вища концентрація лактату спостерігається у крові нащадків, народжених від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр ($p < 0,05$).

Вміст пірувату після введення гормонально-вітамінного комплексу незначно перевищує цей показник як у м'язовій тканині та крові 1-місячних щурят, народжених від опромінених у дозі 0,5 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр, так і у досліджуваних тканинах та крові нащадків, народжених від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр ($p > 0,05$).

Співвідношення лактат/піруват у досліджуваних тканинах нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин, які отримали лікування, є меншим порівняно з таким показником у нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин, які не отримували фармакологічну корекцію, що свідчить про збільшення окиснених форм нікотинамідних коферментів, які детермінують стан редокс-системи вказаних коферментів у м'язовій тканині.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що введення гормонально-вітамінного комплексу, що було застосовано для корекції метаболічних порушень в м'язовій тканині нащадків опромінених у різних дозах тварин, які були піддані опроміненню у дозі 1,0 Гр, призводило до покращення енергетичних ресурсів у м'язовій тканині переважно за рахунок

MEDICINE AND PHARMACY

посилення гліколітичного субстратного фосфорилування, яке має домінуюче значення для забезпечення енергією скелетних м'язів.

При організації дослідів ми виходили з того, що фармакологічна корекція радіаційних порушень енергетичного обміну у нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин та підданих опроміненню в тих же дозах має бути спрямована на корекцію порушень забезпечення тканин макроергічними сполуками, які відбуваються за рахунок переваження катаболізму над анаболізмом, посилення анаеробних процесів, розвитку метаболічного ацидозу в тканинах, ослаблення субстратного фосфорилування та циклу трикарбонових кислот, а також попередження ушкодження генетичного апарату клітин, нормалізацію процесів регенерації [2, 9, 10].

Важливим вважаємо розуміння механізмів реалізації радіопротекторного впливу тестованої нами корегуючої схеми, активність якої була спрямована на відновлення індукованих впливом іонізуючого опромінення патофізіологічних і патобіохімічних порушень – накопичення лактату і пірувату як кінцевих продуктів гліколізу у тканинах нащадків, послаблення процесів субстратного та окисного фосфорилування, що призводить до зростання вмісту малату та оксалооцту – кінцевих продуктів циклу трикарбонових кислот. Важливо розуміти при цьому, що в накопиченні малату провідну роль відіграє активація зворотної НАД-залежної МДГ в цитоплазмі та в мітохондріях м'язової тканини, а також переважання зворотної НАДФ-залежної малатдегідрогеназної реакції, яка забезпечує карбоксилювання пірувату та перетворення його в малат [5]. Додатково до цього, в тканинах накопичуються відновлені форми НАДН⁺, що спричиняє розвиток ацидозу та створке умови для конкуренції між аеробними та анаеробними процесами, де перевагу мають анаеробні реакції, які за механізмом позитивного зворотного зв'язку посилюють розвиток ацидотичних змін [11].

Оскільки гліколітичне субстратне фосфорилування має домінуюче значення для забезпечення енергією скелетних м'язів, тому, виходячи з отриманих результатів, можна констатувати, що під впливом гормонально-вітамінного комплексу покращуються енергетичні ресурси скелетного м'язу, що невідмінно відобразиться на фізичній працездатності нащадків, народжених від опромінених тварин та підданих опроміненню у тій же дозі [4].

Висновки. Введення гормонально-вітамінного комплексу з

MEDICINE AND PHARMACY

метою корекції метаболічних порушень в м'язовій тканині нащадків опромінених у різних дозах тварин, які в подальшому також були піддані опроміненню, призводило до покращення енергетичних ресурсів у м'язовій тканині через нормалізацію вмісту у крові та м'язах метаболітів гліколізу лактату та пірувату.

Отримані дані розцінюються як експериментальне обґрунтування доцільності подальшого з'ясування ефективності оригінального гормонально-вітамінного комплексу в аспекті відновлення функціональної активності вітальних органів і систем організму при впливі іонізуючої радіації.

В разі критичного аналізу, що дозволить з'ясувати механізми реалізації коригуючої дії оригінального гормонально-вітамінного комплексу при впливі іонізуючої радіації, отримані фактичні дані за умов експерименту слугуватимуть підставою для клінічного тестування їх ефективності

References:

- [1] Яблоков АВ. Чернобыль: последствия катастрофы для человека и природы. Киев : Универсаріум, 2011. 592
- [2] Давиденко ВМ. Радиобіологія. Миколаїв : Видав. МДАУ. 2011. 265.
- [3] Бузунов ВО, Краснікова ЛІ, Войчулене ЮС, Хабарова ТП, Терещенко СО, Домашевська ТЄ. Епідеміологічні дослідження кардіо- та цереброваскулярних захворювань в учасників ліквідації наслідків аварії на чорнобильській АЕС: Аналіз впливу радіаційного і нерадіаційних факторів. Журнал НАМН України. 2016; 22(2): 153-162.
- [4] Tang FR, Loke WK. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation-induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability. Int J Radiat Biol. 2015; 91(1): 13-27.
- [5] Baynes J, Dominiczak M. Medical Biochemistry. Glasgow : Elsevier. 2023. 744.
- [6] Li SJ, Liang XY, Li HJ, Yang GZ, Li W, Li Z, Zhou L, Wen X, Yu DH, Cui JW. Low-dose irradiation inhibits proliferation of the p53null type human prostate cancer cells through the ATM/p21 pathway. Int J Mol Med. 2018; 41(1): 548-554.
- [7] Vaiserman A, Cuttler JM, Socol Y. Low-dose ionizing radiation as a hormetin: experimental observations and therapeutic perspective for age-related disorders. Biogerontology. 2021; 22(2): 145-164.
- [8] Степанов ГФ, Костіна АА, Дімова АА. Порівняльна характеристика термінальної ланки гліколізу в м'язах статевозрілих тварин та їхніх нащадків. Одеський медичний журнал. 2021; 5(177): 9-13.
- [9] Яцина ОІ, Вастьянов РС, Савицька ІМ, Вернигородський СВ, Гейленко ОА, Костев ФІ. Вплив фармакокорекції на патофізіологічні особливості морфофункціональних змін нижніх сечовивідних шляхів за наявності експериментального гіперактивного сечового міхура. Клінічна

MEDICINE AND PHARMACY

- хірургія. 2019; 2(86): 64-69.
- [10] Burgio E, Piscitelli P, Migliore L. Ionizing Radiation and Human Health: Reviewing Models of Exposure and Mechanisms of Cellular Damage. An Epigenetic Perspective. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(9): 1971.
- [11] Яцина ОІ, Вастьянов РС, Дьячкова НВ, Хархота МА, Костев ФІ. Аденілатна система еритроцитів щурів з гіперактивним сечовим міхуром за умов його корекції лікарськими засобами гормональної енерготропної дії. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019; 1(85): 38-43.