

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

Ульянов Вадим Олексійович

УДК 612.014.482.4:616.36:577.122.8:616-092.9

СТАН ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ ТА ЇЇ ЗНАЧЕННЯ У
СТРУКТУРНИХ ЗРУШЕННЯХ ПЕЧІНКИ ВИВОДКУ, ОТРИМАНОВОГО ВІД
ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

14.03.04 - патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук

Науковий керівник

Напханюк
Володимир Клеонтійович,
доктор біологічних наук,
професор

Одеса 2002

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ ЗА ФІЗІОЛОГІЧНИХ УМОВ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	10
1.1. Хімічні властивості сульфгідрильних та дисульфідних груп.....	13
1.2. Особливості реакційної спроможності сульфгідрильних груп білків	15
1.3. Фізіологічне значення білкових сульфгідрильних груп	16
1.4. Фізіологічна роль низькомолекулярних тіолів.....	20
1.5. Роль дисульфідних груп у білках.....	26
1.6. Тіол-дисульфідна система у механізмах неспецифічної резистентності організму.....	28
1.7. Тіолзалежні механізми радіочутливості і радіорезистентності.....	30
1.8. Печінка у пострадіаційних реакціях організму.....	33
1.9. Морфофункціональний стан тканин печінки за фізіологічних умов та за умов дії радіаційного фактору....	35
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	39
2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту.....	39
2.2. Методи досліджень.....	40
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО γ -ОПРОМІНЕННЯ У НИЗЬКИХ ДОЗАХ.....	44

3.1. Стан тіол-дисульфідної системи у тканинах печінки та сироватці крові щурів різного віку за фізіологічних умов.....	44
3.2. Вплив тривалого тотального γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр на стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів.....	57
3.3. Вплив тривалого тотального γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр на стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів.....	63
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ВИВОДКУ, ОТРИМАНОГО ВІД РАДІАЦІЙНОУРАЖЕНИХ САМЦІВ ТА САМОК.....	70
4.1. Особливості стану тіол-дисульфідної системи у пізньому ембріогенезі та ранньому постнатальному періоді у печінці та сироватці крові виводку, отриманого від інтактних щурів.....	70
4.2. Стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові на різних етапах розвитку виводку, отриманого від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.....	75
4.3. Стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові на різних етапах розвитку виводку, отриманого від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.....	106
РОЗДІЛ 5. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	140
ВИСНОВКИ.....	151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	154
ДОДАТКИ.....	175

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОС - антиоксидантна система;

ГПО - глутатіонпероксидаза;

ГР - глутатіонредуктаза;

ГТ - глутатіонтрансфераза;

ДНК - дезоксирибонуклеїнова кислота;

ДНП - дезоксирибонуклеопротеїди;

КоА - коензим А;

НАД - нікотинамідаденіндинуклеотид;

НАДФН - нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат;

ПОЛ - перекисне окислення ліпідів;

Редокс-потенціал - співвідношення сульфгідрильних груп до дисульфідних;

РНК - рибонуклеїнова кислота;

ТПОР - тіопроїєндисульфідоксидоредуктаза;

GSH - відновлений глутатіон;

GSSG - окислений глутатіон;

SH-групи - сульфгідрильні групи;

SS-групи - дисульфідні групи.

ВСТУП

Актуальність теми. Останнє десятиріччя характеризується стрімким погіршенням екологічної ситуації, що, природно, відбивається на здоров'ї та тривалості життя населення України [47, 95, 97, 100]. Одним з провідних факторів погіршення стану оточуючого середовища є забруднення довкілля радіоактивними речовинами, переважно з тривалим періодом напіврозпаду, що створює умови для хронічного впливу іонізуючих випромінювань на біоту у діапазоні малих доз та інтенсивностей. За таких обставин зовнішнє та внутрішнє опромінення людини, враховуючи його здатність пошкоджувати геном, може завдавати шкоди не тільки сучасним, а й майбутнім поколінням [91, 98, 133, 145].

На сьогодні в медичній науці достатньо широко дискутуються питання про “критичні” органи та тканини, “критичні” клітини та клітинні структури, “критичні” метаболічні процеси які формують первинну реакцію - відповідь на дію будь-якого несприятливого фактору як зовнішнього так і внутрішнього середовища [59, 112]. З висловленої точки зору до таких “критичних” систем на метаболічному рівні необхідно віднести процеси, що лежать в основі ендогенної радіорезистентності та неспецифічної резистентності, які приймають активну участь в нейтралізації та утилізації надлишкових кількостей кисеньреактивних інтермедіатів, що утворились після дії γ -опромінення.

Відомо, що на молекулярному рівні вище означені системи забезпечуються окислювально-відновними перетвореннями високо- та низькомолекулярних тіолових сполук, які утворюють так звану тіолдисульфідну систему. В той же час в окремих роботах [29] доведено, що тривалий вплив іонізуючих випромінювань у малих дозах поступово викликає зниження ендогенного резерву тіолзалежних систем та їх повне виснаження, що негативно впливає на опір організму до несприятливих факторів довкілля.

В численних роботах, присвячених вивченню основних механізмів біологічної дії хронічного зовнішнього і внутрішнього опромінення в малих дозах, підтверджується можливість закріплення в геномі ушкоджень радіаційного генезу і передачі зміненої генетичної інформації нащадкам [16, 33, 73, 90], отже, існує вірогідність порушень і у синтезі високомолекулярних компонентів тіол-дисульфідної системи. На жаль, в цих працях не розглядаються механізми фенотипічної прояви успадкованих генетичних зрушень.

Отже дослідження стану тіол-дисульфідної системи у представників поколінь, отриманих від попередників, опромінених малими дозами, можливо дозволить розкрити раніш невідомі ланки механізмів реалізації радіаційних ефектів, які виникають в організмі нащадків внаслідок опромінення їх батьків. Це надасть можливість теоретичного обґрунтування та практичної розробки шляхів метаболічної корекції негативних проявів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Одеського державного медичного університету і є фрагментом теми “Розробка шляхів направленої регуляції метаболічних процесів в поколіннях опромінених тварин” (№ держреєстрації 0196U017677). Дисертант є співвиконавцем цієї теми.

Мета і задачі дослідження. З'ясувати механізми змін у тіол-дисульфідній системі тканин печінки у пізньому ембріогенезі та постнатальному онтогенезі щурів, отриманих від попередників, які зазнали тривалого впливу тотального γ -опромінення у низьких дозах перед спарюванням; та визначити роль цих змін у структурних зрушеннях тканин печінки.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні задачі:

- Дослідити стан тіол-дисульфідної системи печінки в ембріогенезі та ранньому постнатальному періоді у щурів за фізіологічних умов.

- Визначити динаміку вікових змін тіол-дисульфідної системи печінки та сироватки крові у щурів віком 30, 45, 90, 365 діб за фізіологічних умов.
- З'ясувати стан тіол-дисульфідної системи печінки та сироватки крові статевозрілих щурів обох статей після тотального тривалого γ -опромінення у дозах 0,75 та 1,0 Гр.
- Дослідити стан тіол-дисульфідної системи печінки в ембріогенезі та ранньому постнатальному періоді у нащадків самців та самок щурів, опромінених у дозах 0,75 та 1,0 Гр.
- Визначити стан тіол-дисульфідної системи печінки та сироватки крові у щурів віком 30, 45, 90, 365 діб, отриманих від опромінених у дозах 0,75 та 1,0 Гр самців і самок.

Об'єкт дослідження – зрушення у тканинах печінки нащадків радіаційноуражених щурів.

Предмет дослідження – тіол-дисульфідна система та морфофункціональний стан тканин печінки нащадків радіаційноуражених щурів.

Методи дослідження – патофізіологічні, біофізичні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. На підставі проведених комплексних досліджень вперше одночасно визначено стан білкової і небілкової частини тіол-дисульфідної системи на різних етапах онтогенезу нащадків радіаційноуражених щурів. Була визначена динаміка зрушень концентрації білкових та небілкових сульфгідрильних і дисульфідних груп, співвідношення сульфгідрильних до дисульфідних груп у різні вікові періоди у печінці та сироватці крові щурів як за фізіологічних умов, так і за умов змодельованого радіаційного ураження. В роботі отримала подальший розвиток проблема статевої диференціації функцій печінки. Вперше виявлено статеvu відмінність тіол-дисульфідної системи самців і самок на різних етапах онтогенезу як у інтактних тварин, так і нащадків опромінених щурів.

На відміну від існуючих робіт, досліджено особливості тіолдисульфідної системи майже на протязі усього онтогенезу щурів, отриманих від опромінених самців і самок, виявлені нові фенотипічні прояви радіаційноіндукованих пошкоджень геному з боку тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності.

Практичне значення одержаних результатів. Цінність роботи полягає у розкритті раніш невідомих патофізіологічних механізмів реалізації радіаційних ефектів опромінення батьків в організмі їх нащадків. Результати проведених експериментальних досліджень нададуть можливість теоретичного обґрунтування та практичної розробки шляхів метаболічної корекції негативних проявів радіаційноіндукованих ушкоджень геному в організмі нащадків опромінених попередників. Положення і висновки роботи впроваджені до навчального процесу та використовуються при читанні лекцій і на практичних заняттях кафедр гістології, ембріології та цитології; клінічної імунології, генетики та медичної біології; нормальної фізіології; загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею автора. Внесок дисертанта у її виконання полягає у проведенні інформаційного пошуку та аналізі літературних джерел, плануванні і самостійному проведенні досліджень, узагальненні одержаних результатів, написанні та оформленні дисертації.

Участь автора у підготовці матеріалів, висвітлених у статтях і тезах опублікованих у співавторстві, є визначальною і полягає у проведенні літературного пошуку, експериментальних досліджень, статистичній обробці та аналізі отриманих результатів, формулюванні висновків.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дослідження доповідались на VI Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасні досягнення валеології та спортивної медицини” (Одеса, 2000), 70-й підсумковій конференції студентів та молодих вчених ОДМУ (Одеса, 2001),

VII Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасні досягнення валеології та спортивної медицини” (Одеса, 2001).

Публікації за матеріалами дисертації. Оpubліковано 8 наукових праць, з них 5 статей у фахових журналах та 3 у збірниках конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 182 сторінках машинопису і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 32 таблицями та 12 рисунками.

РОЗДІЛ 1
ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ ЗА
ФІЗІОЛОГІЧНИХ УМОВ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Іонізуюче випромінювання у молекулі ДНК викликає різноманітний спектр ушкоджень [31], з яких найбільше біологічне значення мають одно- та двониткові розриви і зміни азотистих основ [92]. Після опромінення статевих клітин ці радіаційноіндуковані пошкодження можуть реалізовуватися у гаметогенезі або у нащадків в процесі індивідуального розвитку. У гаметогенезі ушкоджені структури ДНК можуть бути повністю або частково репаровані. У даному випадку статеві клітини продовжать подальший розвиток відповідно стадії клітинного циклу, на якій вони знаходились на момент опромінення. Загибель клітин у гаметогенезі або повна репарація радіаційноіндукованих змін структури ДНК виключають можливість патогенного впливу іонізуючих випромінень у поколіннях. Найбільшу небезпеку являють нерепаровані та частково репаровані радіаційні ушкодження, сумісні з життям гамет. Вони можуть бути передані нащадкам та еліміновані лише у процесі їх індивідуального розвитку. До таких нелетальних успадкованих подій відносять одностричкові розриви, зміни азотистих основ [92], причому змін азотистих основ у ДНК утворюється в 2 - 2,5 рази більше, ніж одностричкових розривів [37].

Подібні радіаційноіндуковані генетичні пошкодження призводять до нестабільності ДНК [36, 74], яка може зростати у гаметогенезі й, в свою чергу, призводити до збільшення нестабільності ДНК соматичних клітин організмів, які розвиваються з уражених статевих клітин [20]. Для клітини нелетальними можуть бути не тільки крапкові мутації, які є елементами внутрішньогенного порядку [35], що порушують лише одну пару основ [71], але й хромосомні мутації, здатні запускати каскад наступних подій, що продовжуються сотні

клітинних поділів - каскадний мутагенез [52], в основі якого лежить індукована хромосомна нестабільність.

Реалізація пошкоджень генома у поколіннях призводить до фізіологічної неповноцінності нащадків: низького опору до захворювань, зниження витривалості, схильності до різного роду зривів при фізичному та психологічному стресах; підвищенню мутабільності і збільшенню канцерогенного ризику [21]. Нащадки, отримані від опромінених батьків, характеризуються також нестабільністю показників фізичного розвитку (індекс життєздатності, динаміка зміни маси тіла, рухова активність, функціональна активність щитовидної залози, гепатобіліарної системи та ін. [72], зменшенням маси плодів, сповільненням швидкості осифікації скелету [68, 69]. Вище описані зміни у розвитку та життєздатності відносяться до нащадків, отриманих від одного опроміненого і одного інтактного попередника. Необхідно відмітити, що сублетальні пошкодження можуть мати особливе значення при участі у заплідненні двох опромінених статевих клітин, бо взаємодія в зиготі сублеталей, принесених чоловічою та жіночою гаметами, може призводити до утворення додаткових летальних пошкоджень [104] і супроводжуватися більш важкими пострадіаційними змінами у нащадків [92].

Як відомо, генетична інформація реалізується, зберігається, відтворюється, а інколи й удосконалюється у чотирьох генетичних процесах - синтез білка, репарація ДНК, реплікація ДНК та генетична рекомбінація. Ці процеси, в яких утворюються та підтримуються клітинні білки й нуклеїнові кислоти, одновимірні. У кожному з них інформація, укладена в лінійній послідовності нуклеотидів, використовується для утворення або для зміни іншої лінійної послідовності нуклеотидів (молекули ДНК чи РНК), або лінійної послідовності амінокислот (молекули білка) [85]. Отже, радіаційноіндуковані пошкодження генетичного апарату можуть призвести до синтезу структурно і функціонально відмінних білків [54]. У середньому, на одну молекулу за фізіологічних умов життєдіяльності організму приходиться

10^6 реакцій на секунду. У зв'язку з такою астрономічною кількістю взаємодій, навіть при мінімальних змінах білків (ферментів) і порушенні лише незначної частини молекулярних реакції, за умов збереження компенсації, число неметаболізованих молекул буде величезним. А це, в свою чергу, може сприяти розвитку відхилень спочатку мінімальних і непомітних для організму, а у подальшому все більш значних і відчутних, тобто призвести до патологій та вад розвитку [142].

Таким чином, радіаційноіндуковані успадковані зміни структури білкових молекул є зв'язуючою ланкою між накопиченням пошкоджень у молекулі ДНК і реалізацією їх під час ембріогенезу на рівні органів та систем органів. Тому, вивчення успадкованих і набутих радіаційноіндукованих структурно-функціональних трансформацій молекул білка привертає увагу, адже в результаті мутацій змінюється структура білкової молекули, що викликає порушення її властивостей і функцій [142]. Відомо, що властивості білків визначаються їх первинною, вторинною, третинною, четвертинною структурою, наявністю функціональних груп різноманітної хімічної природи. Серед функціональних груп білкових молекул виділяються високою реакційною спроможністю й різноманітністю хімічних реакцій сіркомісткі, в особливості сульфгідрильні групи, необхідні для прояву біологічної активності багатьох білків та підтримання їх макромолекулярної структури. Не менш важлива і роль дисульфідних груп, що беруть участь, головним чином, у підтриманні вторинної, третинної і четвертинної структури білків [136].

Необхідно підкреслити значення тіолових сполук і у формуванні патологічних обмінних процесів як не радіаційноіндукованих [144], так і тих, що розвиваються після впливу іонізуючих випромінювань [147]. Причому деякі автори розглядають сульфгідрильні групи в якості молекул - мішеней, відповідальних за різноманітні радіобіологічні ефекти [94]. Необхідно підкреслити, що така широка участь сіркомістких груп, як білкового, так і небілкового походження, у фізіологічних та патологічних процесах різної

природи пояснюється різноманітністю реакцій, до яких вони вступають завдяки унікальним хімічним властивостям атому сірки [124].

1.1. Хімічні властивості сульфгідрильних та дисульфідних груп

Тіолові й, особливо, дитіолові сполуки вступають до більшості реакцій у вигляді тіолятного RS-іону, який має яскраво виражений нуклеофільний характер [124]. Ступінь нуклеофільності RS-іонів вищий, ніж у інших функціональних груп білка, наприклад, у 280 разів вищий, ніж у NH₂-групи [166] у 4 рази вищий, ніж у імідазола [136]. Цим пояснюється висока реакційна спроможність SH-груп по відношенню до речовин, які мають електрофільний характер [115]. У свою чергу, причина нуклеофільності RS-іонів ґрунтується на структурних особливостях атома сірки [124]. Так, завдяки великому радіусу, міжатомні відстані у випадку ковалентних зв'язків, що утворюються сіркою, порівняно більші [136]. Відомо, що при великому радіусі зв'язок характеризується низькою енергією, тобто є більш слабким. Крім того, кут між зв'язками типу R-SH дуже близький до 90⁰, що говорить про більший вклад р-електронів до їхнього утворення, а значить і про меншу міцність [114].

Другою важливою властивістю атома сірки є наявність незаповнених 3-d-орбіталей, це полегшує атаку їх молекулами, які мають неподілені пари електронів, які у проміжному стані займають ці орбіталі. У результаті протікають реакції обміну, де сірка виконує функції переносника електронів [124].

Таким чином, наявність незаповнених d-орбіталей у третьому електронному шарі, великий радіус та невисока електронегативність атома сірки сприяють збільшенню поляризуємості неподілених пар електронів зовнішнього шару і зменшенню енергії сіркомістких зв'язків. Завдяки цьому атом сірки в її сполуках володіє яскраво вираженою схильністю до взаємодії з м'якими, легко поляризуємими реагентами, а також до утворення дисульфідних (SS) зв'язків. Високої відновної активності цих речовин,

особливо, що містять тіольну (-SH) групу, сприяє також мінімальний ступінь окислення сірки у біологічних субстратах (-2). Необхідно відзначити, що у водному середовищі сульфгідрильні групи миттєво дисоціюють із утворенням тіольного радикалу RS^{\cdot} , що робить їх ідеальними каталізаторами для переносу електронів [122].

Завдяки означеним властивостям, сполуки, які містять сульфгідрильні групи, навіть за м'яких фізіологічних умовах, легко вступають до різноманітних хімічних реакцій: окислення, алкилування, меркаптидоутворення, арилювання, взаємодії з вільними радикалами, перекисами та іншими окислюючими речовинами, із важкими металами та їхніми сполуками, із ненасиченими і галлоїдомісткими вуглеводами, з органічними кислотами, спиртами, альдегідами, кетонами та іншими сполуками [122].

Найбільшу увагу привертає до себе окислення SH-груп і реакції тіол-дисульфідного обміну. Сульфгідрильні групи низькомолекулярних тіолів і білків підлягають у м'яких умовах окисленню (дегідруванню) з утворенням між- і внутрішньомолекулярних дисульфідних зв'язків. Серед окислювачів SH-груп особливе місце посідають дисульфіди, реакція яких з тіолами носить специфічний характер. Ця реакція отримала назву тіол-дисульфідного обміну:



Реакція складається з двох стадій нуклеофільного заміщення з утворенням на проміжному етапі змішаного дисульфіду, концентрація якого у реагуючій суміші при стані рівноваги зазвичай значна [151]. Реакція обміну протікає з помітною швидкістю за фізіологічних умов рН і температури [136], причому швидкість реакції залежить від природи дисульфіда і нуклеофільності RS^- -іону, який виконує заміщення у атомі сірки дисульфіду [176]. При наявності у білку відокремленої SH-групи реакція обміну може зупинитися на стадії утворення змішаного дисульфіда. Деякі білки *in vivo* існують у формі

змішаних дисульфідів із низькомолекулярними тіолами. Так, фракція сироваткового альбуміну містить змішаний дисульфід білка з цистеїном і, у меншому ступені, з глутатіоном [136]. Змішані дисульфідні зв'язки з глутатіоном виявлені в 3-фосфогліцеральдегіддегідрогеназі [175] й ацилфосфатазі [136]. Реакція тіол-дисульфідного обміну має суттєве значення у таких біохімічних процесах, як ренатурація білків, що містять SS-зв'язки, агрегація та полімеризація білків, регуляція активності деяких ферментів [167].

На відміну від сульфгідрильних груп, дисульфідні групи нативних білків за фізіологічних умов рН і температури більш тривкі до різноманітних впливів. Ця властивість SS-груп добре узгоджується з їхньою основною функцією, яка полягає в стабілізації макромолекулярної структури білків. Реакційна спроможність SS-зв'язків у білках широко варіює; вона залежить від їхньої локалізації в макромолекулі білка, доступності реагентам, природи сусідніх груп, сили нековалентних взаємодій поблизу SS-зв'язку. Як правило, міжланцюгові дисульфідні зв'язки відновлюються з більшою легкістю, чим внутрішньоланцюгові. У більшості білків всі SS-зв'язки або їх частина недосяжні відновленню за умов відсутності денатуруючих агентів. Необхідно відзначити, що SS-групи, які входять до складу активних центрів деяких окислювальних ферментів, приймають участь у каталітичних реакціях, підлягаючи, при цьому, зворотному перетворенню у SH-групи при взаємодії з субстратами [136].

1.2. Особливості реакційної спроможності сульфгідрильних груп білків

Реакційна спроможність сульфгідрильних груп визначається не тільки положенням і оточенням в молекулі, але і природою самого тіола. Відомо, що властивості тіолових сполук не відбивають деякі особливості хімічної поведінки SH-груп білка, що характеризуються зміненою і диференціальною реакційною спроможністю [136]. У зв'язку з різноманітністю будови та властивостей, тіоли, присутні в клітинах і тканинах людини та тварин,

поділяють на тіоли небілкової природи (низькомолекулярні) та високомолекулярні сполуки - білки. До числа перших відноситься амінокислота цистеїн, цистеїновий залишок, що містить трипептид HS-глутатіон; меркаптопохідне амінокислоти гистидіна - ерготіонеїн; димеркаптоліпоева кислота, кофермент А та деякі інші сполуки. Білкові тіоли поділяють на розчинні та нерозчинні у воді, тобто на сполуки, сульфгідрильні групи яких входять до складу розчинних білків, (наприклад гемоглобіну) та до складу нерозчинних структурних білків (білки клітинних мембран) [24]. У свою чергу, у білках розрізняють три типи SH-груп: групи які легко реагують, повільно реагують та "замасковані" чи "приховані" групи [151]. Згідно з Барроном, SH-групи першого типу легко вступають до реакцій із нітропруссидом та з м'якими окислювачами; SH-групи другого типу не дають нітропруссидної реакції і взаємодіють лише з більш сильними окислювачами та з меркаптоутворюючими реагентами. До третього типу відносять сульфгідрильні групи, які вдається виявити лише після денатурації білка, тобто після руйнування його вторинної і третинної структури.

Між різними типами SH-груп не існує чіткої межі і не завжди легко віднести ту чи іншу групу до певного типу. Однак, такий розподіл має суттєве практичне значення. Так, активність одних ферментів (сукцинатдегідрогеназа, 3-фосфоглицеральдегіддегідрогеназа) гальмується вже при зв'язуванні легко реагуючих SH-груп, пригнічення активності других (уреаза, альдолаза, малатдегідрогеназа) настає лише при блокуванні повільно реагуючих чи "замаскованих" сульфгідрильних груп [136].

В основі зміненої реакційної здатності SH-груп білків: підвищення або зниження - лежать, відповідно, механізми активації, або механізми "маскування" сульфгідрильних груп.

1.3. Фізіологічне значення білкових сульфгідрильних груп

Основні біологічні функції сульфгідрильних і дисульфідних груп можна,

з певним ступенем умовності, поділити на наступні категорії: а) структурні функції; б) підтримання окислювально-відновного балансу клітин; в) включення і виключення певних типів біологічної активності [17]. Забезпечення останньої з них здійснюється, в основному, тіоловими ферментами, активність яких пригнічується при блокуванні сульфгідрильних груп, що в них містяться. SH-групи ферментів, поряд з іншими функціональними групами, прийнято ділити на істотні і несуттєві. До істотних відносять групи, що виконують у ферменті одну з наступних функцій: участь у каталізі, тобто в утворенні, перетворенні і розпаді фермент-субстратних комплексів; участь у зв'язуванні кофакторів; участь у підтриманні каталітично активної конформації ферменту [2, 136]. Розташовуючись в активному центрі ферментів SH-групи беруть участь в механізмах ферментативних реакцій в якості нуклеофільного каталізатора. При цьому сульфгідрильні групи можуть утворювати тіоефірні зв'язки з ацильною групою молекули субстрату. До числа ферментів, функціональна активність яких забезпечується подібними механізмами, відносяться 3-фосфогліцеральдегіддегідрогеназа, ацетоацетил-коА-тіолаза [136].

Згідно іншому механізму, SH-групи окислювальних ферментів, вступаючи у реакції дитіол-дисульфідних перетворень, грають роль проміжних переносників електронів від субстратів до акцепторів, наприклад до НАД⁺ [151]. Представником цієї групи є ліпоатдегідрогеназа, що входить до складу α -кетоглутарат - і піруватдегідрогеназних комплексів. Реакційно спроможна SS-група, що бере участь у переносі електронів, виявлена також в активному центрі глутатіонредуктази [136].

Сульфгідрильні групи активних центрів ферментів, окрім прямої участі у каталітичному акті, можуть також грати певну роль у встановленні зв'язків між апоферментом і молекулами субстрату або коферменту. У цьому випадку SH-групи входять до складу, так званої, контактної ділянки активного центру. При цьому, можливо утворення ковалентних зв'язків безпосередньо між

субстратом і атомом сірки активного центру ферменту, або зв'язок SH-груп ензимів з молекулами субстратів опосередковано через іон металу (наприклад, алкогольдегідрогеназа печінки [136]). В останньому випадку іон металу, з'єднаний меркаптидним зв'язком з атомом сірки, здатний утворювати координаційні зв'язки з різними функціональними групами білка (азотистими, карбоксильними та ін.). У результаті виникають своєрідні хелатні комплекси, що можуть виконувати як безпосередньо каталітичну функцію, так і брати участь в утворенні зв'язків між різними ділянками білкової молекули або окремими суб'єдніцями, забезпечуючи підтримання тривимірної конформації ферментів.

Необхідно відзначити, що розділення SH-груп на каталітично активні і групи, що забезпечують зв'язування субстратів, у певній мірі умовне. Утворення зв'язку між функціональними, у тому числі і сульфгідрильними, групами ферменту і молекулами субстрату або коферменту часто призводить до таких змін в розподілі електронних щільності в конформації субстрату (коферменту), які в значній мірі сприяють здійсненню хімічної реакції, що каталізується ферментом [136].

Нарешті, SH-групи у деяких випадках беруть участь у стабілізації каталітично активної конформації білкової молекули ферментів. Це підтверджується експериментальним гальмуванням активності ряду ферментів під впливом реагентів на SH-групи, що зумовлене порушенням їхньої тривимірної конформації. В одному випадку під впливом тіолових реагентів відбувається дисоціація білків на суб'єдніці (глутаматдегідрогеназа [13], глікогенсинтетаза Д печінки [136], та ін.). В іншому дезорганізація структури супроводжується не дисоціацією, а, навпаки, агрегацією молекул білка. Подібні порушення відбуваються або у результаті розриву внутрішньомолекулярних (гідрофобних) зв'язків, до утворення яких залучені SH-групи, або у результаті деформуючого чи дестабілізуючого впливу

інгібітору, що приєднався до сульфгідрильної групи, на сусідній ділянці макромолекули білка [2, 136].

Описані вище механізми лежать в основі функціональної активності багатьох ферментів різних класів. Встановлено, що тіоловими ферментами є значна частина оксидоредуктаз, трансфераз, деякі гідролази, ліази і лігази [120, 154, 157, 158, 159]. Це свідчить про те, що тіолові ферменти каталізують багато реакцій і визначають стан найважливіших шляхів обміну речовин: вуглеводного, білкового, ліпідного. Привертає до себе увагу те, що основна маса цих ферментів приймає участь в енергетичному обміні на різних його етапах.

Відкриття залежності каталітичної активності аденілатциклази та гуанілатциклази від стану SH-груп [15, 174] вказує на участь тіолових ферментів у механізмах гормонального регулювання метаболічних процесів.

Таким чином, широка участь тіолів у ферментативному каталізі обміну білків, жирів, вуглеводів; участь в енергетичному обміні; гормональному регулюванні процесів життєдіяльності визначає істотну роль сіркомістких сполук у включенні різноманітних видів біологічної активності організму людини і тварин. Так, звертає на себе увага роль тіолів у молекулярних механізмах нервової діяльності [172, 189, 196, 205]. Сульфгідрильні групи необхідні для взаємодії ацетилхоліну з холінорецепторами, регулюють чутливість серцевого м'язу до дії ацетилхоліну і до імпульсів блукаючого нерва [56, 120, 138, 139, 140]; виявляють вплив на синаптичну передачу збудження з прегангліонарного волокна на постгангліонарне у симпатичному ганглії [117], змінюють чутливість ефektorних органів до дії адреналіну і симпатичної нервової системи [77]; беруть участь у регулюванні швидкості аксонального транспорту білків, механізмах хеморецепції [143, 148, 197]. У відповідності з теорією ковзаючих ниток, сульфгідрильним групам відводиться значна роль у біомеханізмі м'язового скорочення [149]. Існує взаємозв'язок між аденозинтрифосфатазною активністю міозину і вмістом у

ньому вільних тіолових груп [57]. Сульфгідрильні групи приймають безпосередню участь у механізмах зсідання крові [83], структурної цілісності еритроцитів [22, 183], механізмах клітинного поділу і росту [3, 42, 113, 128]. Сульфгідрильні і дисульфідні групи входять до складу ядерних білків - гістон Н3 [155, 164, 187]. Утворення дисульфідних зв'язків між молекулами гістонів Н3 сприяє утворенню щільних надмолекулярних структур, зв'язуванню різних ниток ДНП, що може бути пов'язано з механізмом мітозу і з впливом на транскрипцію великих ділянок хроматину [13].

Тіолова система еритроцитів має істотне значення в регулюванні внутрішньоклітинних окислювально-відновних процесів [96]. Диспропорція між SH-групами еритроцитів блокує біохімічні реакції, що виконують трансмембранні функції. Встановлено, що тіолові групи білків, розташовані на внутрішній поверхні або в середині мембран, беруть участь в Na-залежному транспорті глюкози. Наявність SH-груп необхідна для секреції інсуліну і глюкагону. Кров бере участь у доставці інтермедіатів, у тому числі SH-груп, до секреторних клітин підшлункової залози, де відбувається активація синтезу гормонів. Порушення внутрішньомолекулярних та міжмолекулярних зв'язків тіолових груп впливає не тільки на синтез інсуліну, а і на деструкцію гормонів, утворення їх неактивних молекулярних форм [144].

Нарешті, білкові сульфгідрильні групи приймають участь в підтриманні окислювально-відновного гомеостазу [8, 186, 190, 198]. По деяким даним тіолмісткі білки неферментної ланки АОС більш реактивні по відношенню до вільних радикалів, ніж основний низькомолекулярний біоантиоксидант SH-глутатіон [24, 122].

У зв'язку з наявністю тісної взаємодії білкових і небілкових тіолів у біохімічних механізмах антиоксидантного захисту, раціонально розглянути ці механізми після з'ясування біологічної ролі низькомолекулярних тіолів.

1.4. Фізіологічна роль низькомолекулярних тіолів

Серед низькомолекулярних тіолових сполук найбільш широко представлений у різноманітних процесах життєдіяльності глутатіон – трипептид γ -глутамілцистеїнілглїцин, який існує у двох формах: відновленої та окисленої. Глутатіон виконує в організмі різноманітні і дуже важливі функції: захищає від активних кисневих сполук [180]; підтримує функції мембран [195]; виконує коферментні функції; є резервом цистеїну [181]; відновлює і ізомеризує дисульфідні зв'язки; впливає на активність ферментів та інших білків; впливає на біосинтез нуклеїнових кислот і білка; бере участь у метаболізмі ксенобіотиків; підвищує резистентність клітин до шкідливих впливів; впливає на проліферацію; бере участь в обміні ейкозаноїдів [63, 161].

Однією з першорядних функцій глутатіона (GSH) є участь у захисті організму від активних форм кисню. Відновлений глутатіон, глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонтрансфераза (ГТ), глутатіонредуктаза (ГР) і НАДФН утворюють глутатіонову антиоксидантну систему [39], в якій, ГР і НАДФН необхідні для відновлення окисленого глутатіона (GSSG) і рециркування GSH. Відновлення ГПО і ГТ гідропероксидів попереджує прогресування пероксидації та появу вторинних метаболітів [66, 105]. ГПО і ГТ відновлюють і продукти пероксидації вільних нуклеотидів і ДНК, при цьому ГТ входить до складу хроматину і грає роль ферменту репарації ДНК [48, 63]. GSH, ГПО і ГТ гальмують перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) у мітосомах [7]. У знешкодженні вторинних продуктів пероксидації та інших окислених речовин головну роль грають ГТ. Вони кон'югують з GSH головні і найбільш цитотоксичні продукти ПОЛ: 4-гідрокси-2-еналі [156], холестерин - α -оксид, хіноли, реактивні метаболіти естрогенів, епоксиди і ареноксиди [63]. При участі GSH, гліоксилазою і формальдегіддегідрогеназою окислюються цитотоксичні альдегіди - різноманітні гліоксали і формальдегід [63]. Особливо важлива глутатіоніва антиоксидантна система при оксидативному стресі - накопичуванні активних форм кисню і інших пероксидантів. Оксидативний стрес - більш широке поняття, ніж ПОЛ: незалежної пероксидації підлягають і

інші молекули, у тому числі нуклеотиди і ДНК [67], пошкоджуються білкові молекули [9, 81, 137]. У більшості видів оксидативного стресу пероксидація ліпідів, певно, не головний механізм генерації активних форм кисню, які викликають первинне пошкодження клітин [63].

Глутатіонова антиоксидантна система ефективно захищає клітину від пероксидного стресу, зокрема GSH протидіє пошкодженню гепатоцитів різноманітними пероксидантами, і тільки при її недостатності, або виснаженні виникають серйозні пошкодження [134]. Необхідно відзначити, що розвиток оксидативного стресу провокується чинниками різної природи: іонізуючі випромінювання, H_2O_2 , речовини, які викликають посилене накопичення H_2O_2 в клітині у результаті метаболізму у пероксисомах, мітохондріях, мікросомах; деякі канцерогени [63]. GSH приймає участь не тільки в захисті організму від ксенобіотиків - пероксидантів, але і від речовин принципово іншої хімічної структури [153, 170]. Глутатіонова дисульфідредуктазна система здійснює відновну інактивацію дисульфідних і тіолсульфатних барвників, детергентів, деяких ліків [61, 184]. ГТ кон'югує електрофільні сполуки майже усіх хімічних класів (цитостатики, канцерогени, токсичні речовини та ін.); нековалентно зв'язує величезну кількість гідрофобних речовин з наступною поступовою їх інактивацією і виведенням, а ковалентно - сильні електроліти (метаболіти канцерогенов і ін.) [51, 173].

Окремим випадком описаних вище функцій глутатіону є участь в захисті або відновленні SH-груп ферментів при їхньому окисленні або зв'язуванні - тіоловому редокс контролі активності ферментів. Так, GSH разом з тіолтрансферазою ефективно захищає очищену піруваткіназу від інактивації на повітрі і навіть реактивує її [63].

GSSG також володіє виразним впливом на активність багатьох ферментів. Механізм його дії пов'язаний з ковалентною модифікацією ферментів: з їхнім зворотнім S-тіоліруванням і утворенням змішаних дисульфідів або в наступному SS-зв'язків. GSSG активує фосфорилазу, ферменти глюконеогенезу, пентозного циклу, ацетилкоА-гідролазу епіфізу,

цАМФ-незалежну протеїнкіназу рибосом, колагеназу, транспорт і окислення глюкози адипоцитами. Разом з тим окислений глутатіон гальмує дію ферментів обміну глікогену, гліколізу, синтезу холестерину, ініціації синтезу білка, ДНК і мелатоніну, ферментів тіол-дисульфідного обміну (ТПОР); гуанілатциклази [63].

Окрім цього, існує група ферментів, для яких GSH виконує коферментні функції: гліоксилаза, формальдегіддегідрогеназа, малеїлацетоацетатізомераза, индолпіруватенолкетотаутомераза, простагландин Д, і, можливо, ізомерази [167]. GSH також виконує коферментну функцію у каталізуємої ГТ ізомеризації стероїдів, простагландину Н₂ в Д₂, малеїлацетоацетата у фумарилацетоацетат [48].

Підтримуючи у відновленому стані SH-групи мембранних білків, GSH сприяє збереженню нативності і цілісності мембран та нормальному існуванню різноманітних мембранних процесів (активний транспорт субстратів і іонів, стабільність форми клітин, реакція на гормони та ін.) [168, 188]. Так, GSH бере участь у транспорті амінокислот, впливає на функцію ниркових мембран [177]; спільно з ТПОР стабілізує рецептори інсуліну. Глутатіон потрібен для підтримання гомеостазу Ca²⁺ в клітині [63].

Глутатіон приймає участь у відновленні та ізомеризації дисульфідних зв'язків. Глутатіонова дисульфідредуктазна система включає в себе GSH, ферменти тіол-дисульфідного обміну (тіопроїєндисульфідоксидоредуктазу - ТПОР; тіолтрансферазу, ГР і НАДФН [48]. Означена система у цитозолі печінки щурів забезпечує відновлення 74-88% різноманітних низькомолекулярних дисульфідів, 31-88% білкових дисульфідів, змішаних дисульфідів GSH з білками. Субстратами для тіолтрансферази є змішаний дисульфідКоА і глутатіона, дисульфідні гормони (інсулін та ін.), ферменти (РНКаза, лізоцим, трипсін, хемотрипсін) та інші позаклітинні білки (імуноглобуліни, інгібітори трипсіну та ін.). Мікросомальна ТПОР відновлює, в основному, білкові дисульфідні, але коло їх ширше, ніж для тіолтрансферази. Найчастіше глутатіонова система інактивує багатоланцюгові

білки, але активує односторонні. Так, при впливі на міжланцюгові SS-зв'язки відбувається розділення ланцюгів, наприклад, А- і В-ланцюгів інсуліну [63]. Тобто, відбувається відновна деградація білкових молекул. При каталізі внутрішньоланцюгових зв'язків підтримується відновлений стан SH-груп білків, необхідних для виконання притаманних їм функцій.

Одним з провідних видів процесингу білків є посттрансляційне утворення дисульфідних містків при формуванні нативної структури [136]. Активну участь у цьому процесі приймає GSH, який разом з ТПОР сприяє ізомеризації білкових тіолів і дисульфідів у результаті розмикання і замикання дисульфідних зв'язків як в середині одного поліпептидного ланцюга, так і між різними ланцюгами. Відновлення або невірне замикання SS-зв'язків призводить до зникнення активності РНКаз, інсуліну, трипсіну, імуноглобулінів. У свою чергу ТПОР викликає правильне перезамикання дисульфідних зв'язків і у результаті цього відновлення функціональної активності цих дисульфідних білків.

Глутатіон приймає участь не тільки у посттрансляційних модифікаціях білків, а і в їх біосинтезі. GSH розглядається як запасна і транспортна форма цистеїну [62, 171], що звільнюється при гідролізі глутатіону та іде на біосинтез білка, утворення CoA. GSH важливий також для реабсорбції амінокислот в нирках, і транспорту їх у клітину [181].

Має суттєве значення глутатіонова система і в біосинтезі нуклеїнових кислот. Так, рибонуклеотидредуктаза, перший специфічний фермент біосинтезу ДНК, відновлює кільце рибози в нуклеозиддифосфатах за рахунок водню тіоредоксину або глутатіонової системи, яка включає в себе GSH, глутаредоксин, ГР і НАДФН [63].

Окрім широкої участі глутатіону у фізіологічних процесах життєдіяльності, наведені вище відомості вказують на велику роль системи глутатіону у захисті клітин від різноманітних шкідливих хімічних сполук. Це, в основному, гідрофобні електрофіли і пероксиданти, що утворюють в клітині H_2O_2 і органічні пероксиди. Існують два найбільш поширених механізми

формування цитотоксичності цих ксенобіотиків. Пероксиданти окислюють критичні SH-групи мембранних білків, це порушує гомеостаз Ca^{2+} і різноманітні види активного транспорту, активує Ca^{2+} -залежні протеази, що змінює морфологію мембран, структуру цитоскелету, форму клітин і в кінцевому рахунку викликає лізис клітини [94]. Певно, має значення і поява у клітині пероксидів ДНК та вільних нуклеотидів [160]. Речовини - електрофіли незворотно алкілюють ДНК, а після цього і білки, що призводить до мутагенних і цитотоксичних ефектів, тобто, процесів, які визначають загибель клітини. Система глутатіону в обох випадках включається або відразу, або після мікросомальних ферментів і супероксиддисмутази, доповнюючи і завершуючи їхню роботу, нейтралізуючи у мікросомах продукти метаболічної активності [63]. У результаті цього, система глутатіону збільшує резистентність клітин і організму до дії хімічних і фізичних чинників, вносить важливий вклад у природну радіорезистентність. З цих позицій систему глутатіону можна розглядати як найбільш важливий і широкий захисний механізм клітини.

Окрім глутатіону в організмі містяться й інші низькомолекулярні тіолові сполуки, які виконують, в основному, роль кофакторів (ліпоєва кислота, коензим А). Ліпоєва кислота широко розповсюджена у тканинах ссавців і бере участь в окислювальному декарбоксилюванні α -кетокислот. Ліпоєва кислота спроможна до зворотного відновлення, тому, виконуючи роль проміжного акцептора водню і кислотних залишків, вона є простетичною групою одного з білкових компонентів ферментної системи розщеплення гліцину [136].

Коензим А приймає участь у переносі та активуванні кислотних залишків у реакціях ацилювання, конденсації, оксидоредуктації або гідратації органічних кислот. КоА бере участь у клітинному диханні, біосинтезі та окисненні жирних кислот, синтезі стероїдів [55].

Нарешті, кофакторну функцію можуть виконувати невеликі білки, які містять SH-групи. Фосфопантетеїнпротеїди беруть участь у переносі ацильних

груп у процесі біосинтезу жирних кислот [136]. Тіоредоксин приймає участь у відновленні різноманітних низькомолекулярних дисульфідів, як симетричних, так і змішаних; білкових дисульфідів у печінці. Дитіолова форма тіоредоксину функціонує в якості донора водню при відновленні кільця рибози у нуклеозиддифосфатах [63, 136, 179].

1.5. Роль дисульфідних груп у білках

Дисульфідні групи характеризуються ковалентними зв'язками, які найбільш часто зустрічаються у білках. Вони можуть бути розділені на дві групи. Внутрішньоланцюгові зв'язки з'єднують окремі ділянки одного і того ж поліпептидного ланцюга і утворюють всередині нього цикли. Такі зв'язки беруть участь у формуванні і стабілізації вторинної і третинної структури білків. Міжланцюгові SS-зв'язки, з'єднуючи різноманітні пептидні ланцюги, приймають участь у формуванні четвертинної структури білків. Розрив усіх SS-зв'язків, звичайно, призводить до руйнування унікальної тривимірної структури білкової молекули і втрати її біологічної активності.

Макроструктура білків, які містять внутрішньоланцюгові дисульфідні зв'язки, як правило, більш резистентна по відношенню до денатуруючого впливу у порівнянні зі структурами, що не містять SS-зв'язки [10]. Однак, не усі дисульфідні групи однаково важливі для підтримання структури і функції. У деяких білках частина дисульфідних зв'язків може бути розщеплена зі збереженням біологічної активності.

Порівняно більша кількість білків містить або SS-зв'язки, або SH-групи. Позаклітинні білки частіше містять лише SS-групи, а внутрішньоклітинні SH-групи. Існування SH- і SS-групи в одній макромолекулі створює потенційну нестабільність, зумовлену можливістю протікання реакції тіол-дисульфідного обміну. У білках, які містять обидві функціональні групи, внутрішньомолекулярна реакція між ними, можливо, запобігається завдяки їхньої просторової розмежованості, або внаслідок особливостей їхнього хімічного оточення [136].

Типовими прикладами ролі дисульфідних зв'язків у підтриманні макромолекулярної структури білків є імуноглобуліни, пептидні гормони, фібрилярні білки (кератини). Так, в імуноглобуліні G кожний легкий ланцюг приєднується до важкого одним SS-зв'язком, який розташований у С-кінця легкого ланцюга. У свою чергу, важкі ланцюги також з'єднані між собою дисульфідними зв'язками. Окрім міжланцюгових, молекули імуноглобулінів містять значне число внутрішньоланцюгових SS-груп. Імуноглобуліни M складаються з п'яти суб'єдиниць, з'єднаних SS-зв'язками, а суб'єдиниці схожі за своєю структурою з імуноглобулінами G, тобто складаються з двох легких і двох важких ланцюгів [58].

До числа пептидних гормонів, які містять дисульфідні групи відносяться інсулін, гіпофізарний гормон росту, соматостатин; гормони нейрогіпофізу - вазопресин і окситоцин. Внутрішньоланцюгові SS-зв'язки не приймають прямої участі у дії інсуліну, вазопресину і окситоцину; їхня роль, очевидно, полягає у підтриманні біологічно активної конформації молекул гормонів. Розщеплення дисульфідних зв'язків у гормоні росту і соматостатині не призводить до зміни їхньої біологічної активності [136], до значних змін у конформації молекули.

Окрім статичної функції, реакційноспроможні SS-зв'язки можуть виконувати у деяких білках динамічну функцію, входячи до складу активних центрів окислювальних ферментів [193]. Дисульфідні групи, при цьому, як описувалося вище, беруть участь в переносі електронів і протонів від субстрату до акцепторів, підлягаючи при цьому зворотньому перетворенню в дитіолові групи.

Неабияке значення мають специфічні білкові SS-зв'язки у структурно-функціональній організації ДНК. Хромосомальна ДНК містить у собі декілька типів специфічних білкових дисульфідів [129, 131]. Тіол-дисульфідні зв'язки у хроматині являються лабільною і динамічною системою, на рівні якої легко протікають окислювально-відновні процеси необхідні для здійснення

активного метаболізму у клітині [13]. Характерним прикладом може бути участь тіол-дисульфідного обміну в утворенні мітотичного апарату в цілому [29] і, зокрема, у редокс-регуляції ДНК-зв'язуючої активності онкобілків *fos* и *jun* [150]. Радіобіологічні дослідження підтверджують функціональну вагомість дисульфідних зв'язків у хроматині. Іонізуюча радіація, як і тіоли, деконденсує хроматин і викликає стимуляцію репаративного синтезу ДНК [29]. Поряд з цим, відома висока ефективність різних сіркомістких протекторів при опроміненні [29, 200], зокрема, на рівні ДНК [130, 162, 169]. Специфічні білкові дисульфіди можуть грати ієрархічну роль у структурно-функціональній організації ДНК, детермінуючи її генний, транскриптонний, репліконний та доменокластерний рівні у геномах різних біологічних систем [132].

1.6. Тіол-дисульфідна система у механізмах неспецифічної резистентності організму

Вплив на організм стресорних чинників різноманітної природи, у тому числі іонізуючих випромінювань, призводить до підсилення вільнорадикального окислення і ПОЛ. Адаптація до такого впливу пов'язана з використанням можливостей антиоксидантної системи [1, 4, 39, 88, 185, 192].

Тіолові сполуки грають ведучу роль в механізмах антиоксидантного захисту. Основна частина антиоксидантної системи представлена речовинами тіолової природи. Так, до складу неферментативної ланки АОС входять низькомолекулярні тіоли і тіолмісткі білки. Крім того, GSH бере участь у відновній регенерації таких високоактивних низькомолекулярних антиоксидантів як токоферол і аскорбінова кислота, що забезпечує за певних умов підтримання буферної ємкості АОС на відносно стабільному рівні. Ферменти, які приймають участь у протиокислювальному захисті, або відносяться до числа власне тіолових ензимів, або потребують присутності тіолів для прояву каталітичної активності. Висока антиокислювальна

спроможність тіолових сполук ґрунтується на їхніх унікальних хімічних властивостях. Так, швидкість реакції окислення SS-груп залежить від їхнього радикального оточення у молекулі, що дозволяє виділити з безлічі тіолових сполук особливу групу речовин, які легко окислюються і виконують специфічні функції антиоксидантів. Заслуговує уваги зворотність реакції окислення сульфгідрильних груп в дисульфідні, яка забезпечує можливість енергетично вигідного підтримання гомеостазу тіолових антиоксидантів у клітині без активації їхнього біосинтезу. Особливості молекулярної структури тіолових сполук дозволяють їм виявляти здебільшого гідрофільні або ліпідofilні властивості. З цим пов'язана можливість створення достатньо високих концентрацій того або іншого тіола у водній або ліпідній фазі клітини і, відповідно, можливість захисту від окислювального пошкодження молекул ферментів і інших білків, нуклеїнових кислот, ліпідів і інших біологічних активних речовин [122].

Таким чином, однотипна первинна реакція відповідь організму на різноманітні стресорні агенти - підсилення вільнорадикального окислення - має неспецифічний характер. В свою чергу, вона породжує вторинну неспецифічну реакцію - активацію антиоксидантного захисту, зрив якого веде до розвитку окислювального стресу [5, 121, 202]. Збереження гомеостазу в багатьох випадках залежить від підтримання на оптимальному рівні кількісного співвідношення між окисленими і відновленими формами біоантиоксидантів. Загальна буферна ємність АОС тим вище, чим більше зсунена у бік відновлених еквівалентів окислювально-відновна рівновага у тіол-дисульфідній системі.

В ході експериментальних досліджень були виявлені коливання інтенсивності вільнорадикального окислення у крові тварин в різні фази адаптації, і фазові зміни вмісту в крові відновлених і окислених форм тіолових антиоксидантів при адаптації до стресу [122]. Причому, у період виснаження адаптаційного резерву, коли концентрація вільних радикалів зростає, відмічено збільшення вмісту дисульфідних і зменшення вмісту

сульфгідрильних груп (тобто зниження тіол-дисульфідного коефіцієнта). В період активації системи адаптації кількість SS-групи, навпаки, зменшувалась; кількість SH-груп збільшувалась, і відповідно, зростало значення тіол-дисульфідного (redox) потенціалу - показника буферної ємності АОС.

Виходячи з наведеного, визначення тіол-дисульфідного коефіцієнта крові (і біоптатів тканин) може бути використано в якості інтегрального тесту для оцінки неспецифічної резистентності організму людини і тварин [99, 123].

Окрім участі у біохімічних механізмах неспецифічної резистентності організму, високо- і низькомолекулярні тіолові сполуки відіграють істотну специфічну захисну роль у протидії патогенному впливові агресивних чинників зовнішнього і внутрішнього середовища. Так, тіолові сполуки приймають участь у формуванні ендogenous фону радіорезистентності організмів ссавців [25].

1.7. Тіолзалежні механізми радіочутливості і радіорезистентності

Відомо, що найбільш істотними особливостями іонізуючих випромінень є їхня спроможність до проникнення і можливість за короткий термін викликати іонізацію атомів і молекул. При цьому, енергія випромінювань поглинається не вибірково, а будь-якою молекулою, і призводить до її деструкції і функціональної інактивації. Для стабільного пошкодження молекул, у результаті безпосереднього їх опромінення, потрібно від декількох тисяч до багатьох мільйонів грей, у той час як для більшості клітин летальна доза опромінення складає від одного до ста грей. Виходячи з цих цифр, у летально опроміненій клітині частка інактивованих молекул надзвичайно мала [126, 127]. Така диспропорція між кількістю енергії, поглиненої живим об'єктом, і кінцевим біологічним ефектом у сучасній радіобіології пояснюється з позиції "теорії мішеней". Згідно принципу попадання і концепції мішеней, кількість поглинутої кліткою енергії дуже мала для кінцевого радіобіологічного ефекту і за загибель опромінених клітин відповідають тільки ті кванти, які влучають у мішень - критичну структуру клітини (ДНК,

біологічна мембрана) [59, 38, 146]. На думку деяких авторів, ендogenous тіоли є молекулами мішенями, що несуть відповідальність за загибель клітини [94]. Це положення ґрунтується на наступних експериментальних даних: зв'язування клітинних SH-груп сенсibiliзує бактерії до рентгенівського опромінення; опромінення змінює вміст SH- і SS-груп у клітинах; додання окисленого глутатіону у високих концентраціях до ізольованих ядер тимусу викликає інгибування ядерного фосфорилування, синтезу нуклеопротейдів і ядерної РНК. Означені зміни імітують ефекти рентгенівського опромінення [94].

З іншого боку ряд дослідників пов'язують радіорезистентність з рівнем небілкових сульфгидрильних груп [11, 28, 89], здебільшого глутатіонівих [152, 165, 182, 201] і активністю ферментів глутатіонівого циклу. В основі сульфгидрильної гіпотези лежать наступні положення: природна радіорезистентність зумовлена кількістю у клітинах і тканинах тіолових сполук, що виконують роль ендogenous протекторів; профілактичний ефект радіопротекторів зумовлений підвищенням вмісту у біологічному об'єкті сульфгидрильних груп; ефект хімічної радіосенсибилізації - слідство зниження рівня ендogenous тіолів [29, 44, 160].

Окремі механізми захисту організму глутатіоном і глутатіонівою системою від впливу агресивних чинників зовнішньої і внутрішньої середовища були описані вище. Крім того, деякі автори вважають, що GSH, здатний конкурувати з киснем і радіосенсибилізаторами за вільні радикали, взаємодіючи з останніми. При цьому він перетворюється у GSSG, який може бути регенерований за допомогою аскорбінової кислоти, НАДН і цитохрому. Після цього GSH знову вступає до реакцій з вільними радикалами [7]. Таким чином, ендogenous тіоловим сполукам надається велике значення. Це пов'язано з припущенням про їхню роль субстрату у первинних процесах радіаційного ураження, і субстрату, що визначає ступінь радіочутливості і радіорезистентності [29]. Причому, підвищення реактивності тканинних

сульфгідрильних груп є однією з найбільш ранніх реакцій організму на вплив іонізуючої радіації [125].

Важливою роллю сіркомістких сполук у біохімічних механізмах життєдіяльності пояснюється наявність значної кількості робіт, присвячених вивченню радіаційноіндукованих змін вмісту тіолових сполук різноманітної природи практично в усіх органах і тканинах. Вивчався вміст сульфгідрильних і дисульфідних груп, після тотального і локального опромінення, у головному мозку [30, 40, 41, 78], міокарді [102], легенях [30], печінці [30, 34, 40, 102], нирках [30, 40], лімфатичних вузлах [40], селезінці [199], тимусі [110], шлунково-кишковому тракті [34, 60], м'язовій тканині [40], крові [141, 199]. Вивчалися відмінності змін вмісту тіолових груп після опромінення у різноманітних по радіочутливості органах [108].

Між тим, дані про зміни вмісту SH-груп під впливом опромінення вкрай суперечливі [106]. Поряд з відомостями про відсутність впливу радіації на тіолові сполуки [30], є данні про збільшення або [53] зменшення їхнього вмісту [191]. Вище наведена роль глутатіона у захисті організму від іонізуючих випромінень, однак в окремих літературних джерелах заперечується значення ендогенних тіолів [203] і глутатіону [204] у формуванні радіорезистентності. В певній мірі суперечливість цих даних пояснюється тим, що визначення велися у різні терміни після опромінення і на різноманітних об'єктах [106]. Крім того, переважна більшість робіт присвячена гострому впливові великих доз радіації, у той час як про вплив хронічного опромінення в малих дозах на тіол-дисульфідну систему інформація вкрай обмежена. Це має особливе значення у зв'язку з дослідженням ролі антиоксидантного статусу у формуванні наслідків біологічної дії іонізуючих випромінювань у малих дозах [111, 116]. В експериментальних дослідженнях останніх років виявлені структурні і біохімічні зміни різноманітних мембранних систем вже в ранні терміни після хронічного впливу низькоінтенсивного випромінювання у малих дозах [12]. В останній час

обговорюється гіпотеза про існування критичного балансу між клітинною проліферацією, з одного боку, ПОЛ і апоптозом з іншого. Перехід до більш прооксидантного стану спочатку може призводити до підвищення проліферації, а після цього до інтенсифікації апоптозу [79]. Вклад антиоксидантів у забезпечення радіорезистентності тварин різних видів значно вище при низьких дозах, ніж в області сублетальних і мінімально летальних доз опромінення [14]. Необхідно відзначити, що в умовах тривалого, хоча і низькоінтенсивного опромінення розвивається поступове зниження потужності системи глутатіона, як прояв хронічного стресу [9].

Разом з тим, відомостей про те, наскільки вагома роль тіолів у вищезазначених процесах за умов хронічного опромінення у доступній літературі зустрійо не було.

1.8. Печінка у пострадіаційних реакціях організму

По своїй поліфункціональності і інтенсивності метаболічних шляхів, їхньої системної значущості печінка займає унікальне місце в організмі, що дозволяє їй грати роль центрального гомеостата [75]. Деякі з численних функцій печінки органоспецифічні, інші реалізуються в ній здебільшого, треті можуть не менш інтенсивно здійснюватися в інших органах і тканинах. У кінцевому рахунку їхній широкий спектр, інтенсивність, взаємна узгодженість і високий ступінь адаптаційних можливостей унікальні. Різноманітні процеси, що водночас протікають в органі, сформовані в наступні магістральні напрямки його інтегративної діяльності: катаболізм і детоксикація різноманітних речовин; взаємоперетворення сполук різних класів; синтез резервних продуктів, їхнє депонування і мобілізація; депонування крові; синтез білків плазми крові; внутрішнє виділення різноманітних сполук; утворення і виведення жовчі як травневого соку і екскрета; термогенез. Крім того, у зародків, печінка - орган гемопоезу. Таким чином, печінка грає центральну координуючу роль у життєдіяльності організму і при її патології відбувається дезинтеграція обміну речовин і зниження адаптивних

властивостей організму [107]. Завдяки різноманітності виконуваних функцій, печінка грає важливу роль в стресорних реакціях організму [23]. Зокрема, у динаміці радіаційного стресу виявляється різке зростання швидкості синтезу фосфоліпідів і холестерину у печінці, що перевищує вхідні значення у 10-30 разів. Останнє можна розглядати в якості компенсаторної реакції, направленої на підтримання цілісності і структурне відновлення мембранних структур клітин після радіаційного пошкодження [49, 50]. Причому, підсилення утворення холестерину - одна з найбільш ранніх "протиаварійних реакцій" організму на опромінення [59]. У відповідності даним літератури, зміни рівня тіолів печінки після впливу радіації мають значення для усього організму у цілому. Так, печінка є місцем синтезу низькомолекулярних тіолів і при впливові іонізуючих випромінювань може відбуватися активація цього процесу [108, 178]. Цілком можливо, що надлишкова кількість низькомолекулярних тіолів, що виробляються печінкою, поставляється до інших органів [194], що призводить до підвищення пула небілкових SH-груп і через реакції тіол-дисульфідного обміну [163] до збільшення білкових SH-груп в інших тканинах. У зв'язку з цим, доречно згадати про захисну функцію низькомолекулярних тіолів по відношенню до білкових сульфгідрильних груп, у тому числі SH-груп ферментів.

Необхідно відзначити, що, у відповідності з даними літературних джерел, вивчення радіаційноіндукованих змін метаболізму печінки проводилося в основному після впливу великих доз іонізуючих випромінювань [108, 46]. Можливо це пов'язане з тим, що печінка володіє дуже високою радіорезистентністю [59, 87, 111]. Лише в останній час з'явилися роботи [26, 27, 103, 116], в яких описується вплив малих доз радіації на молекулярні процеси у печінці. Активація подібних досліджень, можливо, пов'язана з появою гіпотези про "запізнення" систем репарації як причини пошкоджуючої дії малих доз радіації [93, 116]. Згідно цієї гіпотези, пошкодження біомолекул можуть викликати більш низькі дози, ніж ті, які викликають індукцію систем відновлення. У результаті, при дії радіації у

малих дозах спостерігаються ефекти, пов'язані з нерепарованими пошкодженнями. Однак, у доступній літературі відсутні відомості про зміни рівня тіолових сполук у печінці при впливові малих доз радіації.

У нинішній час можна вважати цілком доведеним, що печінка - диференційований за статтю орган, принаймні по більш, ніж ста вивченим функціям, які мають відношення до всіх основних напрямків його діяльності як "метаболічного мозку". Причому, статеві відмінності у вираженості процесів, які протікають у печінці, можуть коливатися від 1,5-2 - до 10-кратних і більше. Печінка і мозок, які є найважливішими інтегративними системами організму, координують не тільки адаптивні реакції, що зумовлюють його самозберігання, але і репродуктивні процеси. Внаслідок цього втягнення до статевого диференціювання печінки і мозку має безпосереднє відношення до власне репродуктивних процесів, а також до зв'язку останніх з адаптивними [107]. Тим не менш, у літературних джерелах не було зустрінено відомостей щодо диференціації, у залежності від статі, відповідної реакції тіолових сполук печінки на хронічний вплив радіації у малих дозах.

Дослідження тіол-дисульфідного обміну у печінці нащадків опромінених щурів дозволяє водночас, у комплексі, з'ясувати вплив хронічної дії радіації на ультраструктуру і метаболізм печінки; на тіол-дисульфідний обмін (зокрема, редокс-потенціал, як інтегральний показник стану неспецифічної резистентності організму); виявити метаболічні рівні реалізації у генераціях радіаційноіндукованих пошкоджень генома; стан неспецифічної резистентності організму нащадків, їхнього ендогенного фону радіорезистентності, що у сучасних екологічних умовах має величезне теоретичне і практичне значення.

1.9. Морфофункціональний стан тканин печінки за фізіологічних умов та за умов дії радіаційного фактору

На сьогодні, існують роботи [95, 86, 135], які свідчать про те, що іонізуюче випромінювання у малих дозах призводить до структурних зрушень у тканинах печінки ссавців. Проте, майже відсутні дані, які б надавали характеристику морфофункціонального стану печінки нащадків, отриманих від опромінених попередників. Останнє набуває особливої важливості виходячи з того, що структурні зрушення у тканинах печінки при її патології у більшості випадків випереджають функціональні та клінічні прояви зазначених змін [32]. Виходячи із загальнобіологічної дії іонізуючих випромінювань можна припустити і роль тіол-дисульфідної системи у морфологічних радіаційноіндукованих зрушеннях у тканинах печінки. Відомо, що порушення з боку біологічних систем можуть бути наслідком як прямої, так і непрямой дії іонізуючих випромінювань [76]. Пряма біологічна дія радіації реалізується через продукти радіолізу води. При цьому формуються вільні радикали, які, у свою чергу, можуть вступати у реакції окислення та відновлення [43, 64]. При непрямій дії може відбуватися розщеплення молекул білка, розрив найменш стійких зв'язків, та інші денатураційні зміни [101].

Стосовно печінки існує велика вірогідність посилення утворення активних форм кисню, у тому числі фагоцитарними клітинами у тканинах печінки [70] і розвиток автоокислювального її ушкодження. Враховуючи вищенаведені функції білкової і небілкової ланок тіол-дисульфідної системи, стає зрозумілим її можлива роль у зазначених процесах.

Як було відмічено раніше, іонізуючі випромінювання можуть викликати зміни концентрації сульфгідрильних та дисульфідних груп у тканинах і органах. Поряд з цим існують дані про те, що тіол-дисульфідне співвідношення суттєво впливає на конформацію білків. При цьому конформаційні зміни мембранних білків супроводжуються змінами характеру і міцності зв'язку з ними молекул ліпідів. Вірогідно, що зменшення вмісту SH-груп і збільшення SS-груп викликає дестабілізуючий ефект на ліпопротеїди клітинних мембран [22].

Відомо, що холінестераза та аденозинтрифосфатаза містять SH-групи [147]. Тому, при можливому вільнорадикальному окисленні сульфгідрильних груп не виключена інактивація цих ферментів, що може призводити, відповідно, до порушення передачі нервового імпульсу та енергетичного обміну у тканинах печінки. До того ж, при експериментальній відсутності холінергічної інервації печінки відбувалися суттєві дистрофічні зміни у її тканинах.

Нарешті, у печінці синтезуються низькомолекулярні тіолові сполуки, їх синтез може активізуватися при дії несприятливих факторів. З цього приводу будуть мати значення відмінності у функціональній направленості різних відділів печінкової часточки. Відомо, що гепатоцити різних зон часточки неоднорідні за вмістом глікогену, пігментів, набору ферментних систем. Гетерогенність гепатоцитів обумовлена якісними і кількісними відмінностями крові, що надходить у різні відділи часточки. Багата на кисень кров надходить до перипортальних гепатоцитів, які несуть основне навантаження в енергетичній функції органу. У периферійних зонах печінкової часточки сконцентровані ферментні системи, які обумовлюють окислювально-відновні процеси [45]. Біотрансформація - основна функція перивенулярної зони. Однак гепатоцити цієї зони менш захищені від дії деяких токсичних продуктів, так як глутатіонпероксидаза і глутатіон локалізовані переважно у навколопортальних клітинах [84]. Таким чином, відмінності радіаційноіндукованих зрушень тканин печінки [135] можуть бути пояснені функціональною гетерогенністю центральних і периферійних зон печінкової часточки, різним вмістом у них тіолових сполук.

Нарешті, у доступній літературі існують поодинокі роботи [18, 118], в яких описані вікові особливості морфології печінки і практично відсутні дані про статеві відмінності, хоча відома диференціація функцій печінки за цією ознакою [107].

Підсумовуючи всі вищенаведені факти можна припустити істотне значення тіол-дисульфідної системи у радіаційноіндукованих зрушеннях

морфології печінки. Незважаючи на це, у літературі відсутні дані про існування, чи відсутність статевих відмінностей радіаційноіндукованих змін тканин печінки. Дуже обмежені відомості про характер цих зрушень на різних етапах онтогенезу, про зміни тканин печінки у нащадків, опромінених у малих дозах щурів. Відсутні дані про залежність зрушень структури печінки від стану тіол-дисульфідної системи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Лабораторні тварини та моделювання експерименту

Експериментальні дослідження проведені на 480 щурах різного віку та 30 зародках щурів лінії Вістар. Усі тварини утримувалися за стандартних умов віварію [65]. Дослідження планували враховуючи основні положення моделювання експериментів по вивченню спадкових радіаційних ефектів у ссавців [91]. У відповідності до мети та задач дослідження всі експериментальні тварини були поділені на наступні групи:

- інтактні статевозрілі самці і самки;
- статевозрілі самці і самки, опромінені у сумарній дозі 0,75 Гр;
- статевозрілі самці і самки, опромінені у сумарній дозі 1,0 Гр;
- 18-денні зародки; дводенні, 14-денні щурята, отримані від інтактних щурів;
- 18-денні зародки; дводенні, 14-денні щурята, отримані від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр самців і самок;
- 18-денні зародки; дводенні, 14-денні щурята, отримані від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр самців і самок;
- самці і самки віком 30, 45, 90 та 365 діб, отримані від інтактних щурів;
- самці і самки віком 30, 45, 90 та 365 діб, отримані від щурів, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр;
- самці і самки віком 30, 45, 90 та 365 діб, отримані від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Групи тварин, що підлягали опроміненню формували із здорових статевозрілих самців та самок віком три місяці та вагою 180-200 г. Самок відбирали таким чином, щоб вони знаходились на одній стадії естрального циклу, останню визначали за допомогою мазків з піхви [109].

Експериментальних тварин піддавали тотальному γ -опроміненню на гаматерапевтичній установці АГАТ-Р № 83 (ізоотоп ^{60}Co). Опромінення

проводили натщесерце о 9-й годині ранку, при слідуючих технічних умовах: потужність дози 107 рад/хв, відстань від джерела до поля 0,75 м; розміри поля 0,2 × 0,2 м; одноразово по 0,15 Гр (експозиція вісім секунд) та 0,1 Гр (експозиція шість секунд) кожні 72 години до досягнення сумарної дози 0,75 та 1,0 Гр відповідно. Під час опромінення тварини знаходилися у спеціально виготовлених клітках-фіксаторах з органічного скла. Дозиметричний контроль проводився дозиметричною службою Одеського онкологічного диспансеру, на базі якого проводили опромінення.

З метою отримання виводку від радіаційноуражених попередників, через 12 діб по завершенні дії іонізуючої радіації проводили спарювання самців і самок, опромінених як у дозі 0,75 Гр так і у дозі 1,0 Гр. Відбір самок для запліднення та визначення першого дня вагітності проводили за методиками отримання тварин з точно датованим строком вагітності [109]. До експерименту брали 18-денних зародків, щурят віком 2, 14, 30, 45, 90, 365 діб, отриманих від інтактних та опромінених самців і самок.

Для визначення особливостей тіол-дисульфідного обміну у опромінених у дозі 0,75 і 1,0 Гр статевозрілих щурів, частину тварин брали до експерименту на 12-ту добу після завершення опромінення.

2.1. Методи досліджень

Щурів забивали шляхом швидкої декапітації [6]. Одразу вилучали печінку, промивали охолодженим до +4°C фізіологічним розчином, та готували з неї наважку тканин печінки на торзіонних терезах. Тканини печінки гомогенізували у скляному гомогенізаторі з тефлоновим пестиком за допомогою мікророзмільчувача тканин РТ-2, на протязі 1 хвилини при 5000 обертах на хвилину. Середовище виділення: ТРИС-буфер рН 9,5 у співвідношенні 1 г тканин печінки - 10 мл буферного розчину. Отриманий гомогенат центрифугували 15 хвилин при 3000 обертах на хвилину для отримання супернатанту.

Кров у щурів забирали після декапітації. Отримували сироватку крові за стандартною методикою [24]. Сироватку крові не досліджували у зародків та щурят віком дві доби у зв'язку з малим об'ємом крові і неможливістю отримати достатню кількість сироватки. З аналогічної причини не досліджували вміст небілкових сульфгідрильних груп у сироватці крові 14-денних щурят.

У супернатанті та сироватці крові визначали кількість Ag^+ -чутливих сульфгідрильних і дисульфідних груп білкового походження та сульфгідрильних груп небілкового походження методом зворотнього амперометричного титрування [24, 122], за допомогою приладу для амперометричного титрування (виробництво "Химлаборприбор" ТУ 25-11-364-69, СРСР).

Принцип методу полягає у наступному. До кювети для титрування додають трис-буфер (трис-гідроксиметил-амінометан) і додають розчин AgNO_3 . Внаслідок цього в електричній схемі установки, яка складається із занурених в кювету для титрування індикаторного платинового електрода і каломельного електрода порівняння, виникає дифузний струм як результат відновлення іонів срібла на платиновому індикаторному електроді. Величину струму контролюють за допомогою мікроамперметра. Приріст струму відбувається пропорційно доданому розчину AgNO_3 . Потім у кювету для титрування вносять біоматеріал. Іони срібла зв'язуються SH-групами з утворенням стійкого меркаптиду, у результаті чого відбувається пропорційне зниження величини вихідного дифузного струму. Кількість Ag^+ -чутливих SH-груп у біоматеріалі еквівалентна кількості зв'язаних іонів срібла, яку розраховували за формулами [24, 122]. Для цього використовували ЕОМ "Pentium 200".

Визначення вмісту дисульфідних груп проводили методом зворотнього амперометричного титрування [119, 122]. Принцип методу полягає у наступному. Титрування проводиться аналогічно вищезгаданому, але у

присутності надлишку іонів срібла. Після визначення кількості Ag^+ -чутливих SH-груп у біоматеріалі в кювету для титрування вносять сульфід натрію (Na_2SO_3), який відновлює дисульфідні зв'язки і знову утворені сульфгідрильні групи реагують з іонами срібла, у результаті чого відбувається пропорційне зниження величини вихідного дифузного струму. Кількість SS-груп у біоматеріалі еквівалентна кількості зв'язаних іонів срібла після додавання до реакційної суміші сульфїту натрію. Розрахунки вели за формулами [24, 122] з використанням ЕОМ "Pentium 200".

SH/SS-коефіцієнт (тіол-дисульфідне співвідношення, редокс-потенціал) білкових молекул тканин печінки і сироватки крові обчислювали як частку між вмістом у біоматеріалі білкових SH-груп і вмістом білкових SS-груп [24].

Для визначення кількості Ag^+ -чутливих SH-груп у небілкових фракціях сироватки крові та супернатанту гомогенату тканин печінки в окремі пробірки відбирали по 400 мкл біоматеріалу додавали до нього по 200 мкл 5% метафосфорної кислоти. Пробірки центрифугували при 3000 обертах на хвилину протягом 30 хвилин і одержували прозорі супернатанти – небілкові фракції [24].

Для гістологічних методів досліджень брали частки одразу вилученої печінки розмірами $0,3 \times 0,3 \times 0,3$; $0,5 \times 0,5 \times 0,5$ та $1,0 \times 1,0 \times 1,0$ см в залежності від віку тварин. Печінку фіксували на протязі 1,5 годин у рідині Карнуа, заливали у парафін за схемою Меркулова [80, 82]. Зрізи товщиною 5-7 мкм готували на мікротомі МПС-2, фарбували гематоксиліном та еозіном [82], залізним гематоксиліном [82]. Забарвлені зрізи досліджували за допомогою методу світлової мікроскопії.

На зрізах забарвлених гематоксиліном та еозіном, залізним гематоксиліном визначали наявність змін у структурній організації печінкової часточки, стан цитоплазматичних мембран гепатоцитів, щільність прилягання клітин одна до одної, вакуолізацію цитоплазми та дегенеративні зміни ядра

гепатоцитів; стан клітин ретикуло-ендотеліальної системи, стан судинного русла печінки.

Отримані результати досліджень були опрацьовані методом статистичної обробки з використанням стандартних пакетів програм “Primer Biostatistics” Sigma Start (США, 1994).

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО γ -ОПРОМІНЕННЯ У НИЗЬКИХ ДОЗАХ

Проведений аналіз літературних джерел (розділ I) свідчить про те, що тіолові сполуки відіграють велику роль у життєдіяльності організмів людини та тварин, адаптації їх до постійних змін умов внутрішнього та зовнішнього середовища. Поміж іншим функціональна спроможність тіолзалежних механізмів резистентності до впливу несприятливих факторів залежить від сили і тривалості дії подразника та індивідуальних властивостей організму. Але, на сьогодні, мало що відомо про вікові та статеві особливості функціонування тіолзалежних адаптаційних механізмів на різних етапах онтогенезу за фізіологічних умов та в умовах тривалої дії радіаційного фактору у низьких дозах. У зв'язку з вищенаведеним, в нашій роботі було проведено дослідження вікових змін тіол-дисульфідної системи в онтогенезі щурів, та її стан за умов дії несприятливих факторів на статевозрілих щурів.

3.1. Стан тіол-дисульфідної системи у тканинах печінки та сироватці крові щурів різного віку за фізіологічних умов

Проведені дослідження виявили суттєві коливання вмісту тіолових сполук у печінці та сироватці крові на різних етапах онтогенезу щурів. Так (табл. 3.1), концентрація білкових SH-груп у тканинах печінки 45-денних самців щурів виявилась на 38,6% нижчою порівняно з 30 денними самцями. Зміни білкових SH-груп, у даному випадку, не супроводжувалися достовірними зрушеннями кількості білкових дисульфідних груп. При цьому, зсув на 31,6% співвідношення SH- до SS-груп у бік окислених продуктів відбувався переважно за рахунок коливань рівня сульфгідрильних груп. Зміни концентрації високомолекулярних тіолових сполук супроводжувалися змінами

низькомолекулярних сіркомістких сполук, про що свідчило різке зниження вмісту небілкових SH-груп тканин печінки на 56,3% порівняно з аналогічними показниками 30-денних самців щурів. Слід зазначити, що зрушення тіолдисульфідного обміну у печінці щурів віком 45 днів не супроводжувалися статистично достовірними змінами концентрації сіркомістких сполук у сироватці крові.

Таблиця 3.1

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці інтактних самців різного віку

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; n=10)

Вік тварин	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
30 днів	6,04 ± 0,12	1,24 ± 0,04	4,93 ± 0,15	0,48 ± 0,02
45 днів	3,71 ± 0,14	1,13 ± 0,04 * ¹	3,37 ± 0,23	0,21 ± 0,02
90 днів	6,63 ± 0,05	1,1 ± 0,05 * ²	6,14 ± 0,26	0,5 ± 0,02 * ¹
365 днів	5,54 ± 0,12	1,08 ± 0,03 * ³	5,14 ± 0,09	0,68 ± 0,03

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з 30-денними інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з 45-денними інтактними самцями.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з 90-денними інтактними самцями.

Враховуючи залежність ємкості антиоксидантних систем від віку, та ендогенного пулу антиоксидантів [5, 14, 116] на наш погляд описані зрушення можуть бути пояснені початком статевого дозрівання щурів, гормональними змінами на цей час.

У подальшому, у тканинах печінки 90-денних статевозрілих щурів - самців вміст білкових SH-груп значно підвищувався і складав 178,7 та 109,8%

по відношенню до самців віком 45 та 30 діб відповідно. Поряд з цим кількість дисульфідних груп продовжувала зменшуватись. Якщо, порівняно з 45-денними самцями достовірних зрушень не відбулось, то по відношенню до 30-денних зменшення концентрації SS-груп на 11,3% виявилось статистично вірогідним. Але, не зважаючи на це, за рахунок різкого зростання концентрації білкових сульфгідрильних груп редокс-потенціал тканин печінки значно виріс, як по відношенню до аналогічних показників 30- так і 45-денних щурів і склав 124,5 та 182,2% відповідно. Нарешті вміст небілкових сульфгідрильних груп у тканинах печінки статевозрілих 90-денних самців щурів зростав по відношенню до 45-денних на 138,1% і ставав практично таким же, як і у 30-денних самців. Отже виявлені коливання вмісту високо та низькомолекулярних сполук у тканинах печінки щурів самців різного віку свідчать про різні функціональний стан тіолових сполук, буферну ємкість тіолзалежної ланки антиоксидантної системи. Початок статевого дозрівання супроводжується перебудовою функціонування багатьох систем організму. Стосовно тіолзалежних механізмів життєдіяльності, виходячи з отриманих результатів, можна сказати про можливу їх активацію. Зменшення вмісту білкових SH-груп, представлених в основному в активних центрах ферментів, за фізіологічних умов свідчить про залучення їх у більшої мірі до метаболічних процесів. Паралельне розщеплення білкових дисульфідних зв'язків у реакціях тіол-дисульфідного обміну призводить до утворення нових функціонально активних SH-груп. Треба звернути увагу на те, що зменшення редокс-потенціалу у даному випадку відбувалося не за рахунок збільшення дисульфідних груп, а за рахунок зменшення сульфгідрильних. Це може бути свідченням того, що білкові SH-груп використовуються у фізіологічних реакціях, а не перетворюються у дисульфідні групи внаслідок окислювальної модифікації. Зменшення вмісту небілкових сульфгідрильних груп, в основному представлених глутатіоном, може вказувати на активацію перекисного окислення ліпідів, утворення побічних продуктів обміну речовин,

що мають вільні радикали і як наслідок цього активацію глутатіонової ланки антиоксидантної системи, та системи знешкодження шкідливих продуктів.

Виходячи з отриманих результатів ми можемо припустити повну функціональну спроможність низькомолекулярної ланки антиоксидантної системи, покладаючись у даному випадку на відсутність окислювальної модифікації сульфгідрильних груп до дисульфідних. Іншим поясненням зменшенням вмісту небілкових SH-груп тканин печінки може бути їх можливе за даними літератури [108] перетворення у білкові SH-групи.

Вищенаведені припущення у певній мірі підтверджуються відновленням рівня білкових та небілкових сульфгідрильних груп у тканинах печінки після досягнення самцями статевої зрілості.

Нарешті, неабияке значення має стан систем неспецифічної резистентності організму під час старіння. Наші дослідження показали, що у старих щурів-самців віком один рік порівняно з 90-денними щурами на 16,4% знижувався вміст у тканинах печінки білкових сульфгідрильних груп. Цей процес не супроводжувався змінами кількості дисульфідних груп. Внаслідок чого співвідношення білкових SH-груп до білкових SS-груп зменшувалося на 16,3%. Разом з тим, за фізіологічних умов, при відсутності дії несприятливих факторів не відбувалося окислювальної модифікації білкових SH-груп до дисульфідних груп. Паралельно з цим процесом у тканинах печінки самців віком 365 днів відмічалось на 36% збільшення рівня небілкових SH-груп порівняно з 90-денними інтактними самцями. Таке збільшення вмісту небілкових SH-груп за відсутністю впливу подразників можна пояснити віковими денатураційними змінами білків характерними для старечого віку; які, як відомо, супроводжуються розривом зв'язку SH-груп з молекулою білка і утворенням вільних небілкових SH-груп, що, у свою чергу, підтверджується зниженням вмісту білкових сульфгідрильних груп. З іншого боку підвищений катаболізм білків у старечому віці потребує надходження до організму більшої кількості білків, утворення більшої кількості функціональних груп.

Літературні дані свідчать [108] про те, що у печінці інтенсивно синтезуються низькомолекулярні тіоли при дії несприятливих факторів, які виділяються до загального кровотоку і далі, проникаючи у органи та тканини, перетворюються у SH-групи поповнюючи їх пул. Тобто, збільшення вмісту небілкових сульфгідрильних груп у тканині печінки 365-денних щурів можна розглядати як компенсаторну реакцію.

Вікові зміни вмісту тіолових сполук спостерігались і у сироватці крові самців, отриманих від інтактних тварин (табл. 3.2), причому їх направленість у багатьох випадках співпадала з аналогічними у тканинах печінки, що свідчить про єдність та взаємозалежність процесів тіол-дисульфідного обміну у різних органах та тканинах.

Таблиця 3.2

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові
інтактних самців різного віку
($M \pm m$; мкмоль/л; n=10)

Вік тварин	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
30 днів	451,56 ± 11,98	124,44 ± 7,53	3,72 ± 0,2	19,31 ± 0,8
45 днів	429,17 ± 8,75	125,02 ± 6,34	3,51 ± 0,19	21,06 ± 0,59
90 днів	522,1 ± 19,54 * ^{1,2}	131,37 ± 7,72	4,02 ± 0,1 * ²	20,46 ± 0,92
365 днів	533,33 ± 12,87	133,33 ± 5,67	4,04 ± 0,11	27,64 ± 0,94 * ³

Примітки:

- *¹ p < 0,05 порівняно з 30-денними інтактними самцями.
- *² p < 0,05 порівняно з 45-денними інтактними самцями.
- *³ p < 0,05 порівняно з 90-денними інтактними самцями.

У сироватці крові 45-денних інтактних самців порівняно з 30-денними, як і у печінці, спостерігалась тенденція до зниження вмісту білкових SH-груп, редокс-потенціалу при незмінній кількості білкових SS-груп. Ці процеси не супроводжувалися статистично достовірними змінами концентрації небілкових SH-груп.

Аналогічно показникам печінки у сироватці крові 90-денних інтактних самців вміст білкових SH-груп відновлювався і навіть перевищував показники 30-денних самців на 15,6%, а порівняно з 45-денними самцями він складав 121,7%. Означені процеси не супроводжувалися статистично достовірними змінами білкових дисульфідних груп. Внаслідок вищенаведених зрушень спостерігалось підвищення співвідношення білкових SH-груп до SS-груп на 14,5% порівняно з 45-денними самцями. У сироватці крові підвищення редокс-потенціалу відбувалося в основному за рахунок зростання концентрації високомолекулярних SH-груп. Таким чином, в основі змін показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему, у сироватці крові та печінці лежать подібні механізми. При цьому, слід зазначити, що амплітуда коливань вмісту високо- та низькомолекулярних тіолових сполук у сироватці крові інтактних самців суттєво менша ніж у печінці. На нашу думку це пояснюється специфічними функціями печінки, щодо синтетичних процесів, зокрема описаних вище; дезинтоксикації, тощо. З іншого боку двостороннім обміном у тому числі і білковими сполуками між кров'ю, органами та тканинами.

Дещо відрізнявся характер змін низькомолекулярних тіолових сполук у сироватці крові. Вміст SH-груп небілкового походження статистично достовірно не змінювався ні у 45, ні у 90 днів порівняно з показниками 30- та 45-денних інтактних самців відповідно. На наш погляд, це свідчить про те, що за фізіологічних умов зміни гормонального фону, фізіологічні пренавантаження тощо, істотно не впливають на гомеостаз у небілковій ланці тіол-дисульфідної системи сироватки крові.

Дослідження вмісту тіолових сполук у сироватці крові 365-денних інтактних самців не виявило статистично достовірних змін вмісту білкових

SH- та SS-груп та їх співвідношення, але при цьому значно підвищилась кількість небілкових сульфгідрильних груп, яка складала 135,1% від показників 90-денних інтактних самців. Отже, звертає на себе увагу практично подібне, у відсотковому відношенні, збільшення вмісту у сироватці крові небілкових тіолових сполук. На наш погляд, показники небілкових тіолових груп сироватки крові відображають посилений катаболізм білків в органах та тканинах при старінні, що супроводжується виділенням до неї продуктів їх деградації - небілкових SH-груп.

З іншого боку, збільшення вмісту небілкових тіолів сироватки крові може бути показником виходу до неї з печінки SH-груп низькомолекулярної природи для підвищення їх пулу в інших органах та тканинах, як відмічалось вище. Відсутність змін вмісту високомолекулярних тіолів у сироватці крові може свідчити, як вже зазначалось, про здатність адаптаційних механізмів за фізіологічних умов підтримувати гомеостаз на певному рівні.

Не менш суттєві коливання рівня тіолових сполук відбувалися і у печінці та сироватці крові самок різного віку, які по своїх значеннях мали також істотні відмінності від аналогічних показників у самців (табл. 3.3).

Так, у 30-денних самок вміст білкових сульфгідрильних та дисульфідних груп не відрізнявся від таких у самців, але за рахунок існуючих незначних відхилень у самок було достовірно вищим співвідношення білкових SH- та SS-груп. Не відрізнялась у інтактних самок цього віку від самців і кількість небілкових SH-груп у тканинах печінки. Вміст SH-груп низькомолекулярного походження, білкових SH-та SS-груп і їх співвідношення, виявилися майже однаковим і у самців і у самок віком 45 днів. Лише при досягненні статевої зрілості нами були виявленні значні відмінності показників тіол-дисульфідної системи у самців та самок. Так, у тканинах печінки 90-денних інтактних самок вміст дисульфідних груп білкового походження перевищував такий у самців на 19,1%, що при відсутності різниці між концентрацією білкових SH-груп печінки у самців і самок цього віку призводило до зниження редокс-потенціалу тканин печінки самок на 20,4% порівняно з самцями. Слід

зауважити, що зміни редокс-потенціалу на відміну від самців у самок відбувалися за рахунок збільшення дисульфідних груп, що свідчило про можливе переважання за фізіологічних умов у тканинах печінки окислювальної модифікації білкових SH-груп до SS-груп. Поряд з означеними змінами у тканинах печінки самок містилося значно менше небілкових SH-груп порівняно з одновіковими самцями.

Таблиця 3.3

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці інтактних самок різного віку

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n=10$)

Вік тварин	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
30 днів	$6,2 \pm 0,1$ * ³	$1,13 \pm 0,04$ * ³	$5,55 \pm 0,13$	$0,5 \pm 0,01$ * ³
45 днів	$4,05 \pm 0,14$ * ⁴	$1,06 \pm 0,05$ * ^{1,4}	$3,92 \pm 0,24$ * ⁴	$0,19 \pm 0,02$ * ⁴
90 днів	$6,38 \pm 0,14$ * ^{1,5}	$1,31 \pm 0,03$	$4,89 \pm 0,16$	$0,31 \pm 0,02$
365 днів	$5,3 \pm 0,13$ * ⁶	$1,29 \pm 0,03$ * ²	$4,11 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,03$

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з 30-денними інтактними самками.
- *² $p > 0,05$ порівняно з 90-денними інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з 30-денними інтактними самцями.
- *⁴ $p > 0,05$ порівняно з 45-денними інтактними самцями.
- *⁵ $p > 0,05$ порівняно з 90-денними інтактними самцями.
- *⁶ $p > 0,05$ порівняно з 365-денними інтактними самцями.

Таким чином, при досягненні статевої зрілості, у тканинах печінки самців і самок були виявлені відмінності стану тіол-дисульфідної системи. Як

відомо [107], печінка диференційований за статтю орган і статеві диференціація має безпосереднє відношення до адаптивних процесів. Тобто, на наш погляд, різні значення показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему у самців і самок при досягненні ними статевої зрілості, лежить в основі статевозалежних особливостей функціонування механізмів неспецифічної резистентності і здатності пристосовуватися до умов оточуючого середовища, які постійно змінюються. Це припущення, у певній мірі, підтверджує майже повну відсутність відмінностей між вмістом тіолових сполук у самців і самок до їх статевого дозрівання, за винятком одного показника.

Нарешті, у самців і самок, по досягненні ними віку в один рік, зберігалися співвідношення показників тіол-дисульфідної системи у печінці майже на рівні 90-денних щурів. Так, при відсутності достовірної різниці концентрації сульфгідрильних груп білкового походження між 365-денними самцями і самками, у самок, стосовно самців, кількість білкових дисульфідних груп складала 119,4%, що викликало зниження редокс-потенціалу на 20%. Паралельно з цим, у печінці самок було виявлено на 35,3% менше небілкових сульфгідрильних груп порівняно з одновіковими самцями.

Отже, статеві відмінності тіол-дисульфідної системи тканин печінки зберігались у самців і самок щурів при старінні. Припущення про статеву особливість функціонування тіолзалежних процесів життєдіяльності самців і самок, на наш погляд, підтверджує і динаміка змін вмісту у тканинах печінки сіркомістких сполук в різні періоди життя. Так, по відношенню до 30-денних самок, у інтактних самок віком 45 діб кількість білкових SH-груп знижувалась на 34,7%, що при незмінній кількості білкових SH-груп призводило до зменшення співвідношення SH- до SS-груп на 29,4%. Паралельно з цим, різко знижувалась концентрація у тканинах печінки небілкових SH-груп і складала 38% порівняно з 30-денними інтактними самками. Отже, на початок статевого дозрівання, при майже повній відсутності різниці зазначених показників у

печінці самців і самок, у них виявлена і однакова динаміка змін цих показників у процесі онтогенезу.

Лише при досягненні статевої зрілості були виявлені значні відмінності показників тіол-дисульфідної системи у самців і самок. Так, на відміну від 90-денних самців, у самок спостерігалось зростання кількості білкових SS-груп, яка складала 15,9 і 23,6% порівнянно з самками віком 30 та 45 діб відповідно. Слід зазначити, що у самок, як і у самців, відбувалося збільшення у печінці вмісту білкових SH-груп, але не так значно: на 57,5% проти 78,7% у самців. Описані зміни приводили до зростання редокс-потенцілу у 90-денних самок порівнянно з 45-денними на 24,7%, що майже у чотири рази менше приросту редокс-потенціалу у самців за аналогічний період часу. І, на кінець, у самок віком 90 діб збільшувався вміст небілкових SH-груп у печінці на 63,2%, тоді як у самців майже у два рази більше.

Отже, зростання редокс-потенціалу у самок відбувалося за рахунок збільшення вмісту білкових SH-груп, але, на відміну від самців, паралельно спостерігалось збільшення дисульфідних груп. Останнє може свідчити про більш інтенсивне окислення білкових SH-груп до білкових SS-груп у реакціях тіол-дисульфідного обміну у статевозрілих самок, або за те, що у самок генетично детерміновано синтез білків, які містять більше дисульфідних зв'язків, отож можливо більш стійких до різноманітних денатуруючих впливів. Зважаючи на те, що дослідження проведені за фізіологічних умов, така конфігурація білків не заважає бути їм функціонально високоактивними.

Враховуючи вищенаведені факти, а також порівняно меншу амплітуду коливань вмісту тіолових сполук різної природи у самок ніж у самців у процесі онтогенезу, можна думати про більшу стійкість, принаймні до змін внутрішнього середовища, компонентів тіол-дисульфідної системи самок, що ймовірно пов'язане з необхідністю виносити та народити нащадків, отже необхідністю при цьому ефективно захищати від несприятливих факторів оточуючого середовища не тільки себе, а й майбутнє потомство.

Нарешті у 365-денних самок порівнянно з 90-денними вміст у тканинах печінки білкових сульфгідрильних груп зменшувався на 16,9%, що, поряд з відсутністю змін вмісту білкових дисульфідних груп, спричиняло зменшення редокс-потенціалу на 16%. Паралельно з цим вміст небілкових SH-груп у печінці збільшувався на 41,9%. Тобто, надалі, під час старіння напрямок змін показників тіол-дисульфідної системи був якісно та кількісно майже однаковий у самців і самок, що може бути пояснено єдиними загальними механізмами старіння організму, зниженням синтезу статевих гормонів і зменшенням впливу їх на функціонування статевозалежних функцій печінки.

Подібні зміни у віковому та статевому аспекті відбувалися у сироватці крові інтактних самок (табл. 3.4). У 30-денних самок вміст білкових SH-груп і SS-груп та небілкових SH-груп у сироватці крові майже не відрізнявся від показників одновікових самців. Лише співвідношення SH-груп до SS-груп у сироватці крові самок на 14% було нижчим. У 45-денних самців та самок відсутні відмінності у сироватці крові показників тіол-дисульфідної системи.

Тільки при досягненні статевої зрілості були виявлені статистично достовірні відмінності концентрації всіх показників у сироватці крові інтактних самців і самок. Наприклад, у 90-денних самок, порівняно з самцями, кількість білкових сульфгідрильних груп була нижчою на 20,9%, а білкових дисульфідних вищою на 64,1%, що призводило до зниження їх співвідношення на 51%. Паралельно з цим, сироватка крові 90-денних самців містила на 22,1% більше небілкових сульфгідрильних груп ніж у одновікових самок. Зазначені відмінності зберігалися на протязі більшої частини життя і у віці один рік майже дорівнювали показникам 90-денних самців і самок. Так, сироватка крові 365-денних інтактних самок містила на 23,5 і 24,3% менше відповідно білкових і небілкових SH-груп ніж сироватка крові самців цієї групи; на 57,5% більше дисульфідних груп. У наслідок цього, її редокс-потенціал був нижчий на 51,7%. Як видно з наведених результатів, відмінності тіол-дисульфідної системи сироватки крові між самцями та самками дуже схожі на такі у тканинах печінки.

Поява значних відмінностей у сироватці крові при досягненні самцями і самками зрілості ще раз підтверджує існування статевої диференціації структурно-функціональних властивостей тіол-дисульфідної системи.

Таблиця 3.4

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові
інтактних самок різного віку
($M \pm m$; мкмоль/л; n=10)

Вік тварин	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
30 днів	410 ± 18,69	130 ± 9,17	3,2 ± 0,15 * ⁴	19,2 ± 0,74
45 днів	411,11 ± 11,88	119,81 ± 6,23	3,55 ± 0,27	19,5 ± 1
90 днів	413,21 ± 15,26 * ⁵	215,6 ± 9,63 * ^{1, 2, 5}	1,97 ± 0,15 * ^{1, 2, 5}	15,93 ± 0,94 * ^{1, 2, 5}
365 днів	408,04 ± 11,15 * ⁶	210,01 ± 7,89 * ⁶	1,95 ± 0,03 * ⁶	20,91 ± 0,87 * ^{3, 6}

Примітки:

- *¹ p < 0,05 порівняно з 30-денними інтактними самками.
- *² p < 0,05 порівняно з 45-денними інтактними самками.
- *³ p < 0,05 порівняно з 90-денними інтактними самками.
- *⁴ p < 0,05 порівняно з 30-денними інтактними самцями.
- *⁵ p < 0,05 порівняно з 90-денними інтактними самцями.
- *⁶ p < 0,05 порівняно з 365-денними інтактними самцями.

Привертає до себе увагу динаміка змін показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему сироватки крові самок в онтогенезі. Так, як і у

сироватці крові самців, у 45-денних самок відсутні статистично достовірні відмінності від показників 30-денних самок. А от при досягненні статевої зрілості напрямом змін відрізнявся у самців і самок. Так, у сироватці крові 90-денних самок, порівняно з 45-денними, вміст білкових сульфгідрильних груп не змінювався, білкових дисульфідних різко підвищувався і складав 180% від показників сироватки крові самок попередньої вікової групи, це призводило до зменшення редокс-потенціалу на 49,5%. Одночасно з цим, вміст небілкових SH-групу сироватці крові складав 81,7% від показника 45-денних інтактних самок. Надалі динаміка змін тіол-дисульфідної системи однакова у самців і самок. Так у 365-денних самок не відбувалося статистично достовірних змін вмісту білкових SH- і SS-груп та їх співвідношення; лише виявлено зростання на 31,3% небілкових сульфгідрильних груп.

Проведені дослідження виявили вікові зміни і у морфологічній будові паренхіми печінки. Але, на відміну від тіол-дисульфідної системи, у морфофункціональних властивостях тканин печінки статевих відмінностей виявлено не було.

Так, у препаратах печінки інтактних самців віком 30 діб визначалися усі структурні компоненти печінкової часточки. Межі часточки визначалися по росташуванню порталних трактів. Синусоїдні капіляри та печінкові балки розташовані радіально по відношенню до центральної вени. Помітні ще відмінності між центральними та периферійними ділянками печінкової часточки. Гепатоцити звичайної форми. Цитоплазма забарвлена еозинофільно з базофільним віддтінком, дрібнозерниста. Ядра гепатоцитів округлої форми, містять 1-2 ядерця, поліморфізм практично відсутній (рис. А. 1). Порівняно з 14-денними самцями розміри гепатоцитів збільшилися, переважно за рахунок цитоплазми, візуально менше клітин, які знаходяться на різних стадіях клітинного поділу, але більше двоядерних гепатоцитів. При досягненні статевої зрілості тканини печінки відрізнялися порівняно більшими розмірами гепатоцитів, незначно вираженим поліморфізмом ядер за розмірами, візуально меншою кількістю мітозів, більшою кількістю двоядерних клітин, однаковою

балочною структурою центру та периферії печінкової часточки (рис. А. 2). Привертають увагу вікові зміни паренхіми печінки інтактних щурів віком один рік. Так, у препаратах печінки тварин зазначеної групи виявлена незначна інфільтрація перицентральної ділянки печінкової часточки круглоклітинним інфільтратом, дещо зменшений просвіт синусоїдних капілярів, поодинокі гепатоцити з ознаками дистрофічних змін, поліморфізм ядер за формою та розмірами (рис. А. 3).

Підсумовуючи всі вищенаведені факти можна з великим ступенем вірогідності говорити про наявність статевих відмінностей концентрації SH- та SS-груп високо- та низькомолекулярного походження у печінці та сироватці крові, у динаміці їх змін з віком. Це надає можливість для припущення про різні, у самців і самок, механізми функціонування тіолзалежних систем як за фізіологічних умов, так і при дії несприятливих факторів оточуючого середовища. З цих позицій у першу чергу привертає увагу тіолзалежна ланка антиоксидантної системи та інших систем, що забезпечують механізми неспецифічної резистентності організму. Нажаль у літературі ми не зустріли дослідження особливостей відповіді у самців та самок тіолзалежних адаптаційних систем на вплив несприятливих факторів оточуючого середовища, зокрема радіації. Тому нами було досліджено вплив фракціонованого тривалого γ -опромінення у низьких дозах на організм статевозрілих самців та самок щурів.

3.2. Вплив тривалого тотального γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр на стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів

Проведені дослідження виявили, що вплив тривалого γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр викликає неоднозначні по глибині і направленості зміни вмісту сульфгідрильних та дисульфідних груп у тканинах печінки та сироватці крові самців і самок щурів. Так, на 12-ту добу (табл. 3.5) по завершенні опромінення, концентрація білкових SH-груп у тканинах печінки

статевозрілих самців складала 78,7% відносно показників інтактних тварин, що супроводжувалося різким, на 122,8%, підвищенням рівня білкових SH-груп. Наведені зміни призводили до значного зсуву редокс-потенціалу тканин печінки у бік окислених продуктів.

Таблиця 3.5

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці статевозрілих самців та самок щурів після γ -опромінення у дозі 0,75 Гр.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Інтактні щурі	Самці	6,62 \pm 0,05	1,08 \pm 0,04	6,62 \pm 0,22	0,5 \pm 0,02
	Самки	6,39 \pm 0,14	1,31 \pm 0,04	4,89 \pm 0,16	0,31 \pm 0,01
Щурі опромінені у дозі 0,75 Гр	Самці	5,21 \pm 0,14	2,4 \pm 0,1	2,22 \pm 0,15	0,64 \pm 0,04
	Самки	4,94 \pm 0,13* ¹	1,75 \pm 0,08	2,9 \pm 0,18	0,59 \pm 0,05* ¹

Примітка. *¹ $p > 0,05$ порівняно з самцями, опроміненними у сумарній дозі 0,75 Гр.

Виходячи з загальновідомих механізмів, що ініціюються в організмі тварин та людини іонізуючими випромінюваннями, описані зрушення можна пояснити окисленням вільними радикалами білкових SH-груп до SS-груп. Слід зазначити, що ці зміни, з одного боку, можуть бути природною реакцією білкової частини тіолзалежних механізмів резистентності організму на дію несприятливих факторів оточуючого середовища. З іншого, свідчити про ушкодження білкових молекул, що не входять до зазначеної системи але містять активні SH-групи. Останнє вказує на можливість радіаційноіндукованого ураження різноманітних тіолзалежних механізмів

життєдіяльності організму. Нарешті, у статевозрілих самців тривале тотальне γ -опромінення викликало збільшення у тканинах печінки рівня небілкових сульфгідрильних груп на 28% порівняно з інтактними тваринами.

У самок тривале тотальне γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр, на 12-ту добу по завершенні, викликало зменшення вмісту білкових SH-груп у тканинах печінки на 22,7%. При цьому відбувалося зростання концентрації білкових SS-груп на 33,6%. Внаслідок цих змін редокс-потенціал білкових сполук тканин печінки складав 59,3% від його значення у інтактних тварин. Отже, іонізуюча радіація призводила до окислювальної модифікації білкових SH-груп до SS-груп. Тобто, по-перше, ємкість антирадикальних тіолзалежних буферних систем білкового походження зменшувалась. По-друге, збільшення вмісту порівняно міцніших дисульфідних зв'язків у молекулах білків призводить до зменшення мобільності останніх, і внаслідок цього функціональної активності. З цього приводу слід звернути увагу на виявлені відмінності у реагуванні тіол-дисульфідної системи самців і самок на тривале фракціоноване γ -опромінення. Якщо кількісно та за своєю направленістю зміни білкових SH-груп майже однакові і у самців і у самок опромінених у дозі 0,75 Гр, то у самців за цих умов кількість дисульфідних груп білкового походження зростає майже у чотири рази більше ніж у самок. Це призводить до того, що вміст білкових SS-груп у тканинах печінки самців на 27,1% вищий ніж у самок, внаслідок чого редокс-потенціал у самок на 30,6% вищий ніж у самців.

Дещо відрізнялися радіаційноіндуковані зміни небілкових SH-груп у самців і самок. Так, у тканинах печінки самок тривале γ -опромінення викликало збільшення вмісту небілкових сульфгідрильних груп на 90,3% відносно інтактних одновікових самок. У самців приріст небілкових SH-груп за означених умов був майже у три рази менший, за аналогічні показники самок.

Виходячи з того, що за умов опромінення у низьких дозах радіорезистентність корелює з високим рівнем небілкових сульфгідрильних груп, можна припустити більшу радіорезистентність тканин печінки самок порівняно з самцями. Цей факт підтверджується і меншими змінами показників, що характеризують білковий компонент тіол-дисульфідної системи самок.

Нарешті враховуючи те, що у печінці відбувається синтез небілкових тіолів для потреб інших органів та тканин, можна припустити більшу радіорезистентність самок по відношенню до самців взагалі.

У сироватці крові статевозрілих самців на дванадцятую добу після завершення опромінення були виявлені якісно майже ідентичні таким у печінці відхилення показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему, але вони дещо відрізнялися у кількісному відношенні (табл. 3.6).

Так, тривале тотальне γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр майже не впливало на вміст білкових SH-груп у сироватці крові самців, у той час як кількість білкових дисульфідних груп значно підвищувалась і складала 140,1% відносно інтактних одновікових самців. Наведені зрушення білкових SH-груп призводили до зсуву співвідношення білкових SH- та SS-груп у бік окислених продуктів. Паралельно з цим, опромінення викликало різке збільшення вмісту небілкових SH-груп у сироватці крові статевозрілих самців. Отже, порівняно з печінкою, у сироватці крові самців відбувалися більш глибокі зрушення низькомолекулярних тіолів і менш значні зрушення білкової ланки тіол-дисульфідної системи.

Радіаційноіндуковані зрушення тіол-дисульфідної системи сироватки крові статевозрілих самок носили дещо інший характер. Так, тривале γ -опромінення на 12-ту добу по завершенні своєї дії ініціювало кількісно майже однакове зростання вмісту білкових сульфгідрильних і дисульфідних груп у сироватці крові на 13,6 та 18% відповідно, порівняно з інтактними самками. Внаслідок цього не відбувалося статистично достовірної зміни рівня редокс-

потенціалу високомолекулярних тіолових сполук сироватки крові самок. Поруч з цими змінами більш як вдвічі зростала концентрація небілкових SH-груп у сироватці крові опромінених самок.

Таблиця 3.6

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів після γ -опромінення у дозі 0,75 Гр.

($M \pm m$; мкмоль/л; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Інтактні щурі	Самці	523,08 \pm 19,71	131,33 \pm 7,66	4,03 \pm 0,19	20,45 \pm 1,08
	Самки	414,5 \pm 15,1	215,4 \pm 10,1	1,98 \pm 0,15	15,91 \pm 1,08
Щурі опромінені у дозі 0,75 Гр	Самці	574,31 \pm 25,65 * ¹	184,01 \pm 9,63	3,14 \pm 0,23	48,81 \pm 5,07
	Самки	470,94 \pm 4,18	254,09 \pm 4,10	1,87 \pm 0,13 * ²	35,63 \pm 2,76

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з самцями, опроміненими у сумарній дозі 0,75 Гр.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.

Так як і у самців, у статевозрілих самок опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр у сироватці крові відбувалися більш значні зрушення небілкових тіолів і менш значні білкових. Це пояснюється безпосередньою участю низькомолекулярних тіолових сполук у формуванні радіорезистентності організму за умов впливу низьких доз іонізуючих випромінювань і формуванні

відповіді організму на радіаційноіндуковані зрушення. Зміни вмісту небілкових сполук у тканинах печінки і сироватці крові можуть свідчити про інтенсифікацію синтезу низькомолекулярних сполук у печінці і надходженням їх до сироватки крові, що відбувається при впливові на організм несприятливих факторів, у тому числі іонізуючих випромінювань. З іншого боку, певний внесок у збільшення вмісту низькомолекулярних тіолів у сироватці крові можуть вносити небілкові SH-групи, що утворилися внаслідок радіаційноіндукованих денатураційних змін білкових молекул. Менш суттєві зрушення білкової ланки тіол-дисульфідної системи пояснюються захисною дією небілкових SH-груп по відношенню до білкових, з одного боку, з іншого тим, що сульфгідрильні та дисульфідні групи входять до складу не тільки білків антиоксидантної системи.

Окрім описаних зрушень привертають до себе увагу відмінності радіаційноіндукованих змін вмісту тіолових сполук сироватки крові у самців і самок. Якщо зрушення білкових і небілкових сульфгідрильних груп у самців і самок виявлені майже однакові, то збільшення дисульфідних груп відбувалося у самців майже вдвічі більше ніж у самок, в результаті чого, редокс-потенціал білкових сполук сироватки крові самок не змінився в той час як у самців зменшився. Отже, наведені данні є свідченням більшої дестабілізації функціонального стану тіол-дисульфідної системи сироватки крові самців ніж самок.

Не виключено, що цим пояснюється більша, порівняно з самками, глибина радіаційноіндукованих ушкоджень паренхіми печінки виявлена у опромінених самців при морфологічному дослідженні. У паренхимі печінки самців, на 12-ту добу по завершенні опромінення, виявлені інфільтрація порталних трактів, судинних стінок, паренхіми печінки у парацентральных ділянках, менш захищених від вільнорадикального окислення; набряк паренхіми печінки, ознаки білкової дистрофії печінки (рис. А. 4). У паренхимі печінки опромінених самок вираженість наведених змін була дещо меншою.

3.3. Вплив тривалого тотального γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр на стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів

Проведені дослідження виявили суттєві зрушення вмісту тіолових сполук у тканинах печінки та сироватці крові статевозрілих щурів у відповідь на тотальне тривале γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр. На 12-ту добу після завершення дії радіаційного фактору вміст білкових дисульфідних груп у тканинах печінки практично не відрізнявся від показників інтактних тварин, у той час як кількість білкових SH-груп зменшилася на 16,8% (табл.3.7). Внаслідок цього коефіцієнт співвідношення білкових SH- та SS-груп тканин печінки самців знижувалося на 22,7% порівняно з показниками інтактних тварин. Паралельно з цим, на 18% зростав вміст низькомолекулярних SH-груп у тканинах печінки опромінених самців. Виявлені зміни, очевидно, обумовлені тим, що у молекулах білків виникають радіаційноіндуковані конформаційні зміни, які унеможливають взаємодію SS-груп з молекулою реагенту [40]. Слід зазначити, що такі глибокі конформаційні зміни білкових молекул призводять до зниження їх специфічної функціональної активності і, навіть, повної її втрати.

Інакше реагували на дію тривалого тотального γ -опромінення самки. Так, опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр викликало різке зростання вмісту білкових дисульфідних груп у тканинах печінки, який складав 185,5% відносно інтактних самок. При цьому вміст білкових SH-груп знижувався лише на 12,7% порівняно з показниками неопромінених самок. Зазначені зміни співвідношення між білковими сульфгідрильними і дисульфідними групами викликали зменшення редокс-потенціалу білків тканин печінки на 53%, порівняно з одновіковими здоровими самками. Поруч з цими змінами кількість небілкових сульфгідрильних груп у тканинах печінки зростала на 32,3% порівняно з одновіковими самками.

Таблиця 3.7

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці статевозрілих самців та самок щурів після γ -опромінення у дозі 1,0 Гр.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Інтактні щурі	Самці	$6,62 \pm 0,05$	$1,08 \pm 0,04$	$6,62 \pm 0,22$	$0,5 \pm 0,02$
	Самки	$6,39 \pm 0,14$	$1,31 \pm 0,04$	$4,89 \pm 0,16$	$0,31 \pm 0,01$
Щурі опромінені у дозі 1,0 Гр	Самці	$5,51 \pm 0,13^{*2}$	$1,15 \pm 0,04^{*1}$	$4,81 \pm 0,15$	$0,59 \pm 0,03^{*2}$
	Самки	$5,58 \pm 0,15^{*3}$	$2,43 \pm 0,07$	$2,3 \pm 0,04$	$0,41 \pm 0,03$

Примітки:

1. $*^1 p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
2. $*^2 p > 0,05$ порівняно з самцями, опроміненими у сумарній дозі 0,75 Гр.
3. $*^3 p > 0,05$ порівняно з самцями, опроміненими у сумарній дозі 1,0 Гр.

Отже, зміни білкових сульфгідрильних груп тканин печінки у відповідь на тривале опромінення у самців і самок виявилися майже однаковими, у той час як зрушення білкових дисульфідних груп значно відрізнялися у самців і самок. Характер виявлених змін надає можливість припустити, що у радіаційноуражених самок активність високомолекулярної тіолзалежної ланки антиоксидантної системи є вищою ніж у самців. У цьому плані інформативними також є і відмінності показників тіол-дисульфідної системи тканин печінки виявлені у опромінених у сумарній дозі 0,75 та 1,0 Гр щурів.

Так, вміст сульфгідрильних груп білкового походження у тканинах печінки самців, опроміненних у дозі 1,0 Гр, майже не зазнав змін порівняно з самцями опроміненними у дозі 0,75 Гр. Кількість білкових SS-груп зменшилась на 52,1%, внаслідок чого редокс-потенціал виріс на 116,7%.

У той же час, у самок зміни деяких з цих показників мали протилежний напрямок. Так, у самок, опроміненних у дозі 1,0 Гр, порівняно з самками, опроміненними у сумарній дозі 0,75 Гр, вміст білкових SH-груп виріс на 13%, вміст білкових SS-груп на 38,9%, що призвело до зниження редокс-потенціалу на 20,7%. Отже, встановлені відмінності змін тіол-дисульфідної системи свідчать про більш інтенсивний перебіг реакцій тіол-дисульфідного обміну у самок, опроміненних у дозі 1,0 Гр, порівняно з самцями. Слід звернути увагу і на різницю у кількості небілкових SH-груп тканин печінки самців і самок, опроміненних у дозі 1,0 Гр, відносно аналогічних показників тварин, які отримали сумарну дозу опромінення 0,75 Гр.

Так, концентрація низькомолекулярних SH-груп у тканинах печінки самок на 12-ту добу після завершення опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр була нижчою на 30,5%, ніж у самок, опроміненних у дозі 0,75 Гр. У самців аналогічних груп не виявлені статистично достовірні відмінності цих показників, але тенденція до зменшення вмісту у печінці тварин, опроміненних у дозі 1,0 Гр, небілкових SH-груп добре простежувалась. Виходячи з того, що вміст небілкових SH-груп, за умов тривалого опромінення, корелює з радіорезистентністю, означені зміни є однією з ознак помітного виснаження небілкової тіолзалежної ланки антиоксидантної системи. Враховуючи той факт, що вміст небілкових сульфгідрильних груп порівняно з контролем виріс у самок майже вдвічі більше, ніж у самців, можна припустити більшу радіорезистентність самок до тривалого низькодозового опромінення, ніж самців. На користь цієї думки свідчить більша інтенсивність реакцій тіол-дисульфідного обміну у білках тканин печінки самок при опроміненні у дозі 1,0 Гр.

На користь більш високої радіорезистентності самок порівняно з самцями може свідчити і характер процесів що відбувалися у тіол-дисульфідній системі сироватки крові самців і самок за умов тривалого опромінення у дозі 1,0 Гр (табл. 3.8). Так, концентрація білкових сульфгідрильних груп у сироватці крові самців, опромінених у дозі 1,0 Гр, була на 27,1% нижча за показники контрольних тварин, а дисульфідних груп мала тенденцію до зростання. Внаслідок цих змін у сироватці крові означеної групи тварин редокс-потенціал білкових тіолових сполук знижувався на 35,7%. Виходячи з того, що за допомогою крові відбувається транспорт продуктів метаболічних перетворень, у даному випадку сироватка крові може відображувати загальний стан тіол-дисульфідної системи всіх органів та тканин. Отже, зниження редокс-потенціалу сироватки крові може свідчити про загальне поступове виснаження тіолзалежних механізмів антиоксидантної системи.

Поряд з цим у самок не були виявлені достовірні відхилення редокс-потенціалу сироватки крові від показників інтактних тварин. Однак, у сироватці крові самок опромінених у дозі 1,0 Гр відбувалися певні зміни тіол-дисульфідної системи. Так, на 18,2% зростала кількість білкових дисульфідних груп порівняно з інтактними самками. Поруч з цим зростав на 22,8% і вміст білкових SH-груп. Це свідчило про окислення сульфгідрильних груп білкового походження до дисульфідних з одного боку, з іншого про ефективне поповнення пулу білкових SH-груп у сироватці крові, отже і в інших тканинах.

Паралельно змінам білкової ланки тіол-дисульфідної системи змінювався у сироватці крові дослідних тварин і вміст SH-груп низькомолекулярних тіолових сполук. Слід зазначити, що і у самців і у самок на 12 добу по завершенні опромінення було виявлено практично однакове збільшення рівня небілкових SH-груп на 84,4 і 85% відповідно по відношенню до інтактних тварин. Але, як видно із змін показників сіркомістких функціональних груп білків, підвищення рівня небілкових SH-груп не сприяло підтриманню належного рівня білкових SH-груп. Тобто низькомолекулярна

тіолзалежна ланка неспецифічної резистентності самців за умов тривалого γ -опромінення у дозі 1,0 Гр функціонує менш ефективно ніж у самок.

Таблиця 3.8

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові статевозрілих самців та самок щурів після тотального γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр.

($M \pm m$; мкмоль/л; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Інтактні щурі	Самці	523,08 \pm 19,71	131,33 \pm 7,66	4,03 \pm 0,19	20,45 \pm 1,08
	Самки	414,5 \pm 15,1	215,4 \pm 10,1	1,98 \pm 0,15	15,91 \pm 1,08
Щурі опромінені у дозі 1,0 Гр	Самці	381,47 \pm 10,7	149,96 \pm 7,1 * ¹	2,59 \pm 0,12	37,72 \pm 2,14
	Самки	509,09 \pm 8,79	254,55 \pm 6,72 * ³	2,01 \pm 0,06 * ^{2,3}	29,43 \pm 1,13

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самками, опроміненими у сумарній дозі 0,75 Гр.

Останнє припущення підтверджується при порівнянні зрушень показників тіолдисульфідної системи у радіаційноуражених самців і самок. Так, на 12-ту добу по завершенні опромінення, між самцями і самками зберігалась майже така сама різниця у концентрації дисульфідних груп та небілкових SH-груп, як між інтактними самцями і самками - у 69,7 та 22% відповідно. Але, при цьому, вміст білкових SH-груп у опромінених самок на

33,5% вищій ніж у самців, у той час як у інтактних самок він менший на 20,8% порівняно з самцями. До того ж редокс-потенціал сироватки крові опромінених самок на 22,4% нижчий ніж у самців, що майже вдвічі менше ніж у інтактних самок порівняно з інтактними самцями.

Слід розглянути і особливості реагування тіол-дисульфідної системи сироватки крові самців і самок на опромінення у дозі 1,0 Гр порівняно з опроміненням у дозі 0,75 Гр.

Так, у опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр самців на 12-ту добу по завершенні дії радіаційного фактору порівняно з самцями опроміненими у дозі 0,75 Гр вміст небілкових і білкових SH-груп зменшився на 22,7 і 33,6% відповідно. Відбувалося і зменшення концентрації білкових дисульфідних груп на 18,5%. Ці зрушення призводили до зменшення редокс-потенціалу на 17,5%. На нашу думку ці факти свідчать про помітне виснаження тіолових небілкових та білкових антиоксидантів, значні конформаційні зрушення білкових молекул сироватки крові самців.

На відміну від самців, у самок збільшення тривалості опромінення та сумарної дози не призводило до такої дестабілізації тіол-дисульфідної системи. Так, порівняно з самками, опроміненими у дозі 0,75 Гр, у самок що зазнали більш тривалого впливу іонізуючої радіації у сумарній дозі 1,0 Гр було виявлено зростання вмісту білкових SH-груп на 8,1%, при цьому концентрація дисульфідних груп практично не змінювалась, а редокс-потенціал мав лише тенденцію до збільшення. Різниця між співвідношенням SH-груп до SS-груп у самок, опромінених у різних дозах, не була статистично достовірною. Поруч з цими змінами у самок, опромінених у дозі 1,0 Гр, вміст небілкових SH-груп знижувався на 17,4%. Таким чином, хоча і відбувалося виснаження тіолзалежних механізмів систем неспецифічної резистентності та специфічної радіорезистентності сироватки крові, не виникала така дестабілізація білкової ланки тіол-дисульфідної системи як у самців.

Підсумовуючи вищенаведені факти, можна припустити більшу радіорезистентність самок, ніж самців, до тривалого впливу γ -опромінення. Проведені дослідження дозволили виявити деякі відмінності реагування тіол-дисульфідної системи самців і самок на тривале γ -опромінення.

Добре узгоджуються з вищенаведеними фактами радіаційноіндуковані зміни морфологічної структури печінки. Так, опромінення у дозі 1,0 Гр викликало більш суттєві порушення структурної організації печінкової часточки статевозрілих щурів порівняно з тваринами, опроміненими у дозі 0,75 Гр. Так, у них значно більше виражена дисконкомплексація печінкових балок, особливо на периферії часточки, зустрічаються ділянки дистрофічно та деструктивно змінених гепатоцитів, зустрічалися гепатоцити з вакуолізованою цитоплазмою (рис. А. 5). Слід підкреслити, що порівняно з самцями, у самок були відсутні вакуолізовані гепатоцити, менш виражені дистрофічні і деструктивні зміни гепатоцитів. Хоча глибина порушень виявилася більшою ніж у самок опромінених у дозі 0,75 Гр.

Отримані результати досліджень показують, що тривале фракціоноване γ -опромінення у низьких дозах, на 12-ту добу по завершенні своєї дії, викликає суттєві зрушення у тіол-дисульфідній системі компоненти якої, окрім іншого, відповідають за резистентність організму до дії несприятливих факторів оточуючого середовища. Причому, виявлені зміни торкаються не лише тканини печінки, а й усього організму у цілому. Привертає увагу те, що тотальне фракціоноване γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр викликає більш суттєві зрушення, ніж опромінення у дозі 0,75 Гр. Слід зазначити, що резистентність тканин печінки самок до впливу іонізуючого випромінювання у зазначених дозах вища, ніж у самців.

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ВИВОДКУ, ОТРИМАНОВОГО ВІД РАДІАЦІЙНОУРАЖЕНИХ САМЦІВ ТА САМОК

Проведені дослідження тіол-дисульфідної системи за умов дії радіаційного фактору виявили суттєві зрушення її показників у самців і самок щурів (розділ 3). Причому ці зрушення зберігалися й після завершення дії іонізуючого фактору. Тобто, початкові етапи онтогенезу першого покоління опромінених тварин будуть протікати за умов, що відрізняються від фізіологічних. Але на сьогодні мало що відомо про особливості функціонування тіолзалежних адаптаційних механізмів у нащадків самців і самок які підлягали тривалій дії іонізуючих опромінь у низьких дозах. У зв'язку з вищенаведеним, нами проведені дослідження стану тіол-дисульфідної системи на різних етапах онтогенезу виводку отриманого від γ -опромінених самців і самок.

4.1. Особливості стану тіол-дисульфідної системи у пізньому ембріогенезі та ранньому постнатальному періоді у печінці та сироватці крові виводку, отриманого від інтактних щурів

У результаті проведених досліджень (табл. 4.1) було встановлено, що за фізіологічних умов кількість білкових сульфгідрильних груп у тканинах печінки дводенних щурят мала незначну тенденцію до зниження відносно показників 18-денних зародків.

Однак, виявлені відмінності не були статистично достовірні. Паралельно з цим, вміст білкових дисульфідних груп у тканинах печінки дводенних щурят був значно нижчим і складав 76,7% відносно зародків інтактних тварин. Означені зміни призводили до зміщення на 26,9% співвідношення білкових

сульфгідрильних груп до дисульфідних у бік відновлених продуктів. Отже, характер виявлених змін вмісту тіолових сполук у тканинах печінки щурят, у перші дні після народження, може свідчити на користь активації адаптаційних механізмів. Тенденція до зниження вмісту білкових SH-груп вказує на їх використання у ході пристосування до якісно нових умов оточуючого середовища. Різке зниження вмісту дисульфідних груп може бути одним з механізмів поповнення кількості сульфгідрильних груп за рахунок розриву дисульфідних зв'язків у реакціях тіол-дисульфідного обміну. Підтримання вмісту сульфгідрильних груп білкового походження у тканинах печінки дводенних щурят на незмінному рівні у перші дні після народження свідчить про достатню функціональну спроможність білкової ланки тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності.

Таблиця 4.1

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці зародків та дводенних щурят, отриманих від інтактних тварин
($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
18-денні зародки	$9,61 \pm 0,24$	$2,58 \pm 0,09$	$3,75 \pm 0,12$	$0,64 \pm 0,03$
2-денні щурята	$9,38 \pm 0,24$ * ¹	$1,98 \pm 0,05$	$4,76 \pm 0,14$	$0,59 \pm 0,02$ * ¹

Примітка. *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними зародками.

Те саме можна сказати і про небілкову ланку, виходячи з відсутності статистично достовірних змін вмісту у тканинах печінки дводенних щурят небілкових SH-груп порівняно з 18-денними зародками. Хоча, була виявлена незначна тенденція до їх зниження.

Показники, що характеризують тіол-дисульфідну систему тканин печінки 14-денних щурів зберігались майже на такому рівні як і у дводенних.

Але, були виявлені незначні розбіжності у самок порівняно з самцями (табл. 4.2). Так, у тканинах печінки самок виявлена незначна тенденція до зменшення вмісту білкових SH-груп і збільшення концентрації SS-груп, що у сумі призводило до зсуву співвідношення SH-груп до SS-груп у бік окислених форм на 7,5%. Отже, вже у 14-денних самок з'являються статеві відмінності тіол-дисульфідної системи характерні для самок більш пізнього віку (розділ 3). Слід зазначити, що зрушення білкової ланки тіол-дисульфідної системи печінки 14-денних самок не супроводжувалися достовірними змінами небілкової.

Таблиця 4.2

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці та сироватці крові 14-денних інтактних самців і самок

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки, мкмоль/л сироватки крові; n = 10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Самці	Печінка	9,09 ± 0,13	1,76 ± 0,06	5,21 ± 0,12	0,56 ± 0,03
	Сироватка крові	390,48 ± 18,31	147,62 ± 4,6	2,67 ± 0,15	---
Самки	Печінка	8,94 ± 0,17 * ¹	1,87 ± 0,04 * ¹	4,82 ± 0,16	0,52 ± 0,03 * ¹
	Сироватка крові	433,33 ± 19,32 * ¹	130 ± 5,46	3,36 ± 0,16	---

Примітка. *¹ p > 0,05 порівняно з інтактними самцями.

Більш суттєві статеві відмінності виявлені у сироватці крові 14-денних інтактних щурів. Так, вміст білкових дисульфідних груп у сироватці крові

двотижневих самок складав 88,1% від їх рівня у самців. У сукупності з тенденцією до збільшення рівня білкових SH-груп у сироватці крові самок, це призводило до зростання співвідношення SH-груп до SS-груп на 25,8% порівняно з самцями. Отже, у сироватці крові самок рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну зміщена у бік відновлених продуктів. У свою чергу, це може свідчити про потенційно більшу потужність систем неспецифічної резистентності самок порівняно з 14-денними самцями. Вищеописані відмінності функціонування тіол-дисульфідної системи у самців і самок можливо пояснюються впливом на організм щурят статевих гормонів, що вони отримували від матері і існуванням рецепторів до цих гормонів у щурят жіночої статі.

Не менш суттєві вікові зміни тканин печінки виявлені за допомогою морфологічних методів дослідження. Так, тканина печінки 18-денних інтактних зародків (рис. А. б) не має часточкової будови, тріади не ідентифікуються, синусоїдні капіляри не мають радіального напрямку, печінкові пластинки не сформовані, у паренхімі печінки переважають судини. У полі зору багато екстравазальних осередків кровотворення, що містять клітини крові, які знаходяться на різних стадіях диференціювання. У просвіті синусоїдних капілярів і центральних вен знаходяться клітини крові. Гепатоцити розташовані групами між синусоїдними капілярами, полігональної форми. Ядра округлої чи овальної форми, поліморфізм за розмірами виражений незначно, забарвлені базофільно, світлі, містять по 1-2 ядерця, розташованих парацентрально. Гетерохроматин у незначній кількості, дрібнодисперсний, сконцентрований в основному під кариолемою. Цитоплазма однорідна, забарвлена еозинофільно з вираженим базофільним відтінком. У препаратах зустрічаються клітини крові і гепатоцити, що знаходяться на різних стадіях мітозу. Жовчні капіляри не ідентифікуються.

На відміну від зародків, у препаратах печінки інтактних дводенних щурят ідентифікуються печінкові тріади, зустрічаються ділянки паренхіми з радіальним напрямком синусоїдних капілярів і печінкових балок між ними,

хоча печінка ще не має чітко вираженої часточкової будови. Клітинні елементи тканин печінки переважають над судинами. У порівнянні з зародками розміри гепатоцитів збільшилися, переважно за рахунок цитоплазми, межі гепатоцитів добре контуруються. Цитоплазма забарвлена еозинофільно з базофільним відтінком, дрібнозерниста. Ядра округлої форми, поліморфізм не виражений, містять 1-3 ядерця. Дрібнодисперсний хроматин розташований під кареоломою та дифузно у каріоплазмі. У полі зору зустрічаються поодинокі екстравазальні осередки кровотворення.

У препаратах печінки інтактних 14-денних самців визначалися усі структурні компоненти печінкової часточки. Міжчасточкова сполучна тканина розвинута слабо, межі часточки визначаються по розташуванню порталних трактів. Синусоїдні капіляри та печінкові балки розташовані радіально по відношенню до центральної вени. Відмінності між центральними та периферійними ділянками печінкової часточки малопомітні. Гепатоцити більші за розмірами ніж у дводенних щурят. Зустрічаються гепатоцити, що знаходяться на різних стадіях клітинного поділу; поодинокі з великими ядрами.

Структура тканини печінки 14-денних інтактних самок не відрізнялася від такої у інтактних самців.

Таким чином, після народження, морфологічна структура печінки поступово змінюється, причому характер виявлених змін, в основному, співпадає з описаними в літературі віковими фізіологічними змінами тканин печінки. На відміну від показників тіол-дисульфідної системи, не виявлено статевих відмінностей морфологічної структури печінки у двотижневих самців і самок.

Таким чином, у результаті проведених досліджень виявлені статеві відмінності у функціонуванні механізмів адаптації щурят до нових умов оточуючого середовища у ранньому постнатальному періоді. Отже, не виключена можливість якісно іншого характеру реагування тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності самців і самок, отриманих від

опромінених попередників, на фізіологічні подразники. Тому, нами були досліджені зміни тіол-дисульфідної системи на різних етапах розвитку самців і самок щурів, отриманих від попередників, що підлягали впливові тривалого тотального γ -опромінення у низьких дозах.

4.2. Стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові на різних етапах розвитку виводку, отриманого від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр

Проведені дослідження виявили, що тривале тотальне γ -опромінення самців та самок щурів у сумарній дозі 0,75 Гр перед спарюванням призводило до зрушень у тіол-дисульфідній системі тканин печінки їх нащадків, які мали досить істотні відмінності у залежності від віку. Так, у тканинах печінки 18-денних зародків, отриманих від опромінених попередників, вміст білкових SH-груп знижувався на 26,6% порівняно із зародками здорових тварин (табл. 4.3). У той час як кількість білкових SS-груп дорівнювала 79,5%, стосовно останніх. Незважаючи на ці зміни, коефіцієнт співвідношення білкових сульфгідрильних до дисульфідних груп у тканинах печінки, порівняно з інтактними зародками, не змінився. Поруч з цим, у тканинах печінки зародків, отриманих від опромінених щурів, на 48,4%, підвищувався вміст небілкових SH-груп.

Як показали попередні дослідження (розділ 3.1., 3.2.), радіаційноіндуковані зрушення у тіол-дисульфідній системі зберігалися на протязі певного часу після завершення дії γ -опромінення. Тобто, процеси запліднення, розвитку зародку проходили не за фізіологічних умов і це відбивалося на стані тіол-дисульфідної системи 18-денних зародків, отриманих від щурів, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

Привертає до себе увагу і те, що γ -опромінення викликало різке підвищення рівня небілкових SH-груп у статевозрілих самок (у декілька разів більше ніж у самців за аналогічних умов). Можливо, це генетично детерміновані особливості механізму активації системи неспецифічної

резистентності у самок, пов'язані з необхідністю захистити, у разі вагітності, плід від дії несприятливих факторів оточуючого середовища. Цим може бути пояснене значне зростання у тканинах печінки зародків кількості небілкових сульфгідрильних груп. Відсутність статистично достовірних зрушень редокс-потенціалу 18-денних зародків теж може бути свідченням захисної дії систем неспецифічної резистентності самок. З іншого боку, зрушення вмісту білкових SH-груп та SS-груп у тканинах печінки безпосередньо зародків є очевидно свідченням активації їх тіол-дисульфідної системи.

Таблиця 4.3

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці зародків та дводенних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	18-денні зародки	$9,61 \pm 0,24$	$2,58 \pm 0,09$	$3,75 \pm 0,12$	$0,64 \pm 0,03$
	2-денні щурята	$9,38 \pm 0,24$ * ¹	$1,98 \pm 0,05$	$4,76 \pm 0,14$	$0,59 \pm 0,02$ * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	18-денні зародки	$7,06 \pm 0,08$	$2,05 \pm 0,05$	$3,46 \pm 0,09$ * ¹	$0,95 \pm 0,02$
	2-денні щурята	$8,24 \pm 0,15$	$2,81 \pm 0,09$	$2,97 \pm 0,14$	$0,74 \pm 0,02$

Примітка. *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними зародками.

Проведені дослідження виявили певні відмінності характеру реагування на нові умови оточуючого середовища тіол-дисульфідної системи щурят перших діб життя, отриманих від опромінених попередників. Так, порівняно з 18-денними зародками у дводенних щурят вміст білкових SS-груп

підвищувався на 37,7%. Це може бути свідченням інтенсивного перебігу реакцій тіол-дисульфідного обміну. Причому, рівновага у них зсунута у бік окислених продуктів. Паралельно підвищився і вміст білкових SH-груп на 16,7% порівняно з зародками. Але, за рахунок більш виразних зрушень вмісту білкових дисульфідних груп, редокс-потенціал тканин печінки знижувався на 14,2%. Таким чином, у процесі адаптації до умов зовнішнього середовища, відмічалось виснаження функціональних резервів білкової ланки тіол-дисульфідної системи. Підтримання ж рівня функціональноактивних білкових SH-груп, на нашу думку, очевидно, відбувалося за рахунок небілкових SH-груп у протилежність інтактним тваринам. Свідченням цього є зниження вмісту у тканинах печінки низькомолекулярних сульфгідрильних груп на 22,1% порівняно з 18-денними зародками.

У свою чергу, виявлено суттєві відмінності показників вмісту тіолових сполук тканин печінки у дводенних щурят, отриманих від опромінених самців і самок, порівняно з такими у інтактних одновікових тварин. Так, порівняно з інтактними одновіковими щурятами, у них тканини печінки містили на 12,2% менше білкових сульфгідрильних груп і на 41,9% більше білкових дисульфідних груп. Описані зрушення викликали зниження редокс-потенціалу тканин печінки на 37,6%.

Наведені дані свідчать про дестабілізацію білкової ланки тіол-дисульфідної системи. Отже, у тканинах печінки дводенних нащадків опромінених щурів, на відміну від інтактних тварин, рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну зсунута у бік утворення окислених продуктів. Причому зменшення редокс-потенціалу відбувалося переважно за рахунок утворення дисульфідних груп. У сукупності з менш значним зниженням концентрації білкових SH-груп це свідчить про інтенсивне використання білкових SH-груп - по-перше. По-друге, про поповнення їх пулу у тканинах печінки за рахунок небілкових SH-груп, а не за рахунок відновлення дисульфідних. На користь останнього припущення свідчить зростання на 25,4% концентрації небілкових сульфгідрильних груп у тканинах печінки нащадків опромінених щурів,

порівняно з інтактними тваринами. Тому, підвищення рівня небілкових сульфгідрильних груп є свідченням активації тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності при пристосуванні новонароджених щурят до нових умов зовнішнього середовища.

Поруч з функціональними зрушеннями були виявлені і структурні відмінності тканин печінки 18-денних зародків (рис. А. б) та дводенних щурят, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр тварин. Так, на відміну від інтактних зародків, у однострокових ембріонів опромінених тварин виявлено більш виразний поліморфізм ядер гепатоцитів за формою; зустрічалися дрібні ядра, з конденсованим дрібнодисперсним хроматином. Базофілія цитоплазми була виражена у меншому ступені. Виявленні відмінності зберігались і у дводенних щурят нащадків опромінених тварин порівняно з контролем. Таким чином, морфологічні відмінності інтактних тварин і щурів, отриманих від опромінених самців і самок, свідчать про зниження інтенсивності синтетичних процесів у гепатоцитах останніх. Це може бути пояснено зменшенням вмісту у тканинах печінки білкових SH-груп, отже, зниженням функціональної активності тіолових ферментів.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок у сумарній дозі 0,75 Гр до спарювання, викликає істотні морфофункціональні зрушення у печінці їх нащадків. У свою чергу, це може обумовлювати меншу ефективність функціонування систем неспецифічної резистентності і обмеженість адаптації новонароджених щурят до нових умов існування.

Відмінності показників тіол-дисульфідної системи від контрольних у нащадків щурів, отриманих від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр, зберігались і на послідуочих етапах онтогенезу.

Так, у тканинах печінки 14-денних самців - нащадків опромінених щурів (табл. 4.4), порівняно з інтактними одновіковими одностатевими щурятами, вміст білкових дисульфідних груп був вищий на 50%. Відсутність змін концентрації білкових SH-груп, при цьому, призводила до зменшення

коефіцієнту співвідношення білкових SH-груп до SS-груп на 34,5%. Ріст рівня білкових дисульфідних груп вказує на інтенсивне використання у метаболічних процесах білкових сульфгідрильних груп і зміщення рівноваги у реакціях тіол-дисульфідного обміну у бік окислених продуктів. Відсутність коливань рівня білкових SH-груп може свідчити про підтримання необхідного їх рівня внаслідок синтезу білкових молекул, що містять ці групи, або за рахунок небілкових сульфгідрильних груп.

Таблиця 4.4

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 14-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	14-денні самці	9,09 ± 0,13	1,76 ± 0,06	5,21 ± 0,12	0,56 ± 0,03
	14-денні самки	8,94 ± 0,17 * ¹	1,87 ± 0,04 * ¹	4,82 ± 0,16	0,52 ± 0,03 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	14-денні самці	8,98 ± 0,21 * ¹	2,64 ± 0,05	3,41 ± 0,09	1,02 ± 0,03
	14-денні самки	8,34 ± 0,17	2,41 ± 0,08	3,48 ± 0,09 * ²	1,05 ± 0,04 * ²

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Таким чином, під час інтенсивного росту щурят, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр самців і самок, тілзалежні ланки метаболізму

різноманітних речовин, систем неспецифічної резистентності організму, функціонують по крайній мірі в умовах, що відрізняються від фізіологічних. З цього приводу у тварин зазначеної групи очевидно не виключена можливість меншої спроможності пристосування до різноманітних змін внутрішнього та зовнішнього середовища. Паралельно з описаними зрушеннями, на 82,1% зростала концентрація небілкових сульфгідрильних груп, що свідчить на користь активації тіолзалежних систем неспецифічної резистентності у 14-денних самців під час інтенсивного розвитку і росту їх організму. Таким чином, організм щурят самців намагається компенсувати знижену функціональну активність та буферну ємність (значне зменшення редокс-потенціалу) білкової ланки тіол-дисульфідної системи.

Відрізнялися і зрушення у тіол-дисульфідній системі печінки 14-денних самок цієї ж експериментальної групи від таких у самців. Так, по відношенню до інтактних одновікових самок, у них спостерігалось зменшення рівня білкових SH-груп на 6,7% і підвищення вмісту білкових SS-груп на 28,9%. Внаслідок цього, редокс-потенціал білкових молекул тканин печінки самок складав 72,2% від значення такого інтактних самок. Отже, на відміну від самців, у 14-денних самок більш інтенсивно використовувалися у процесах життєдіяльності білкові SH-групи. Підтвердженням цього може бути зменшення рівня білкових сульфгідрильних груп у самок порівняно з самцями. Однак, тканини печінки 14-денних самок містили менше дисульфідних груп ніж одновікові самці - нащадки опромінених тварин. Таким чином, зменшення редокс-потенціалу у самок на 27,8%, порівняно з інтактними щурятами, відбувалося як за рахунок зменшення кількості сульфгідрильних, так і збільшення дисульфідних груп. До того ж, у отриманих від опромінених щурів самок, порівняно з інтактними тваринами, збільшення концентрації білкових дисульфідних груп було майже вдвічі меншим ніж у самців відповідних груп. Тут слід пригадати (розділ 4.1), що за фізіологічних умов білкові молекули тканин печінки інтактних 14-денних самок, порівняно з самцями, мали менший редокс-потенціал, в основному, завдяки тенденції до переважання

кількості дисульфідних груп. У сукупності наведені факти можуть свідчити про порівняно більшу стабільність тіол-дисульфідної системи самок, ніж у самців, отриманих від опромінених попередників.

Вміст у тканинах печінки 14-денних щурят - нащадків опромінених самців і самок, небілкових SH-груп відрізнявся від показників інтактних тварин. Так, тканини печінки самців містили на 82,1%, а самок на 101,9% більше небілкових сульфгідрильних груп, що свідчить про активацію тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності. При цьому, статистично достовірної різниці між рівнем небілкових SH-груп у печінці самців і самок виявлено не було. Але, враховуючи більший темп приросту небілкових SH-груп по відношенню до інтактних щурів, у самок можна припустити більшу активність небілкової ланки тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності, ніж у самців. Таким чином, у самок даної експериментальної групи і білкова і небілкова ланки тіол-дисульфідної системи більш функціонально активні ніж у самців. Слід зазначити, що статеві розбіжності стану тіол-дисульфідної системи у нащадків опромінених тварин виражені краще, ніж у одновікових інтактних самців і самок.

Не менш суттєві зрушення показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему виявлені і у сироватці крові 14-денних самців і самок отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів (табл. 4.5). Так, сироватка крові самців означеної групи містила на 15,9% більше білкових SH-груп, ніж сироватка крові одновікових інтактних самців. При цьому, концентрація дисульфідних груп мала виражену тенденцію до збільшення. Однак, приведені зміни рівня SH- та SS-груп не викликали статистично достовірних змін значення редокс-потенціалу.

На відміну від самців, жоден з показників тіол-дисульфідної системи сироватки крові самок не відрізнявся від значень інтактних одностатевих 14-денних щурят. У результаті цього, співвідношення показників тіол-дисульфідної системи між самцями і самками зберігалися майже на рівні інтактних тварин. А саме, сироватка крові 14-денних самок, отриманих від

опромінених попередників, містила: стільки ж білкових SH-груп як і самці; на 15% менше дисульфідних груп - внаслідок чого у самок редокс-потенціал був вищий на 16,1%.

Таблиця 4.5

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 14-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/л; n = 10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS-коefficient
Нащадки інтактних щурів	14-денні самці	390,48 ± 18,31	147,62 ± 4,6	2,67 ± 0,15
	14-денні самки	433,33 ± 19,32 * ¹	130 ± 5,46	3,36 ± 0,16
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	14-денні самці	452,71 ± 10,43	164,87 ± 8,75* ¹	2,79 ± 0,09 * ¹
	14-денні самки	449,59 ± 16,42 * ² , * ³	140,11 ± 7,39 * ²	3,24 ± 0,09 * ²

Примітки:

1. *¹ p > 0,05 порівняно з інтактними самцями.
2. *² p > 0,05 порівняно з інтактними самками.
3. *³ p > 0,05 порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Таким чином, у самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів, концентрація тіолових сполук сироватки крові підтримувалася на фізіологічному рівні, а у самців близькому до нього. На нашу думку, це, очевидно, забезпечувалося підвищеним синтезом у тканинах печінки

небілкових SH-груп, які, надалі, надходили до загального кровообігу. Можливо, у результаті цього підтримується буферна ємкість тіолзалежних систем неспецифічної резистентності сироватки крові та інших органів на належному рівні. Але, слід підкреслити, що у тканинах печінки при цьому спостерігався певний дисбаланс між показниками білкової ланки тіол-дисульфідної системи, особливо у самців. Це підвищує вірогідність зриву у функціонуванні тіолзалежних адаптаційних механізмів в умовах дії на нащадків опромінених тварин несприятливих факторів оточуючого середовища.

У самців та самок щурів, отриманих від попередників опромінених перед спарюванням у сумарній дозі 0,75 Гр, виявлені досить суттєві зміни у тканинах печінки. Так, у самців цієї групи відмічалася помірно виражена лімфоцитарно-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів. Виявлено бубнявіння клітин, що вистеляють синусоїди. Поряд з паренхімою печінки з нормальною структурою, були розташовані ділянки дисконкомплексації печінкових балок, переважно навколо портальних трактів. Тут слід пригадати те, що периферійні ділянки печінкової часточки першими контактують з кров'ю, що надходить до печінки. До того ж різні ділянки печінкової часточки містять різний набір ферментних систем. Периферійні містять комплекс ферментів антиоксидантної системи, отже нейтралізують вільні радикали, які утворюються не тільки у тканинах печінки, а і ті що надходять з інших органів та систем. Виходячи з цього, можна припустити, що більша вираженість змін структури периферійних ділянок печінкової часточки пов'язана з дестабілізацією тіол-дисульфідної системи тканин печінки двотижневих самців, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів.

Крім вищезгаданих зрушень, порівняно з контролем, розміри гепатоцитів були меншими, базофілія цитоплазми виражена у меншому ступені; зустрічалися поодинокі гепатоцити з 1-2 вакуолями та групи гепатоцитів з цитоплазмою повністю заповненою вакуолями. Ядра поліморфні за розмірами, переважно невеликі з конденсованим хроматином розташованим

по всій каріоплазмі. У полі зору знаходились ядра з кільцеподібними ядерцями. Гепатоцитів, що діляться мітотично менше ніж у контрольній групі, зустрічалися патологічні фігури мітозів.

У самок означеної групи дисконкомплексація печінкових балок відсутня, інфільтрація стінок судин портальних трактів мало виражена. Порівняно з контролем незначне зниження базофілії цитоплазми, з'являвся поліморфізм ядер гепатоцитів за формою та розмірами: поряд з ядрами звичайних розмірів зустрічалася значна кількість клітин з невеликими ядрами, та поодинокі гепатоцити з великими ядрами. Ядра містили 2-3 невеликих темних ядерця та багато мілкодисперсних дифузно розташованих глибок хроматину, або одне велике ядерце та декілька глибок конденсованого хроматину під кареоломою. На відміну від самців цієї групи, у полі зору виявлялася незначна кількість гепатоцитів з вакуолізованою цитоплазмою: поодинокі розташовані гепатоцити з однією, двома невеликими вакуолями у цитоплазмі. Кількість гепатоцитів, які знаходяться на різних стадіях клітинного поділу менша, зустрічалися фігури атипичних мітозів. У самок гепатоцити більші за розмірами, більше виражений поліморфізм ядер за розмірами, превалюють ядра з дрібними інтенсивно забарвленими ядерцями. Відсутнє бубнявіння клітин синусоїдних капілярів.

Таким чином, виявлені структурно-функціональні зрушення у тканинах печінки 14-денних самців і самок, отриманих від опромінених щурів свідчать про зниження синтетичних процесів у гепатоцитах, розвиток дистрофічних змін у паренхімі печінки. Причому, вираженість цих процесів більша у самців, ніж у самок. З цього приводу слід звернути увагу і на кращі показники стану тіол-дисульфідної системи 14-денних самок, отриманих від опромінених попередників, порівняно з самцями.

Надалі, відбувалася певна стабілізація стану тіол-дисульфідної системи тканин печінки нащадків опромінених щурів. Так, у 30-денних самців (табл. 4.6), по відношенню до контролю, вміст білкових SH-груп тканин печінки був меншим на 18,5%, а дисульфідних вищим на 24,2%. У результаті цих зрушень

відбувалося зниження редокс-потенціалу на 34,1%. Тобто, рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну зсунута у бік окислених продуктів. Причому, порівняно з 14-денними самцями - нащадками опромінених щурів, поступово відновлювалася рівновага між вмістом білкових SH-груп та SS-груп. Останнє відбувалося за рахунок зменшення у 30-денних самців, по відношенню до двотижневих, рівня білкових SH-груп та SS-груп відповідно на 45,2 та 41,7%. Але, слід звернути увагу на те, що, при цьому, редокс-потенціал залишався незмінним.

Таблиця 4.6

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 30-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; n = 10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нашадки інтактних щурів	Самці	6,04 ± 0,12	1,24 ± 0,04	4,93 ± 0,15	0,48 ± 0,02
	Самки	6,2 ± 0,1* ¹	1,13 ± 0,04* ¹	5,55 ± 0,13	0,5 ± 0,01* ¹
Нашадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	4,92 ± 0,12	1,54 ± 0,07	3,25 ± 0,08	0,61 ± 0,02
	Самки	5,3 ± 0,12	2,01 ± 0,1	2,7 ± 0,09	0,68 ± 0,01

Примітка. *¹ p > 0,05 порівняно з інтактними самцями.

Стабілізувався і стан небілкової ланки тіол-дисульфідної системи. Так, по відношенню до 14-денних, у 30-денних самців вміст небілкових SH-груп був меншим на 40,2% і складав, по відношенню до контролю, вже 72,9%. Слід зазначити, що напрямок вікових змін білкових і небілкових SH-груп та редокс-

потенціалу у самців, отриманих від опромінених щурів, співпадав з таким у інтактних одновікових щурят (розділ 3.1) і лише зміни дисульфідних груп мали протилежний напрямок.

Напрямок змін показників тіол-дисульфідної системи 30-денних самок співпадав з таким у самців, але кількісно ці зміни суттєво відрізнялися. Так, по відношенню до інтактних одновікових самок, у самок, отриманих від опромінених щурів, вміст білкових SH-груп був меншим на 14,5%, а дисульфідних вищим на 77,9%. Внаслідок цього, редокс-потенціал складав лише 48,6% від показників інтактних самок. Таким чином, характер виявлених зрушень, у кількісному відношенні, можна порівняти зі змінами тіол-дисульфідної системи 14-денних самців, отриманих від опромінених попередників.

Слід звернути увагу і на вікові зміни тіол-дисульфідної системи тканин печінки самок, отриманих від опромінених щурів. Так, у 30-денних тварин, по відношенню до 14-денних, вміст білкових SH-груп та SS-груп знижувався на 36,5 і 16,6% відповідно, що призводило до падіння рівня їх співвідношення на 22,4%. Паралельно з цим, відбувалося зниження на 35,2% вмісту у тканинах печінки і небілкових SH-груп. Таким чином, напрямок виявлених вікових змін був подібним такому у інтактних тварин (розділ 3.1).

Слід зазначити те, що різна вираженість вікових змін показників тіол-дисульфідної системи у самців і самок призводила до появи у них відмінностей вмісту практично усіх тіолових сполук тканин печінки. Так, тканини печінки 30-денних самок містили на 7,7% і 30,5% більше, відповідно, білкових SH-груп та SS-груп, внаслідок чого редокс-потенціал у них був нижчим на 16,9%. Нарешті, вміст небілкових SH-груп у 30-денних самців був нижчим на 11,5%. Отже, на відміну від інтактних тварин, у самців і самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів, виявлені значні статеві відмінності показників тіол-дисульфідної системи. У свою чергу, це може бути основою різних адаптаційних можливостей різностатевих щурів.

Не менш глибокі зрушення були виявлені у тіол-дисульфідній системі сироватки крові 30-денних самців і самок-нащадків опромінених щурів (табл. 4.7). Так, у сироватці крові 30-денних самців характер змін рівня тіолових сполук відповідав такому у тканинах печінки. А саме, порівняно з інтактними одновіковими самцями, кількість білкових SH-груп зменшувалась на 13,4%, а дисульфідних мала виражену тенденцію до збільшення, внаслідок чого редокс-потенціал був меншим на 23,9%. При цьому, сироватка крові містила на 44% більше небілкових SH-груп.

Таблиця 4.7

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 30-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/л; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	451,56 ± 11,98	124,44 ± 7,53	3,72 ± 0,2	19,31 ± 0,8
	Самки	410 ± 18,69 * ¹	130 ± 9,17 * ¹	3,2 ± 0,15	19,2 ± 0,74 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	391,23 ± 15,1	138,6 ± 5,83 * ¹	2,83 ± 0,03	27,8 ± 0,86
	Самки	573,81 ± 13,16	152,38 ± 4,25 * ²	3,79 ± 0,13	28,8 ± 0,94 * ²

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Таким чином, і у сироватці крові 30-денних самців рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну зсунута у бік окислених продуктів. На відміну від інтактних одновікових самців, у яких, навпроти, рівновага зміщена у бік відновлених продуктів. Привертає увагу і те, що у 14-денних самців, нащадків опромінених щурів, вміст білкових SH-груп підвищувався, а дисульфідних не змінювався і редокс-потенціал не відрізнявся від контролю. Таким чином, у опромінених самців, після адаптації до нових умов оточуючого середовища, тіолзалежні механізми неспецифічної резистентності функціонують на якісно іншому рівні ніж за фізіологічних умов.

На відміну від самців, зміни показників тіол-дисульфідної системи самок носили інший характер. Так, порівняно з 14-денними, у 30-денних самок, отриманих від опромінених щурів, вміст білкових SH-груп сироватки крові підвищився на 27,6%, що, при відсутності коливань вмісту SS-груп, призводило до підвищення рівня редокс-потенціалу на 17%. Внаслідок таких вікових змін концентрація у сироватці крові 30-денних самок білкових SH-груп перевищувала контрольні показники на 40%. Паралельно з цим зростав на 17,2% і вміст білкових дисульфідних груп. Але за рахунок переважання сульфгідрильних груп редокс-потенціал білків сироватки крові перевищував такий одновікових інтактних самок на 18,4%. Отже, у самок зростала кількість функціонально активних сульфгідрильних груп, зростала буферна ємкість тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

Слід підкреслити, що означені процеси відбувалися за умов достатньо високої швидкості реакцій тіол-дисульфідного обміну зі зсувом рівноваги у бік окислених продуктів, на що вказувало зростання рівня дисульфідних груп. У свою чергу, процеси, які відбувалися у білковій ланці тіол-дисульфідної системи, надають змогу припустити, що підвищення рівня небілкових SH-груп на 50%, порівняно з контролем, у сироватці крові 30-денних самок, отриманих від опромінених попередників, є свідченням активації небілкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Порівняно з одновіковими

самцями, у самок цієї групи сироватка крові містила на 46,7% більше білкових SH-груп і завдяки цьому редокс-потенціал був вищим на 33,9%.

Таким чином, враховуючи зміни у тканинах печінки, можна припустити більшу функціональну активність тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності організму 30-денних самок порівняно з самцями. Але, це стосується переважно білкової частини тіол-дисульфідної системи, тому що вміст у сироватці крові самців і самок небілкових SH-груп майже однаковий. Таким чином, можна припустити, що тривале тотальне γ -опромінення самців і самок викликає нелетальні ушкодження геному статевих клітин, і ці ушкодження фенотипічно проявляються у нащадків, причому в більшому ступені у самців.

При морфологічних дослідженнях печінки виявлені значно глибші зміни у 30-денних самців - нащадків тварин опромінених у дозі 0,75 Гр, ніж у самок. У самців виявлені ділянки паренхіми печінки, які містили вакуолізовані гепатоцити, відмічалася дисконкомплексція печінкових балок, набряк паренхіми печінки (рис. А. 7). У самок, отриманих від щурів з сумарною дозою опромінення 0,75 Гр, виявлена лише незначна дисконкомплексція печінкових балок у центральних ділянках печінкової часточки.

На наступному етапі онтогенезу у тканинах печінки 45-денних самців, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів, не відбувалося змін рівня тіолових сполук по відношенню до 30-денних самців (табл. 4.8). Лише зменшилася концентрація небілкових SH-груп на 26,2%. У цей же час у тканинах печінки інтактних самців відбувалися значні вікові зміни тіол-дисульфідної системи (розділ 3.1.). Внаслідок цього у 45-денних самців, отриманих від опромінених попередників, по відношенню до одностатевих одновікових тварин вміст білкових SH-груп та SS-груп виявився вищим на 34,5 і 36,3% відповідно, але це не призводило до змін редокс-потенціалу. Паралельно з цим, концентрація небілкових SH-груп переважала показники інтактних тварин на 114,3%. Таким чином, тіол-дисульфідна система

динамічна, мобільна під час росту та розвитку організму інтактних молодих самців, що відображає її активну участь у різноманітних процесах життєдіяльності. У самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, вона напроти статична і можливо менш функціонально активна. Виходячи з цього, підлягає сумніву її функціональна спроможність і своєчасність у формуванні відповіді на дію агресивних чинників оточуючого середовища.

Таблиця 4.8

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 45-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	$3,71 \pm 0,14$	$1,13 \pm 0,04$	$3,37 \pm 0,23$	$0,21 \pm 0,02$
	Самки	$4,05 \pm 0,14$ * ¹	$1,06 \pm 0,05$ * ¹	$3,92 \pm 0,24$ * ¹	$0,19 \pm 0,02$ * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	$4,99 \pm 0,16$	$1,54 \pm 0,03$	$3,25 \pm 0,11$ * ¹	$0,45 \pm 0,01$
	Самки	$6,23 \pm 0,08$	$1,35 \pm 0,02$	$4,61 \pm 0,05$	$0,52 \pm 0,04$ * ²

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Не виключено, що виявлена статичність тіол-дисульфідної системи печінки у самців означеної групи, призводить до зміщення рівноваги у

реакціях тіол-дисульфідного обміну у бік окислених продуктів і у сироватці крові (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 45-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/л; n = 10)

Умови Експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	429,17 ± 8,75	125,02 ± 6,34	3,51 ± 0,19	21,06 ± 0,59
	Самки	411,11 ± 11,88 * ¹	119,81 ± 6,23 * ¹	3,55 ± 0,27* ¹	19,5 ± 1 * ¹
Нащадки щурів опромінені у дозі 0,75 Гр	Самці	400 ± 9,34	171,43 ± 9,07	2,37 ± 0,08	19,1 ± 0,69
	Самки	471,33 ± 13,03	154,18 ± 7,68 * ³	3,11 ± 0,14 * ²	23,51 ± 0,97

Примітки:

- *¹ p > 0,05 порівняно з інтактними самцями.
- *² p > 0,05 порівняно з інтактними самками.
- *³ p > 0,05 порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Так, по відношенню до 30-денних, у 45-денних самців виявлено збільшення вмісту білкових дисульфідних груп у сироватці крові, що призводило до зниження редокс-потенціалу на 16,3%. Збереження, з часом, рівня білкових SH-груп вірогідно пояснюється перетворенням небілкових SH-груп у білкові. У свою чергу, цим може пояснюватися зменшення рівня

небілкових SH-груп сироватки крові 45-денних самців, по відношенню до 30-денних, на 31,3%. У всякому випадку, з часом, відбувалося певне зменшення ємкості білкової і небілкової ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності сироватки крові самців, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів. Останнє підтверджується змінами у цих самців показників тіол-дисульфідної системи по відношенню до інтактних одностатевих тварин.

Так, порівняно з контролем, у сироватці крові зменшувався вміст білкових і небілкових SH-груп; на 37,1% збільшувалася концентрація білкових дисульфідних груп, що викликало зменшення редокс-потенціалу білкових молекул на 32,5%.

На відміну від самців, у самок, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, вікові зміни тіол-дисульфідної системи мають інший напрямок (див. табл. 4.8).

Так, у 45-денних самок цієї групи, по відношенню до 30-денних, у тканинах печінки вміст білкових SH-груп підвищувався на 17,5%, а дисульфідних зменшувався на 32,8%. Внаслідок цього редокс-потенціал зростав на 70,7%. Тобто, у самок, на відміну від самців, зростала буферна ємкість білкової ланки систем неспецифічної резистентності. Паралельно з цим зменшувався вміст небілкових SH-груп на 23,5%. Але, слід зазначити, що і у інтактних самок у ці вікові періоди відбувалося зниження вмісту у тканинах печінки небілкових тіолових сполук (розділ 3.1.), причому значно інтенсивніше ніж у одновікових нащадків опромінених тварин. Виявлені зрушення призводили до того, що концентрація білкових SH-груп у тканинах печінки 45-денних самок, отриманих від опромінених щурів, по відношенню до показників інтактних одновікових самок, зростала на 53,8%, дисульфідних на 27,4%. Завдяки переважанню темпу приросту білкових SH-груп над SS-групами їх співвідношення зростало на 17,6%. Нарешті був вищим на 173% і вміст небілкових SH-груп.

Отже, з часом, у тканинах печінки самок, отриманих від опромінених щурів, відбувалося формування більш високої буферної ємкості тіолзалежних

систем неспецифічної резистентності, причому як білкової так і небілкової її ланок. На нашу думку, це може бути свідченням підготовки організму самок до другого етапу періоду статевого дозрівання. Імовірно, що опромінення тварин перед спарюванням викликало певні несприятливі зрушення в організмі їх нащадків і виявлені зміни можуть бути проявленням захисної активації систем неспецифічної резистентності у цей важливий період онтогенезу.

Слід пригадати і те, що у тканинах печінки одновікових самців не відбувалося вікових змін жодного з показників тиол-дисульфідної системи. Внаслідок чого, по відношенню до 45-денних самців, отриманих від опромінених щурів, у самок цієї ж групи тканини печінки містили на 24,8% більше білкових SH-груп, на 12,3% менше дисульфідних, що призводило до зростання у них коефіцієнту співвідношення білкових SH-груп до SS-груп на 41,8%. Таким чином, у 45-денних самок, порівняно з самцями, білкова ланка тиолзалежних систем неспецифічної резистентності мала більший об'єм функціональних резервів. Слід звернути увагу на той факт, що у цій групі експериментальних тварин не виявлено статистично достовірних відмінностей вмісту небілкових SH-груп у тканинах печінки, хоча відзначалась тенденція до переважання їх у самок.

Отже, на перший погляд, небілкова ланка систем неспецифічної резистентності функціонує у самців і самок на одному рівні. Але, однією з функцій небілкових тиолів є підтримання у тканинах і органах оптимального рівня функціонально активних білкових SH-груп. Як видно з наведених результатів досліджень, ця функція виконується на належному рівні лише у самок. Про що свідчить підвищення рівня білкових SH-груп, зростання редокс-потенціалу. У самців у даний віковий період подібних зрушень не спостерігалось. Таким чином, можна припустити більшу загальну функціональну спроможність і потужність систем неспецифічної резистентності самок порівняно з самцями, покладаючись на вищезгадані

функції печінки по підтриманню гомеостазу у тіол-дисульфідній системі різних органів та тканин.

Останнє припущення підтверджується аналізом результатів змін тіол-дисульфідної системи сироватки крові 45-денних самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів. Так, у сироватці крові самок цієї групи, порівняно з контролем, виявлено на 14,6% більше сульфгідрильних груп білкового походження і на 28,7% дисульфідних. Але, ці коливання не порушували балансу окислених і відновлених сіркомістких угруповань білкових молекул і редокс-потенціал зберігався незмінним. Паралельно з цим, сироватка крові самок містила на 20,6% більше небілкових сульфгідрильних груп. Порівняно ж з одновіковими самцями, отриманими від опромінених попередників, у сироватці крові самок виявлено на 17,8% більше білкових SH-груп. Це, у сукупності з вираженою тенденцією до зменшення вмісту дисульфідних груп, призводило до переважання показників редокс-потенціалу сироватки крові самок над такими у самців на 31,2%. Більше, на 23,1%, містила сироватка крові самок і небілкових SH-груп. Таким чином, стабільність тіол-дисульфідної системи і її буферна ємкість вище у самок отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, ніж у самців.

Слід звернути увагу на те, що у сироватці крові 45-денних самок, порівняно з 30-денними, вміст білкових SH-груп зменшувався на 17,9%, що при незмінній кількості дисульфідних груп призводило до зниження редокс-потенціалу на 17,9%. На 18,4% зменшувався вміст і небілкових SH-груп. Майже ідентичні вікові зміни відбувалися і у самців цієї ж експериментальної групи. Виходячи з цього, можна припустити, що на межі двох періодів нестатевозрілого віку, а саме у кінці нестатевозрілого віку і початку передзлучного, збільшується потреба у функціонально активних білкових і небілкових сульфгідрильних групах. Для покриття цих потреб, як свідчать наведені результати, у тканинах печінки самок відбувається активація тіол-дисульфідної системи, підвищується синтез небілкових SH-груп. У самців забезпечення належного рівня функціонально активних SH-груп

супроводжувалося помітним виснаженням тіол-дисульфідної системи тканин печінки. Останнє ще раз підтверджує більшу загальну неспецифічну резистентність самок, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, ніж самців у цей віковий період.

При морфологічному дослідженні тканин печінки 45-денних самців і самок, отриманих від опромінених попередників, виявлена менша вираженість дистрофічних змін, порівняно з 30-денними тваринами. Особливо помітно це було у самок.

Як показали дослідження вікових змін тіол-дисульфідної системи у інтактних самців і самок, при досягненні статевої зрілості, вміст у тканинах печінки тіолових сполук досягає певного рівня і зберігається на протязі більшої частини життя тварин (розділ 3.1). У нащадків опромінених у дозі 0,75 Гр щурів теж відбувалися суттєві вікові зміни у тіол-дисульфідній системі тканин печінки пов'язані з досягненням статевої зрілості (табл. 4.10). Так, у 90-денних самців, порівняно з 45-денними, відбувалося зростання у тканинах печінки вмісту білкових сульфгідрильних груп на 19,2%, зменшення дисульфідних на 11%, що у сукупності призводило до зростання коефіцієнту їх співвідношення на 33,8%. Таким чином, з часом відбувалося відновлення буферної ємкості тіолзалежних систем неспецифічної резистентності і, зокрема, відновлення рівня функціонально активних білкових SH-груп. Але, означені процеси не викликали відновлення тіол-дисульфідної системи до рівня інтактних одновікових самців.

Так, у 90-денних самців, отриманих від опромінених щурів, тканини печінки містили на 10,3% менше білкових сульфгідрильних груп і на 24,5% більше дисульфідних. Внаслідок цього, співвідношення білкових SH-груп до SS-груп у інтактних самців виявилось вищим на 29,2%. Тобто, у статевозрілих самців, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів, за умов відсутності дії агресивних факторів будь-якої природи виявлена менша буферна ємкість білкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Виходячи з цього, можна припустити меншу адаптаційну

спроможність організму цих самців до дії несприятливих факторів оточуючого середовища, зокрема іонізуючих випромінювань. Про це може свідчити і певна інертність небілкової ланки тіол-дисульфідної системи самців означеної групи. Так, порівняно з 45-денними, у статевозрілих щурів вміст небілкових SH-груп не змінився, а порівняно з контролем знизився на 16%.

Таблиця 4.10

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 90-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	$6,63 \pm 0,05$	$1,1 \pm 0,05$	$6,14 \pm 0,26$	$0,5 \pm 0,02$
	Самки	$6,38 \pm 0,14$ * ¹	$1,31 \pm 0,03$	$4,89 \pm 0,16$	$0,31 \pm 0,02$
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	$5,95 \pm 0,12$	$1,37 \pm 0,04$	$4,35 \pm 0,12$	$0,42 \pm 0,02$
	Самки	$5,05 \pm 0,08$	$1,31 \pm 0,04$ * ² , * ³	$3,89 \pm 0,11$	$0,35 \pm 0,01$

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від щурів опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

У тканинах печінки 90-денних самок, на відміну від самців, вміст білкових SH-груп, порівняно з 45-денними самками, знижувався на 15,1%.

Але, при цьому, не спостерігалось змін вмісту білкових SS-груп. Тому, редокс-потенціал зменшувався на 15,6% завдяки білковим SH-групам. У свою чергу, по відношенню до одновікових інтактних самок, у 90-денних самок, отриманих від опромінених щурів, теж не виявлені коливання рівня дисульфідних груп у тканинах печінки. А зниження коефіцієнту співвідношення SH-груп до SS-груп на 20,4%, відбувалося за рахунок зниження кількості білкових SH-груп на 20,8%.

Отже, виходячи з відсутності вікових коливань рівня дисульфідних груп тканин печінки на даному етапі онтогенезу, можна припустити певну стабілізацію тіол-дисульфідної системи. Зменшення, з часом, рівня білкових SH-груп може свідчити на користь залучення їх до різноманітних процесів життєдіяльності у достатньої кількості і підтримання, при цьому, у тканинах печінки їх у оптимально необхідній концентрації. На користь цих припущень свідчать наступні факти. По-перше: при необхідності, на попередніх етапах онтогенезу, відбувалася активація тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності і кількість білкових сполук підтримувалася на достатньо високому рівні. По-друге, у тканинах печінки 90-денних самок означеної експериментальної групи знижувався вміст небілкових SH-груп, порівняно з 45-денними, на 32,7%. Це свідчить про зниження синтезу небілкових тіолів у печінці. Вірогідніше за все це пов'язане зі зниженням у даний період потреби у сульфгідрильних групах і про достатню кількість їх в організмі. У свою чергу, про те, що зниження рівня небілкових SH-груп не є показником виснаження небілкової ланки тіол-дисульфідної системи свідчить переважання вмісту небілкових SH-груп у тканинах печінки 90-денних самок, отриманих від опромінених щурів, на 12,9% порівняно з інтактними тваринами. Останні припущення підтверджуються і віковими змінами тіол-дисульфідної системи сироватки крові 90-денних самок, отриманих від опромінених щурів (табл. 4.11).

Так, у цих самок, порівняно з 45-денними, сироватка крові містила на 15,4% менше білкових SH-груп і на 15,6% більше SS-груп, внаслідок чого

відбувалося зменшення їх співвідношення на 27,3%. Паралельно з цим, знижувалася у сироватці крові і концентрація небілкових тіолів на 20,5%.

Таблиця 4.11

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 90-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/л; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	522,1 ± 19,54	131,37 ± 7,72	4,02 ± 0,1	20,46 ± 0,92
	Самки	413,21 ± 15,26	215,6 ± 9,63	1,97 ± 0,15	15,93 ± 0,94
Нащадки щурів опромінені у дозі 0,75 Гр	Самці	387,5 ± 11,52	150 ± 6,97* ¹	2,61 ± 0,07	22,6 ± 0,96* ¹
	Самки	398,72 ± 8,48 * ² , * ³	178,21 ± 6,43	2,26 ± 0,08* ²	18,69 ± 0,43

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від щурів опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

Отже, за направленістю виявлені вікові зрушення у тіол-дисульфідній системі самок майже співпадають з такими у інтактних тварин. Як результат цих змін, сироватка крові статевозрілих самок, отриманих від опромінених щурів, містила практично стільки ж білкових SH-груп і мала майже такий редокс-потенціал, як і сироватка крові одновікових інтактних самок. При

цьому, більш високий вміст дисульфідних груп істотно не впливав на рівновагу у білковій ланці тіол-дисульфідної системи сироватки крові самок, отриманих від опромінених щурів.

Нарешті, у сироватці крові означеної групи самок містилося на 17,3% більше небілкових SH-груп, ніж у інтактних одновікових щурів. У статевозрілих самців, на відміну від самок, у сироватці крові, з часом, вміст небілкових SH-груп збільшувався і становив 118,3% від показників 45-денних самців, отриманих від опромінених щурів. І майже дорівнював показникам інтактних одновікових одностатевих тварин. У свою чергу, білкова ланка тіол-дисульфідної системи сироватки крові самців була більш інертною.

Так, у статевозрілих самців, порівняно з 45-денними, не відбувалося статистично достовірних змін кількості білкових SH- та SS-груп, хоча їх фонові коливання призводили до підвищення редокс-потенціалу на 10,1%. Внаслідок цього, у сироватці крові 90-денних самців цієї групи, порівняно з контролем, містилося на 25,8% менше білкових SH-груп, що, у сукупності з вираженою тенденцією до збільшення кількості дисульфідних груп, спричиняло зменшення редокс-потенціалу на 35,1%. Таким чином, у сироватці крові 90-денних самців, отриманих від опромінених щурів, переважали процеси окислення сульфгідрильних груп до дисульфідних; знижувалась буферна ємність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Усе це, у сукупності з суттєвими зсувами у тіол-дисульфідній системі печінки, яка відповідає за синтез тіолових сполук і забезпечення ними інших систем та органів, може призводити до зриву у функціонуванні адаптаційних механізмів у разі дії несприятливих факторів оточуючого середовища. З цих позицій тіол-дисульфідна система 90-денних самок цієї ж групи виглядає більш потужною і функціонально спроможною.

Слід зауважити, що у статевозрілих самок, отриманих від опромінених щурів, порівняно з одновіковими самцями, направленість змін показників тіол-дисульфідної системи тканин печінки та сироватки крові практично відповідає таким у інтактних самців і самок на даному етапі онтогенезу, з тою лише

різницею, що кількісно вони не настільки виражені. Так, концентрація білкових і небілкових SH-груп у тканинах печінки самок, відповідно, на 15,1 і 16,7% була меншою. Також виявлено менше значення редокс-потенціалу на 10,6%. У свою чергу, сироватка крові самок містила на 18,8% більше дисульфідних груп, що у сукупності з тенденцією до зменшення рівня білкових SH-груп, призводило до зниження рівня редокс-потенціалу на 13,4%, порівняно з самцями. Паралельно з цим, сироватка крові самців містила на 17,3% більше небілкових SH-груп.

Виходячи з вищенаведеного, викликає зацікавленість стан і ефективність функціонування тіол-дисульфідної системи, отже і резистентність організму самців і самок щурів, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр тварин, під час старіння. До того ж відомо, що вплив іонізуючої радіації прискорює розвиток процесів старіння організму. Тому, нами досліджено стан тіол-дисульфідної системи тканин печінки та сироватки крові самців і самок віком один рік, які були отримані від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Проведені дослідження показали (табл. 4.12), що у тканинах печінки 365-денних самців отриманих від опромінених попередників порівняно з 90-денними вміст білкових SH- та SS-груп зменшувався майже однаково, на 23,5% і 19%. Тому редокс-потенціал у них не зазнавав істотних змін.

Паралельно з цим, відбувалося падіння рівня небілкових SH-груп у тканинах печінки цих самців на 16,7%. Описані зрушення призводили до того, що концентрація білкових SH-груп тканин печінки самців, отриманих від опромінених щурів, складала 82,1% від показників контрольних одновікових одностатевих тварин. При цьому, не спостерігалось суттєвих змін рівня дисульфідних груп білкового походження. Таким чином, виявлене зниження, відносно контролю, коефіцієнту співвідношення SH- до SS-груп на 19,8% відбувалося за рахунок зменшення кількості сульфгідрильних груп. Нарешті, тканини печінки самців даної групи містили на 48,5% менше небілкових SH-груп, ніж тканини печінки інтактних одновікових щурів. Таким чином, з віком, вміст практично всіх тіолових сполук у тканинах печінки самців знижувався.

Знижувався він і по відношенню до інтактних тварин. Тобто, у самців, отриманих від опромінених тварин, при старінні відбувалося виснаження усіх ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. У 365-денних самок, як і у самців, відбувалося зниження концентрації небілкових SH-груп у тканинах печінки, порівняно з 90-денними самками, отриманими від опромінених попередників, на 25,7% та інтактними 365-денними самками на 40,9%.

Таблиця 4.12

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 365-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	$5,54 \pm 0,12$	$1,08 \pm 0,03$	$5,14 \pm 0,09$	$0,68 \pm 0,03$
	Самки	$5,3 \pm 0,13$ * ¹	$1,29 \pm 0,03$	$4,11 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,03$
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	$4,55 \pm 0,12$	$1,11 \pm 0,04$ * ¹	$4,12 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,02$
	Самки	$6,04 \pm 0,09$	$1,6 \pm 0,03$	$3,78 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,01$

Примітка. *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.

Отже, у цей віковий період зміни небілкової ланки тіол-дисульфідної системи у самців і самок мали один напрямок. Той факт, що у тканинах печінки самок містилося на 25,7% менше небілкових SH-груп, на наш погляд, не вказує на меншу функціональну активність небілкової ланки їх тіол-

дисульфідної системи, тому що у інтактних одновікових щурів спостерігалися подібні зміни (розділ 3.1). На відміну від небілкової ланки тіол-дисульфідної системи, у білковій виявлені більш суттєві статеві розбіжності. Так, концентрація білкових SH- та SS-груп у тканинах печінки 365-денних самок, порівняно з 90-денними, зростала на 19,6 та 22,1% відповідно, що не супроводжувалося статистично достовірними змінами їх співвідношення. Тобто, на відміну від самців, у самок зростав вміст функціональноактивних білкових сульфгідрильних груп, що свідчить про спроможність тканин печінки підтримувати їх кількість на необхідному рівні.

По відношенню до інтактних одностатевих одновікових тварин, у 365-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, тканини печінки містили на 14% більше сульфгідрильних груп білкового походження і на 24% більше дисульфідних. Внаслідок переважання темпу приросту SS-груп, редокс-потенціал тканин печінки у цих самок на 8% був нижчий від контрольних показників. При цьому, слід зазначити, що у самок, по-перше, відмінності редокс-потенціалу від такого у інтактних тварин були більш як вдвічі менші, ніж у самців відповідних груп. По-друге: на відмінну від самців, зрушення у тіол-дисульфідній системі самок супроводжувалися збільшенням рівня функціональноактивних білкових SH-груп. У свою чергу, на фоні підвищення рівня дисульфідних груп, у самок це свідчило про достатньо високу функціональну спроможність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності порівняно з самцями, хоча і меншу від інтактних одновікових самок.

Нарешті, якщо безпосередньо порівнювати вміст тіолових сполук у тканинах печінки самців і самок віком один рік, то більш низький редокс-потенціал у самок не може свідчити про меншу функціональну спроможність їхніх систем неспецифічної резистентності. Тому, що аналогічна ситуація спостерігалась і у інтактних одновікових щурів. До того ж, тканини печінки самок, порівняно з самцями, містили на 32,7% більше білкових сульфгідрильних груп.

Про більшу стабільність і функціональну спроможність тіол-дисульфідної системи самок віком один рік, отриманих від опромінених щурів, порівняно з самцями, свідчили і виявлені коливання вмісту тіолових сполук у сироватці крові (табл. 4.13).

Таблиця 4.13

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 365-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 0,75 Гр тварин.

($M \pm m$, мкмоль/л; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	533,33 ± 12,87	133,33 ± 5,67	4,04 ± 0,11	27,64 ± 0,94
	Самки	408,04 ± 11,15	210,01 ± 7,89	1,95 ± 0,03	20,91 ± 0,87
Нащадки щурів опромінених у дозі 0,75 Гр	Самці	364 ± 7,82	135,1 ± 3,96 * ¹	2,7 ± 0,04	30,6 ± 1
	Самки	446,52 ± 5,2	130,22 ± 4,97 * ²	3,46 ± 0,09	25 ± 1,25

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від щурів, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

Так, у сироватці крові і самців, і самок означеної групи, порівняно з контролем. зростав вміст небілкових SH-груп на 10,7 та 19,6% відповідно. Але, у самців це відбувалося, найвірогідніше, за рахунок виснаження резервів цих груп у печінці; у той час як у самок за рахунок їх синтезу – виходячи з

описаних змін тіол-дисульфідної системи тканин печінки самців і самок. До того ж, хоча сироватка крові самців містила на 18,3% більше небілкових SH-груп, у ній зберігалася тенденція до зменшення рівня функціональноактивних білкових SH-груп, порівняно з 90-денними самцями. У свою чергу, по відношенню до показників сироватки крові інтактних одновікових самців, вміст білкових SH-груп у 365-денних самців - нащадків опромінених щурів, був нижчим на 31,7%. При незмінному рівні SS-груп це призводило до зменшення редокс-потенціалу білків сироватки крові на 33,2%. Слід звернути увагу і на те, що у 365-денних самців порівняно з 90-денними майже не змінився жоден з показників, які характеризують білкову ланку тіол-дисульфідної системи. Причому, така інертність тіол-дисульфідної системи самців, отриманих від опромінених щурів, вже зустрічалася на попередніх етапах онтогенезу.

На відміну від самців, у самок віком один рік, порівняно з 90-денними, відбувалося зростання у сироватці крові вмісту білкових SH-груп на 12% і зменшення дисульфідних на 26,9%, що у сукупності призводило до зміщення редокс-потенціалу у бік відновлених продуктів на 53,1%. Порівняно ж з одновіковими інтактними самками, у самок, отриманих від опромінених попередників, вміст білкових SH-груп сироватки крові був вищим на 9,4%, а дисульфідних нижчим на 38%. Внаслідок цього, на 77,4% зростав редокс-потенціал. Нарешті, по відношенню до одновікових самців, сироватка крові самок містила на 22,7% більше сульфгідрильних груп білкового походження, що, при відсутності різниці концентрації дисульфідних груп, забезпечувало переважання редокс-потенціалу білків сироватки крові на 28,1%. Таким чином, практично усі показники свідчать про достатньо високу функціональну активність тіол-дисульфідної системи 365-денних самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

При морфологічному дослідженні тканин печінки 365-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, виявлені суттєві зміни її паренхіми. А саме: дисконкомплексація печінкових балок, особливо на периферії

часточки; зменшення просвіту синусоїдних капілярів, місцями його відсутність. Відзначалась гіпертрофія клітин синусоїдних капілярів. Гепатоцити гіпертрофовані, їх межі чітко не контуруються, базофілія цитоплазми менш виражена, ніж у інтактних одновікових тварин. У полі зору значна кількість ядер з погано контурованим гетерохроматином та ядерцями, у деяких ядрах вони відсутні. Поруч з поодинокі розташованими дегенеративно зміненими гепатоцитами, зустрічалися, також, ділянки паренхіми печінки з їх скупченнями. Привертала до себе увагу гістіоцитарнолімфоцитарна інфільтрація портальних трактів, ділянки паренхіми з дискретним інфільтратом. У свою чергу, у 365-денних самок, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, виявлені подібні за характером зрушення у тканинах печінки, але виразність їх була значно меншою, ніж у самців.

У сукупності, виявлені зміни свідчать про зниження активності синтетичних процесів у паренхимі печінки означеної групи тварин, що може обумовлювати переважання катаболічних перетворень речовин над анаболічними. Слід зазначити, що виявлені зрушення спостерігаються у тканинах печінки літніх тварин за фізіологічних умов, але виразність їх значно менша.

Таким чином, проведені дослідження виявили статеві відмінності стану тіол-дисульфідної системи тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням попередників. А також те, що тривале тотальне γ -опромінення самців і самок перед спарюванням викликає дестабілізацію тіол-дисульфідної системи, особливо її білкової частини, у нащадків опромінених тварин. Виходячи з цього, можна припустити і меншу функціональну спроможність систем неспецифічної резистентності таких тварин. Опромінення попередників призводить до розвитку дистрофічних змін паренхіми печінки їх нащадків, причому якісно ці зміни залежать від статі тварин. Не викликає сумніву і залежність морфофункціонального стану тканин печінки самців і самок,

отриманих від опромінених щурів, від функціонального стану тіол-дисульфідної системи печінки.

4.3. Стан тіол-дисульфідної системи у печінці та сироватці крові на різних етапах розвитку виводку, отриманого від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр

У результаті проведених досліджень встановлено, що тривале тотальне γ -опромінення самців і самок у сумарній дозі 1,0 Гр перед спарюванням викликало значні зрушення у тіол-дисульфідній системі їх нащадків першого покоління. Так, у 18-денних зародків, отриманих від опромінених самців і самок, тканини печінки містили на 32,9% менше білкових SH-груп і на 13,1% більше білкових SS-груп, ніж печінка одновікових зародків інтактних тварин (табл. 4.14). Внаслідок описаних змін відбувався зсув на 38,9% співвідношення білкових SH-груп до SS-груп у бік окислених продуктів. Поруч з цими змінами вміст небілкових сульфгідрильних груп складав 87,5% від показників інтактних зародків. Таким чином, відмічалось зниження ємності тіолзалежних систем неспецифічної резистентності 18-денних зародків до народження, коли вони ще знаходилися під захистом організму вагітної самки. Привертають до себе увагу відмінності показників тіол-дисульфідної системи тканин печінки 18-денних зародків, які були отримані від самців і самок опромінених у дозі 0,75 та 1,0 Гр. Так, у зародків, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, порівняно з одновіковими зародками отриманими від самців і самок, опромінених у дозі 0,75 Гр вміст білкових SH-груп у тканинах печінки був менший на 8,6%. Паралельно у таких зародків виявлене значне переважання, на 42,4%, концентрації білкових дисульфідних груп. Внаслідок цього редокс-потенціал був менший на 33,8%. До того ж, тканини печінки зародків, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, містили на 41,5% менше небілкових SH-груп.

Таблиця 4.14

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці зародків та дводенних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Зародки	9,61 ± 0,24	2,58 ± 0,09	3,75 ± 0,12	0,64 ± 0,03
	Щурята	9,38 ± 0,24 * ¹	1,98 ± 0,05	4,76 ± 0,14	0,59 ± 0,02 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Зародки	6,45 ± 0,15	2,92 ± 0,14	2,29 ± 0,20	0,56 ± 0,02
	Щурята	6,41 ± 0,15 * ²	3,45 ± 0,12	1,87 ± 0,05	0,43 ± 0,01

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними зародками.
- *² $p > 0,05$ порівняно з дводенними щурятами, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

Отже, якщо у зародків, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр використання білкових SH-груп супроводжувалося процесами направленими на відновлення їх рівня; зростанням буферної ємкості низькомолекулярної ланки неспецифічної резистентності, то у зародків, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр подібної активності відновних процесів не виявлено. У зародків останньої згаданої групи відбувалося виснаження білкової і небілкової ланок тіол-дисульфідної системи. Про що свідчило зниження рівня небілкових SH-груп, як по відношенню до інтактних зародків, так і по

відношенню до зародків, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр самців і самок. На користь того, що відбувалося виснаження білкової ланки тіол-дисульфідної системи вказувало зростання рівня білкових дисульфідних груп і зниження редокс-потенціалу.

Як сказано вище (розділ 3.3), більш тривале тотальне γ -опромінення у вищій дозі, призводило до порівняно глибших зрушень у тіол-дисульфідній системі самців і самок. І як показали проведені дослідження, ці зміни більш суттєво впливають на зародків тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з зародками тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр. Як видно з наведених результатів, зміни у гомеостазі вагітних самок, опромінених перед спарюванням у дозі 1,0 Гр, викликають більш суттєві зрушення у тіол-дисульфідній системі тканин печінки зародків. При цьому не спостерігалось захисної дії організму вагітної самки по відношенню до зародків, як це відбувалося у попередній групі тварин. З боку 18-денних зародків, отриманих від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр самців і самок, виявлені зміни вказують на меншу функціональну спроможність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності тканин їх печінки.

Не менш істотні зміни були виявлені при дослідженні стану тіол-дисульфідної системи тканин печінки дводенних щурят, отриманих від самців і самок опромінених перед спарюванням у сумарній дозі 1,0 Гр. Так, у щурят цієї групи тканини печінки містили на 31,7% менше білкових сульфгідрильних груп і на 74,2% більше дисульфідних груп, ніж інтактні одновікові щурята. Ці зрушення призводили до зменшення співвідношення SH- до SS-груп на 60,7%. Паралельно з цим відбувалося зниження вмісту небілкових SH-груп на 27,1%.

Таким чином, у тканинах печінки дводенних щурят, отриманих від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр, відбувалося виснаження небілкової і білкової ланок тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності. Слід відзначити, що у дводенних щурят, отриманих від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр тварин, відбувалися ідентичні за

направленістю зміни показників, які характеризують тіол-дисульфідну систему. Але, ці зрушення мали значно меншу глибину. Так, тканини печінки дводенних щурят, отриманих від тварин опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з дводенними щурятами, отриманими від самців і самок опромінених у дозі 0,75 Гр, містили на 22,2 та 41,9% менше білкових і небілкових SH-груп відповідно. При цьому, кількість білкових дисульфідних груп була вищою на 22,8%, внаслідок чого редокс-потенціал складав 63% від його значення у дводенних нащадків, опромінених у дозі 0,75 Гр щурів. Тобто, відбувався різкий зсув рівноваги у реакціях тіол-дисульфідного обміну у бік окислених продуктів, та мала місце відсутність відновлення рівня білкових SH-груп за рахунок відновлення дисульфідних груп. Відбувалося значне виснаження резервів небілкових сульфгідрильних груп. До того ж, різке зниження рівня білкових SH-груп може свідчити про неефективність механізму їх відновлення за рахунок низькомолекулярних тіолів. Отже, збільшення тривалості і дози γ -опромінення статевозрілих самців і самок викликало глибокі зміни тіол-дисульфідної системи організму новонароджених щурят. Природа цих зрушень, на нашу думку, може полягати у несприятливих умовах розвитку зародків у організмі опромінених самок. Не виключено, в даному випадку, успадкування радіаційноіндукованих нелетальних пошкоджень геному самців і самок і їх фенотипічне проявлення у нащадків в ході пристосування до нових умов існування після народження. На користь останнього припущення можуть свідчити глибокі зрушення у білковій частині тіол-дисульфідної системи.

Привертають до себе увагу також і зрушення тіол-дисульфідної системи, що відбувалися в період часу від 18-ї доби ембріонального розвитку до другої доби постнатального періоду. Тобто, в період, коли відбувалася підготовка до пологів, пологи та пристосування новонароджених щурят до нових умов існування. Так, порівняно з зародками, отриманими від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин, у дводенних щурят цієї ж групи вміст білкових SH-груп у тканинах печінки не змінювався, вміст дисульфідних груп підвищувався на 18,2%,

внаслідок чого їх співвідношення зменшувалося на 18,3%. Паралельно з цим, у дводенних щурят кількість небілкових сульфгідрильних груп становила 76,8% від їх рівня у зародків цієї групи.

Як видно з наведених результатів, у інтактних щурят і щурят, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр попередників, вміст білкових SH-груп по відношенню до зародків не змінився. Але, у інтактних щурят відбувалося відновлення дисульфідних груп і підвищення редокс-потенціалу, а у нащадків опромінених тварин навпаки їх окислення і зниження редокс-потенціалу. Тобто, характер реагування на стресорні фактори у нащадків опромінених щурів якісно інший. Виходячи з низького рівня білкових SH-груп у зародків щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, і відсутності його змін після народження можна припустити низьку функціональну активність тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності за умов дії фізіологічних подразників. На відновлення рівня білкових SH-груп сподіватися важко. По-перше, виходячи із зростання вмісту білкових SS-груп. По-друге, відбувалося зниження рівня небілкових SH-груп, роль яких у стресорних реакціях згадувалася вище (розділ I). Тому, виходячи з їх початково низького рівня, сумнівна їх участь у відновленні концентрації білкових SH-груп. У свою чергу, більш високий вміст білкових SS-груп у тканинах печінки дводенних щурят, отриманих від опромінених попередників, може вказувати на синтез білків з більшою кількістю дисульфідних зв'язків і, відповідно, нижчу мобільність молекул та меншу їх функціональну активність. Цим, у свою чергу, може бути пояснена відсутність змін рівня функціонально активних білкових SH-груп у тканинах печінки дводенних щурят, отриманих від самців і самок, опромінених у дозі 1,0 Гр. Отже, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок щурів у сумарній дозі 1,0 Гр викликало глибокі зрушення у тіол-дисульфідній системі їх нащадків, зниження функціональної активності тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності в умовах дії фізіологічних подразників.

Причому, вираженість цих зрушень прямо пропорційна сумарній дозі опромінення.

Не менш суттєві зрушення виявлені при морфологічному дослідженні тканин печінки 18-денних зародків (рис. А. 8) та дводенних щурят, отриманих від самців і самок, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр. Порівняно з контролем, у тканинах печінки 18-денних зародків, отриманих від опромінених самців і самок, виявлено значне переважання судин над клітинними елементами, синусоїди і вени переповнені клітинами крові, кількість екстравазальних осередків кровотворення значно менша. Гепатоцити розташовані невеликими групами. Межі клітин візуалізуються погано. Базофілія цитоплазми практично відсутня. Значно більше гепатоцитів, що містять ядра з конденсованим хроматином. Суттєві зрушення виявлені і у дводенних щурят, отриманих від тварин, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр. Так, у них, порівняно з інтактними одновіковими щурятами, структура печінки ще не мала часточкової будови, були відсутні радіально направлені синусоїдні капіляри, печінкові балки не диференційовані. Гепатоцити чітко не контуруються, базофілія цитоплазми виражена незначно. Зустрічалися поодинокі гепатоцити з вакуолізованою цитоплазмою; ядрами з ознаками каріопікнозу. Більшість ядер містила одне ядрце, частина яких мала дрібні розміри. Осередки кровотворення майже відсутні. Отже, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок перед спарюванням у сумарній дозі 1,0 Гр, викликало у їх нащадків значні морфофункціональні зсуви. Так, зменшення базофілії цитоплазми, присутність ядер з функціонально неактивними ядрцями, конденсованим хроматином свідчить про зниження синтетичних процесів у гепатоцитах. І надалі пояснює затримку у формуванні нормальної структури тканин печінки. Негативний вплив на подальший розвиток виводку, отриманого від опромінених щурів, може мати і пригнічення процесів кровотворення у ембріональному періоді. Слід звернути увагу і на більш глибокі зрушення у тканинах печінки цих зародків і щурят, порівняно з нащадками самців і самок, які були опромінені

перед спарюванням у сумарній дозі 0,75 Гр. Отже, зростання дози опромінення, його тривалості викликає більш значну дестабілізацію тіолзалежних механізмів життєдіяльності організму, та структурнофункціональні зрушення тканин печінки виводку опромінених щурів.

Не менш значні зрушення виявлені у тканинах печінки та сироватці крові 14-денних самців і самок, отриманих від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр. Тканини печінки таких самців, порівняно з інтактними одновіковими самцями, містили на 23,5% менше білкових сульфгідрильних груп, при цьому вміст дисульфідних груп залишався незмінним (табл. 4.15). У результаті цього редокс-потенціал білкових молекул складав 77,7% від його рівня у інтактних самців. При цьому, білкові SH-групи використовувалися у різноманітних процесах життєдіяльності без утворення дисульфідних груп. Тобто, інтенсивність реакцій тіол-дисульфідного обміну у печінці самців була низькою. В свою чергу, не відбувалося відновлення рівня білкових SH-груп за рахунок відновлення дисульфідних зв'язків. Паралельно змінам білкової ланки тіол-дисульфідної системи, у самців - нащадків щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, зростав на 48,2% вміст небілкових SH-груп сироватки крові. Але, цей ріст, скоріш за все, ні як не позначився на рівні білкових SH-груп. Очевидно, отримані результати свідчать про певну інертність білкової ланки тіол-дисульфідної системи, зниження буферної ємності тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Хоча і відбувалася активація небілкової ланки тіолзалежних адаптаційних механізмів, але їх функціональна спроможність була недостатньою.

Привертають до себе увагу також і, майже однакові за направленістю і якістю, зміни показників тіол-дисульфідної системи 14-денних самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з самцями. Так, у них вміст білкових SH-груп знижувався по відношенню до інтактних самок на 27,6%, концентрація білкових SS-груп не змінювалася, а редокс-потенціал падав на 23,9%, при цьому, вміст небілкових сульфгідрильних груп зростав на

55,8%. Внаслідок цих змін всі показники, що характеризують тіол-дисульфідну систему 14-денних самців і самок щурів, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин, були майже однакові.

Таблиця 4.15

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 14-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n = 10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	9,09 ± 0,13	1,76 ± 0,06	5,21 ± 0,12	0,56 ± 0,03
	Самки	8,94 ± 0,17 * ¹	1,87 ± 0,04 * ¹	4,82 ± 0,16	0,52 ± 0,03 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	6,95 ± 0,27	1,72 ± 0,05* ¹	4,05 ± 0,09	0,83 ± 0,03
	Самки	6,47 ± 0,12 * ⁴	1,86 ± 0,15 * ² , * ⁴	3,67 ± 0,29 * ³ , * ⁴	0,81 ± 0,04 * ⁴

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самками, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *⁴ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

У 14-денних самців і самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, спостерігалися майже однакові зміни тіол-дисульфідної системи,

порівняно з відповідними групами щурят - нащадків тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр. Так, порівняно з самцями, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр попередників, у самців - нащадків тварин з дозою опромінення 1,0 Гр, вміст білкових SH-груп був нижчим на 22,6%; SS-груп на 34,8%, внаслідок чого редокс-потенціал був вищим на 18,8%. При цьому вміст небілкових SH-груп складав 81,4% від показників одновікових самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр. У самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з самками, отриманими від тварин опромінених у дозі 0,75 Гр, вміст білкових SH-груп був нижчим на 22,4%, SS-груп - на 22,8%, при цьому статистично достовірних змін співвідношення цих груп не відмічалось; і, нарешті, концентрація небілкових сульфгідрильних груп була нижчою на 22,9%.

Таким чином, виявлені відмінності показників тіол-дисульфідної системи у самців і самок нащадків щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр, при зростанні дози опромінення попередників практично зникають. При цьому, слід зазначити, що і у самців і у самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, збільшення вмісту SH-груп небілкової природи виражене менш інтенсивно і не забезпечує відновлення рівня білкових SH-груп. При цьому, зменшення білкових SH-груп не супроводжувалось збільшенням дисульфідних. Наведене свідчить про те, що внесок реакцій тіол-дисульфідного обміну у коливання рівня білкових тіолів невелика. Більш низький вміст SS-груп у тварин цієї групи, на наш погляд, пояснюється їх недоступністю для реагентів. Виходячи з цього, можна висловити припущення про значні конформаційні зрушення білкових молекул. За цих умов більш високий редокс-потенціал, на нашу думку, не є відображенням більшої буферної ємності тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

Отже, тотальне тривале опромінення самців і самок щурів у сумарній дозі 1,0 Гр викликає більш глибоке пригнічення тіолзалежних механізмів життєдіяльності. Причому, характер виявлених змін був однаковий і у самців і у самок. Виходячи з усіх наведених фактів, можна припустити, що

збільшення терміну та дози γ -опромінення викликає таке ушкодження геному тварин, в результаті якого ініціюються єдині для самців і самок механізми їх фенотипічної реалізації на даному етапі розвитку.

Однонаправлені зміни виявлені у сироватці крові 14-денних самців і самок, отриманих від щурів опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр (табл. 4.16).

Таблиця 4.16

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 14-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / л сироватки крові; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт
Нащадки інтактних щурів	Самці	390,48 \pm 18,31	147,62 \pm 4,6	2,67 \pm 0,15
	Самки	433,33 \pm 19,32 * ¹	130 \pm 5,46	3,36 \pm 0,16
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	367,78 \pm 12,59 * ¹	80,56 \pm 3,19	4,62 \pm 0,21
	Самки	373,59 \pm 16,2	67,56 \pm 1,03	5,54 \pm 0,25

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Причому, характер цих змін різко відрізнявся від зрушень у інших вікових групах. Так, у самців цієї групи вміст білкових SH-груп сироватки крові порівняно з контролем майже не змінився. Але, концентрація SS-груп складала всього 54,6% від показників інтактних щурів. Таким чином, як і у

печінці, різке зниження дисульфідних груп відбувалося не за рахунок зміщення рівноваги у бік відновлених продуктів у реакціях тіол-дисульфідного обміну. Ми припускаємо, що це є відображенням конформаційних, можливо денатураційних, змін у білкових молекулах. Підтвердженням останнього припущення може бути різке підвищення рівня небілкових SH-груп у сироватці крові порівняно з інтактними тваринами на 73% - відомо, що денатураційні зміни у білкових молекулах супроводжуються відщепленням від них небілкових SH-груп. Підвищення кількості небілкових SH-груп, на наш погляд, не може бути пояснене значною активацією систем неспецифічної резистентності, тому що це не супроводжувалося підвищення рівня білкових SH-груп, а навпаки відбувалося його зниження. Більш глибокою була дестабілізація тіол-дисульфідної системи сироватки крові і у порівнянні з самцями нащадками щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр, в яких вміст SH-груп був вищий на 18,8%, а дисульфідних груп - на 51,1%, ніж у самців - нащадків тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр.

У свою чергу, у сироватці крові самок вміст білкових SH- та SS-груп був нижчий відповідно на 13,8 і 48%, ніж у інтактних одностатевих тварин. Внаслідок цього редокс-потенціал був нижчий на 64,9%. А по відношенню до самок, отриманих від тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр, вміст білкових SH-груп був нижчий на 16,9%, а дисульфідних груп на 51,8%. Таким чином, як і у тканинах печінки, у сироватці крові 14-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, відбувалися зміни ідентичні таким у самців цієї групи. Тому, як наслідок цього, співвідношення показників тіол-дисульфідної системи самок і самців, отриманих від опромінених щурів, зберігалось майже як і у інтактних одновікових щурів. А саме, вміст білкових SH-груп статистично достовірно не відрізнявся, вміст дисульфідних груп у самок був нижчий на 16,1%, а редокс-потенціал вищий на 19,9%. Отже, у тканинах печінки самців і самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, виявлені однакові за направленістю зміни тіол-дисульфідної системи.

Не менш суттєві зрушення виявлені при морфологічному дослідженні

тканин печінки 14-денних самців і самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів. Так, у самців цієї експериментальної групи порівняно з контролем виявлена слабо виражена інфільтрація портальних трактів, бубнявіння клітин синусоїдних капілярів, причому останнє у них найбільш було помітне порівняно з іншими дослідними групами. Зустрічалися ділянки дисконкомплексації печінкових балок, як навколо портальних трактів, так і навколо центральних вен. Вакуолізація цитоплазми гепатоцитів та посилення її еозинофілії були виражені в більшому ступені ніж у самців, отриманих від щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр. Поліморфізм ядер добре виражений як за формою так і за розмірами, переважають ядра з конденсованим хроматином, виявлені кільцеподібні ядерця. Виявлені фігури патологічних мітозів у візуально більшій кількості ніж у нащадків тварин опромінених у дозі 0,75 Гр (рис. А. 9).

У структурі тканини печінки самок цієї групи виявлені слідуючі зміни. Зустрічалися ділянки дисконкомплексації печінкових балок, інфільтрація портальних трактів виражена помірно, мало місце бубнявіння клітин синусоїдних капілярів. Вищеописані ознаки виражені в меншому ступені ніж у самців цієї групи. Цитоплазма гепатоцитів більш вакуолізована, ніж у самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр. Зустрічалися розташовані поодиноці гепатоцити, які містили 1-2 вакуолі середніх розмірів та ділянки паренхіми, що склалися з поруч розташованих клітин, цитоплазма яких повністю була заповнена вакуолями дрібного та середнього розміру; базофілія цитоплазми виражена незначно. Поліморфізм ядер гепатоцитів за розміром зберігався, за формою посилювався. Зустрічалася значна кількість ядер з кільцеподібними ядерцями та конденсованим хроматином порівняно з контролем та самками, отриманими від щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр.

Необхідно відзначити, що зміни тканини печінки самців та самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин, практично ідентичні. Отже, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок у дозі 1,0 Гр викликає значні

зрушення у структурі тканин печінки їх двотижневих нащадків.

Надалі у 30-денних самців, отриманих від опроміненних у дозі 1,0 Гр щурів, порівняно з 14-денними, вміст білкових SH-груп у тканинах печінки зменшувався на 24,2%, а дисульфідних збільшувався на 44,2%, що спричиняло зсув редокс-потенціалу білкових молекул у бік окислених продуктів на 47,4% (табл. 4.17).

Таблиця 4.17

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 30-денних щурят, отриманих від інтактних та опроміненних у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	$6,04 \pm 0,12$	$1,24 \pm 0,04$	$4,93 \pm 0,15$	$0,48 \pm 0,02$
	Самки	$6,2 \pm 0,1$ * ¹	$1,13 \pm 0,04$ * ¹	$5,55 \pm 0,13$	$0,5 \pm 0,01$ * ¹
Нащадки щурів опроміненних у дозі 1,0 Гр	Самці	$5,27 \pm 0,12$	$2,48 \pm 0,08$	$2,13 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,02$
	Самки	$4,73 \pm 0,09$	$2,11 \pm 0,04$ * ²	$2,25 \pm 0,08$ * ³	$0,57 \pm 0,02$ * ³

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самками, отриманими від опроміненних у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опроміненних у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Таким чином, на відміну від інтактних самців (розділ 3.1), відбувалося зниження буферної ємкості білкової ланки тіол-дисульфідної системи на даному етапі онтогенезу. При цьому, порівняно з інтактними 30-денними самцями, тканини печінки містили на 12,7% менше білкових SH-груп, вдвічі більше SS-груп і, як наслідок цього, меншим на 56,8% було співвідношення білкових SH-груп до SS-груп. Паралельно з цим, суттєві зміни відбувалися у небілковій ланці тіол-дисульфідної системи. Так, порівняно з 14-денними самцями концентрація небілкових SH-груп тканини печінки знижувалася на 34,9% і майже не відрізнялася від інтактних одновікових тварин.

Отже, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок щурів перед спарюванням викликало значні зрушення тіол-дисульфідної системи їх 30-денних нащадків. При чому глибина цих зрушень більша, порівняно з одностатевими тваринами, отриманими від попередників, опромінених у дозі 0,75 Гр. Так, порівняно з 30-денними самцями останньої групи у одновікових самців, отриманих від попередників опромінених у дозі 1,0 Гр, тканини печінки містили на 11,5% менше небілкових SH-груп, на 61% більше дисульфідних груп. Переважно за рахунок останніх редокс-потенціал білків тканин печінки у цих самців був нижчий на 34,5%.

У 30-денних самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів, порівняно з 14-денними у тканинах печінки відбувалося зниження вмісту білкових SH-груп на 26,9%, що у сукупності з тенденцією до зростання рівня SS-груп спричиняло зменшення коефіцієнту співвідношення цих груп на 38,7%. Паралельно з цим, знижувався і вміст небілкових SH-груп на 29,6%. Слід зазначити, що описані зміни за направленістю значно відрізнялися від вікових зрушень у тіол-дисульфідній системі інтактних самок (розділ 3.1) і свідчили про зменшення з часом буферної ємкості білкових молекул тканин печінки самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів. Останнє підтверджується тим, що порівняно з інтактними 30-денними самками тканини печінки одностатевих одновікових щурів даної групи містили на 23,7% менше

білкових SH-груп, на 86,7% більше SS-груп, внаслідок чого редокс-потенціал зменшувався на 59,5%. Як видно буферна ємкість білкової ланки тіолзалежних систем резистентності була меншою, хоча при цьому тканини печінки містили на 14% більше небілкових SH-груп, порівняно з інтактними самками.

Якщо порівняти між собою самців і самок, отриманих від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів, то у тканинах печінки самок вміст білкових SH-груп був нижчий на 10,2%, але і дисульфідні групи складали 85,1% від показників самців. Внаслідок чого у цих тварин редокс-потенціал був однаковий. Не відрізнявся у них і вміст небілкових SH-груп у тканинах печінки.

Нарешті, по відношенню до 30-денних самок, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, у одновікових самок - нащадків щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, тканини печінки містили на 10,8% менше білкових SH-груп, що при незмінному рівні SS-груп приводило до падіння редокс-потенціала на 16,7%. При цьому, тканини печінки самок останньої групи містили на 16,2% менше небілкових SH-груп. Таким чином, вищенаведені факти свідчать майже про однакові зміни вмісту небілкових тіолів у самців і самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, і вказують на певну виснаженість їх кількості у печінці. Паралельно з цим, відбувалося зменшення буферної ємкості білкової ланки тіол-дисульфідної системи і самців, і самок. Але, останні процеси були виражені тільки у самців, як по відношенню до самок, так і по відношенню до самців, отриманих від попередників, опромінених у дозі 0,75 Гр. Виходячи з функцій небілкових тіолів підтримувати належний вміст білкових SH-груп, можна припустити більшу ефективність функціонування низькомолекулярних тіолових сполук самок порівняно з самцями при майже однакових їх кількісних змінах.

Не менш глибокі зрушення відбувалися у сироватці крові 30-денних самців і самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 30-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / л сироватки крові; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	451,56 ± 11,98	124,44 ± 7,53	3,72 ± 0,2	19,31 ± 0,8
	Самки	410 ± 18,69 * ¹	130 ± 9,17* ¹	3,2 ± 0,15	19,2 ± 0,74 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	548,72 ± 12,82	192,82 ± 12,06	3,23 ± 0,19 * ¹	23,09 ± 1,05
	Самки	523,08 ± 12,18 * ³	123,08 ± 5,05 * ²	4,28 ± 0,08	34,62 ± 1,08

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Так, у самців цієї групи виявлені наступні вікові зміни тіол-дисульфідної системи сироватки крові. Концентрація білкових SH- і SS-груп підвищувалася на 49,2 та 139,3% відповідно, що призводило до падіння редокс-потенціалу на 30,1% порівняно з 14-денними самцями - нащадками щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр. Внаслідок цих змін, порівняно з інтактними 30-денними самцями, вміст білкових SH-груп був на 21,5% вищим, але за рахунок збільшення кількості дисульфідних груп на 55% редокс-потенціал мав виражену

тенденцію до зміщення у бік окислених продуктів. Доречно пригадати і те, що у інтактних 30-денних самців порівняно з 14-денними, рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну була зміщена у бік синтезу відновлених продуктів (розділ 3.1), збільшення з часом рівня білкових SH-груп супроводжувалося зменшенням дисульфідних. Таким чином, у 30-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, зберігався характерний для інтактних щурів напрямок змін рівня білкових SH-груп, але характер змін дисульфідних груп мав протилежний напрямок.

Виходячи з цього, можна припустити певну дестабілізацію білкової ланки тіол-дисульфідної системи у самців цієї експериментальної групи. Отримані дані про значне зростання рівня дисульфідних груп наводять на думку про генетично детермінований синтез білків, які містять більшу кількість дисульфідних зв'язків, які є менш мобільними і менш функціонально активними.

Нарешті, у 30-денних самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, сироватка крові містила більше і сульфгідрильних і дисульфідних груп білкового походження, відповідно на 40,3 і 39,1%, порівняно з одновіковими тваринами, отриманими від попередників, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр, і при цьому редокс-потенціал також зростав на 14,1%. На перший погляд це свідчить про більш високу буферну ємність тіол-дисульфідної системи сироватки крові цих самців, але, порівняно з одновіковими самцями, отриманими від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, у них зменшувався вміст на 16,9% у сироватці крові небілкових SH-груп і становив 119,6% по відношенню до інтактних одновікових тварин. У той час, як у тварин, отриманих від щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр, цей показник складав 144% по відношенню до інтактних самців. Таким чином, достатньо високий вміст білкових SH-груп очевидно підтримувався за рахунок помітного виснаження небілкової ланки тіол-дисульфідної системи. До того ж, високий вміст білкових SS-груп може свідчити про зміщення рівноваги у реакціях тіол-дисульфідного обміну у бік окислених продуктів. Наведені дані дозволяють зробити припущення, що у 30-

денних самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр попередників, тіолзалежні механізми життєдіяльності функціонують з напругою і помітне певне їх виснаження.

Порівняно з самцями, у сироватці крові 30-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр попередників виявлено менше білкових дисульфідних груп на 36,2% і, завдяки цьому, редокс-потенціал у них був більшим на 32,5%. При цьому сироватка крові самців і самок означених груп містила майже однакову кількість білкових SH-груп. Виявлені факти свідчать про те, що буферна ємність білкової ланки тіол-дисульфідної системи 30-денних самок була вища, ніж у самців. Те саме можна сказати і про небілкову ланку, тому що у самок концентрація небілкових SH-груп сироватки крові на 49,9% була вищою за аналогічні дані самців. До того ж, сироватка крові цих самок порівняно з контролем містила на 80,3% більше небілкових SH-груп, у той час як у самців цей показник переважав контрольні у чотири рази менше, ніж у самок.

Подібною була у самок і самців направленість вікових зрушень тіол-дисульфідної системи. Так, порівняно з 14-денними, у 30-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин, кількість білкових SH-груп сироватки крові зростала на 40%, дисульфідних на 82,2%, внаслідок чого редокс-потенціал знижувався на 22,7%. Але, слід зауважити, що у самок концентрація SS-груп зростала не так інтенсивно як у самців, що може свідчити про порівняно меншу активність окислювальних процесів у сироватці крові самок. Нарешті, у 30-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, по відношенню до одновікових одностатевих інтактних тварин, вміст білкових SH-груп був вищий на 27,6%; а SS-груп відповідав контрольним показникам, внаслідок чого редокс-потенціал перевищував на 33,8% показники інтактних тварин.

Таким чином, у інтактних самок віком 14 та 30 днів стан тіол-дисульфідної системи сироватки крові знаходився на одному рівні (розділ 3.1), що вказувало на її стабільність у ці вікові періоди. У самок, отриманих від

опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, відбувалася активація тіолзалежних механізмів життєдіяльності. Причому у самок, на відміну від самців, буферна ємкість тіол-дисульфідної системи була навіть вищою, ніж у одновікових самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр. Так, на відміну від останніх, у сироватці крові таких самок містилося на 19,2% менше дисульфідних груп, був більшим на 12,9% редокс-потенціал; та вищим на 20,2% вміст небілкових SH-груп. Хоча не слід забувати і те, що при цьому відбувалося зниження рівня функціонально активних білкових SH-груп на 8,8%.

Морфологічне дослідження печінки 30-денних самців і самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, виявило зхожі за направленістю, але значно інтенсивніше виражені зрушення паренхіми, ніж у самців і самок, нащадків тварин з сумарною дозою опромінення 0,75 Гр. Слід зауважити, що виразність дистрофічних зрушень була у самців значно більшою (рис. А. 10), ніж у самок (рис. А. 11).

По досягненні віку у 45 днів самцями, отриманими від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, у них відбувалася певна стабілізація тіол-дисульфідної системи (табл. 4.19).

Так, порівняно з самцями віком 30-днів, у них зростала концентрація білкових дисульфідних груп у тканинах печінки на 9,5%, більш значно, 30,2%, зменшувався вміст дисульфідних груп, внаслідок чого редокс-потенціал був вищим на 59,6%. Паралельно з цим, на 11%, зростала концентрація небілкових SH-груп. Останні зрушення призводили до відновлення рівня редокс-потенціалу білків тканин печінки 45-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, майже до рівня інтактних одновікових тварин. При цьому, по відношенню до контролю у тканинах печінки 45-денних самців зростала кількість білкових SH-груп та SS-груп на 55,5 і 53,1% відповідно, а вміст небілкових SH-груп переважав показники інтактних тварин на 185,7%.

Таблиця 4.19

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 45-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	3,71 ± 0,14	1,13 ± 0,04	3,37 ± 0,23	0,21 ± 0,02
	Самки	4,05 ± 0,14 * ¹	1,06 ± 0,05 * ¹	3,92 ± 0,24 * ¹	0,19 ± 0,02 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	5,77 ± 0,09	1,73 ± 0,08	3,4 ± 0,16 * ¹ , * ²	0,6 ± 0,02
	Самки	5,46 ± 0,11	1,74 ± 0,09 * ³	3,27 ± 0,22 * ³	0,68 ± 0,02

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Слід зазначити, що по відношенню до 45-денних самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр, тканини печінки одновікових одностатевих щурів нащадків тварин опромінених у дозі 1,0 Гр мали практично такий же редокс-потенціал, але містили на 15,6 і 12,3% більше відповідно білкових SH- та SS-груп. Отже, у самців, отриманих від щурів опромінених у дозах 0,75 та 1,0 Гр, виявлено однакові за характером зміни тіол-дисульфідної системи, але

рівновага цієї системи у останньої групи самців, досягається за рахунок коливань більшої амплітуди

У тканинах печінки 45-денних самок, отриманих від тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр, вікові зміни тіол-дисульфідної системи мали подібний характер. Так, по відношенню до 30-денних самок у них зростав вміст білкових SH-груп на 15,4%, а дисульфідних знижувався на 17,5%, що викликало збільшення редокс-потенціалу на 45,3%. Зростав і вміст небілкових SH-груп на 19,3%. Наведені вікові зміни за направленістю відрізнялися від таких у тканинах печінки інтактних одновікових самок. Внаслідок чого, по відношенню до останніх, тканини печінки 45-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, містили на 34,8 і 64,2% більше відповідно білкових SH-груп та SS-груп і мали на 16,6% нижчий редокс-потенціал. Паралельно з цим, тканини печінки 45-денних самок, отриманих від опромінених тварин, містили на 257,9% більше небілкових SH-груп. Концентрація небілкових SH-груп тканин печінки цих самок переважала їх вміст у тканинах печінки самок, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр тварин, на 30,8%. Але, при цьому, тканини печінки містили на 12,4% менше білкових SH-груп, більше на 28,9% SS-груп і як результат цього менший на 29,1% редокс-потенціал.

Таким чином, у 45-денних самців і самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, виявлена значна активація небілкової ланки тіол-дисульфідної системи, паралельно з цим зростав редокс-потенціал по відношенню до 30-денних тварин, а у самців навіть відповідав значенням інтактних тварин. Але, привертає до себе увагу, порівняно практично з усіма іншими експериментальними групами, високий вміст дисульфідних груп, і значна амплітуда вікових коливань інших показників.

Нарешті слід відмітити, що показники білкової ланки тіол-дисульфідної системи самців і самок цієї групи були майже однаковими. Але, при цьому, тканини печінки самок містили на 13,3% більше небілкових SH-груп ніж у самців.

Не менш суттєві зрушення виявлені у тіол-дисульфідній системі сироватки крові 45-денних самців і самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр (табл. 4.20). Так, у самців означеної групи, порівняно з контролем, у сироватці крові підвищувався вміст білкових SH-груп на 13,9%, зменшувався вміст SS-груп на 13,4%, внаслідок чого редокс-потенціал був вищим на 29,9%. Паралельно з цим, вміст небілкових SH-груп був вищим на 88%. При цьому, сироватка крові означеної групи тварин містила на 22,2 і 107,3% більше, відповідно, білкових і небілкових SH-груп, менше на 36,9% білкових SS-груп і мала вищий на 92,4% редокс-потенціал, порівняно з самцями, отриманими від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр. Таким чином, і у печінці, і у сироватці крові 45-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, виявлено зростання ємкості білкової і небілкової ланок тіол-дисульфідної системи.

Зміни у сироватці крові самок цієї групи відрізнялися від таких у самців і були схожі на зміни, які відбувалися у печінці цих самок. Так, у 45-денних самок, порівняно з 30-денними, зростав вміст білкових дисульфідних груп, і відмічалася тенденція до зниження білкових SH-груп. Завдяки цьому редокс-потенціал знижувався на 42,5%. Знижувався і вміст небілкових SH-груп на 24,6%. Ці зміни призводили до того, що сироватка крові самок означеної групи, порівняно з контролем, містила відповідно на 16,8 і 63,8% більше білкових SH- та SS-груп, внаслідок чого редокс-потенціал у них був менший на 30,7%. Порівняно з інтактними одностатевими тваринами сироватка крові цих самок містила на 33,8% більше небілкових SH-груп. Таким чином, у 45-денних самок, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, відбувалося зменшення буферної ємкості як білкової, так і небілкової ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. При цьому, слід зауважити, що порівняно з одновіковими самками, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, у них виявлено стільки ж білкових SH-груп, але на 27,2% більше дисульфідних, що обумовлювало нижчий редокс-потенціал білків сироватки крові на 20,9%. При цьому, небілкових SH-груп у сироватці крові було на 11% більше. Тобто, небілкова ланка при більшій ємкості виконувала свою функцію

менш ефективно.

Таблиця 4.20

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 45-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / л сироватки крові; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	429,17 ± 8,75	125,02 ± 6,34	3,51 ± 0,19	21,06 ± 0,59
	Самки	411,11 ± 11,88 * ¹	119,81 ± 6,23 * ¹	3,55 ± 0,27 * ¹	19,5 ± 1 * ¹
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	488,89 ± 7,02	108,25 ± 3,9	4,56 ± 0,16	39,59 ± 1,13
	Самки	480 ± 19,35 * ² , * ³	196,19 ± 5,78	2,46 ± 0,11	26,1 ± 0,84

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з самками, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Нарешті, порівняно з 45-денними самцями, отриманими від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, сироватка крові самок цієї групи містила стільки ж білкових SH-груп, на 81,2% більше дисульфідних, на 34,1% менше небілкових SH-груп і мала на 46,1% менший редокс-потенціал.

У віці 45 діб і у самців, і у самок вираженість дистрофічних змін у тканинах печінки зменшувалась. При цьому, у самців зрушення у паренхимі печінки були глибшими, ніж у самок.

Після досягнення статевої зрілості самцями і самками, отриманими від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, зберігалися суттєві відмінності тіол-дисульфідної системи тканин печінки і сироватки крові порівняно з інтактними одновіковими тваринами. Так, тканини печінки (табл. 4.21) 90-денних самців цієї групи, порівняно з контролем, містили стільки ж білкових SH-груп, на 41,8% більше SS-груп, внаслідок чого їх співвідношення було меншим на 30,8%. І це при тому, що, порівняно з 45-денними, у 90-денних самців редокс-потенціал збільшився на 25%. Таким чином, при досягненні статевої зрілості самці, отримані від опромінених щурів, мали значно меншу буферну ємність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності, чим інтактні тварини.

Що стосується небілкової ланки, то з віком вміст небілкових SH-груп зростав на 23,8%, порівняно з 45-денними самцями, і майже не відрізнявся від показників інтактних 90-денних самців. Слід звернути увагу на те, що вміст білкових SH- та SS-груп у самців цієї групи був вищим на 10,1 та 13,9%, відповідно, по відношенню до аналогічних показників тіол-дисульфідної системи тканин печінки статевозрілих самців, отриманих від тварин опромінених у дозі 0,75 Гр. При цьому, редокс-потенціал у них був однаковий. Тканини печінки статевозрілих самців - нащадків щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, містили на 23,8% більше і небілкових сульфгідрильних груп.

На відміну від самців, характер вікових зрушень тіол-дисульфідної системи тканин печінки 90-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, був іншим. Так, у цих самок, порівняно з 45-денними, у тканинах печінки концентрація білкових SH-груп зростала на 11,4%, вміст білкових SS-груп зменшувався на 26,4%, внаслідок чого їх співвідношення зміщувалося у бік відновлених продуктів на 46,8%. Знижувався також вміст небілкових SH-груп на 29,4%, але все-таки залишався вищим за показники інтактних 90-

денних самок на 54,8%. Наведені вікові зміни призводили до того, що жоден з показників тіол-дисульфідної системи самок, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, не відрізнявся від показників інтактних одновікових самок.

Таблиця 4.21

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 90-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	6,63 ± 0,05	1,1 ± 0,05	6,14 ± 0,26	0,5 ± 0,02
	Самки	6,38 ± 0,14 * ¹	1,31 ± 0,03	4,89 ± 0,16	0,31 ± 0,02
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	6,55 ± 0,08 * ¹	1,56 ± 0,07	4,25 ± 0,12 * ³	0,52 ± 0,02 * ¹
	Самки	6,08 ± 0,12 * ²	1,28 ± 0,04 * ^{2,*4}	4,8 ± 0,1* ²	0,48 ± 0,02 * ⁵

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *⁴ $p > 0,05$ порівняно з самками, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *⁵ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Таким чином, якщо буферна ємкість білкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності тканин печінки статевозрілих самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр була значно нижчою за показники інтактних одностатевих щурів, то у самок вона дорівнювала контрольним показникам.

Нарешті, по відношенню до 90-денних самок - нащадків щурів, опромінених у дозі 0,75 Гр, у статевозрілих самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр попередників, тканини печінки містили на 20,4 і 37,1% більше білкових і небілкових SH-груп відповідно, мали такий же вміст SS-груп, внаслідок чого у них редокс-потенціал білкових молекул був вищим на 23,4%. У свою чергу, вікові зміни тіол-дисульфідної системи сироватки крові самців, отриманих від опромінених попередників, за направленістю відрізнялися від таких у інтактних тварин (табл. 4.22). Так, порівняно з 45-денними, у 90-денних самців, нащадків щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, кількість білкових SH-груп сироватки крові зберігалася на незмінному рівні, концентрація білкових дисульфідних груп збільшувалася на 20,2% і як результат співвідношення цих функціональних груп білків знижувалося на 17,5%. При цьому, вміст небілкових SH-груп у сироватці крові не змінювався.

Таким чином, у інтактних щурів, при досягненні статевої зрілості, буферна ємкість білкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності зростає (розділ 3.1), у той час як у нащадків опромінених щурів навпаки зменшується. У результаті, виявлені зміни рівня білкових SH-груп та SS-груп статистично не відрізнялися від показників інтактних одновікових самців. Але, завдяки тенденції до зменшення білкових SH-груп у сироватці крові 90-денних самців, отриманих від опромінених щурів, редокс-потенціал білків сироватки крові у них був нижчим, чим у інтактних тварин. Хоча, при цьому, сироватка крові цих самців містила, порівняно з контролем, на 80,9% більше небілкових SH-груп.

Таблиця 4.22

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 90-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / л; n=10)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	522,1 ± 19,54	131,37 ± 7,72	4,02 ± 0,1	20,46 ± 0,92
	Самки	413,21 ± 15,26	215,6 ± 9,63	1,97 ± 0,15	15,93 ± 0,94
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	487,5 ± 6,61 * ¹	130,09 ± 3,32 * ¹	3,76 ± 0,05	37,02 ± 0,92
	Самки	384 ± 7,51 * ² , * ³ , * ⁴	128 ± 3,51	3,01 ± 0,03	18,76 ± 0,86 * ³

Примітки:

- *¹ p > 0,05 порівняно з інтактними самцями.
- *² p > 0,05 порівняно з інтактними самками.
- *³ p > 0,05 порівняно з самками, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів.
- *⁴ p > 0,05 порівняно з самцями, отриманими від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр.

У статевозрілих самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, у сироватці крові вміст білкових і небілкових SH-груп був вищим відповідно на 25,8 і 63,8%; дисульфідних груп нижчим на 13,3%, ніж у одновікових тварин, отриманих від попередників, опромінених у дозі 0,75 Гр. Означені зміни сприяли підвищенню редокс-потенціалу на 44,1%. На перший погляд

буферна ємкість більше у сироватці крові самців, отриманих від щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, але з віком у них відбувалося її зменшення, у той час як у самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 0,75 Гр напроти збільшення.

У 90-денних самок, отриманих від тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр, сироватка крові містила на 21,2% менше білкових SH-груп, стільки ж SS-груп, внаслідок чого редокс-потенціал був у них меншим на 19,9%. При цьому, меншою була кількість небілкових SH-груп на 49,3%. Але, слід зазначити, що і за фізіологічних умов між самцями і самками виявлені схожі відмінності. Тому, неможна говорити про меншу функціональну здатність тіол-дисульфідної системи самок. До того ж, на відміну від самців, у 90-денних самок цієї групи, порівняно з 45-денними, редокс-потенціал білкових молекул сироватки крові підвищувався на 22,4% завдяки, в основному, зменшенню вмісту дисульфідних груп на 34,8%, хоча при цьому відбувалося і зниження рівня білкових SH-груп на 20%. Але, вміст білкових сульфгідрильних груп у сироватці крові статевозрілих самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, майже не відрізнявся від показників інтактних одновікових самців. Паралельно з цим у самок, отриманих від опромінених щурів, сироватка крові містила на 40,6% менше дисульфідних груп, мала на 52,8% вищий редокс-потенціал білкових молекул і на 17,8% більшу концентрацію небілкових SH-груп. Виходячи з усього вищенаведеного можна припустити більш стабільний стан тіол-дисульфідної системи самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, ніж у самців. Нарешті, як і самці, самки цієї групи мали вищий на 33,2% редокс-потенціал білків сироватки крові, порівняно з самками, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр тварин. До того ж, порівняно з останніми, у них у сироватці крові містилося стільки ж функціонально активних SH-груп білкового та небілкового походження і на 28,2% менше дисульфідних груп.

На відміну від інтактних тварин, у самців і самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, виявлені статеві відмінності у

морфофункціональному стані тканин печінки після досягнення статевої зрілості. Причому виразність дистрофічних змін була більшою у самців, ніж у самок, і ніж у щурів, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр попередників.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок щурів перед спарюванням призводить до того, що їх нащадки при досягненні статевої зрілості мають структурно іншу тіол-дисульфідну систему тканин печінки. Враховуючи те, що тіол-дисульфідна система сироватки крові значно відрізнялася від показників інтактних тварин, можна припустити недостатню функціональну активність тіол-дисульфідної системи тканин печінки.

Незважаючи на більш високу буферну ємкість тіолзалежних систем неспецифічної резистентності, на попередніх етапах онтогенезу, процеси старіння у тварин, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, супроводжувалися значним виснаженням як білкової, так і небілкової ланок тіол-дисульфідної системи. Так, у самців віком один рік, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з 90-денними, на 38,9% знижувався вміст білкових SH-груп, що супроводжувалося зменшенням рівня дисульфідних груп (табл. 4.23).

Завдяки більшим зрушенням вмісту білкових SH-груп редокс-потенціал знижувався на 13,4%. Паралельно з цим, концентрація небілкових SH-груп у 365-денних самців зменшувалася на 61,5%. Наведені зрушення призводили до того, що, порівняно з інтактними одновіковими тваринами, у самців означеної групи тканини печінки містили на 27,8 і 70,6% менше білкових і небілкових SH-груп. Це, при незмінному рівні дисульфідних груп, спричиняло падіння редокс-потенціалу на 28,4%. Нарешті, порівняно з 365-денними самцями, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, у самців даної групи тканини печінки містили на 12,1 і 42,9% менше білкових і небілкових SH-груп відповідно. При цьому, вміст SS-груп був такий же, тому зниження редокс-потенціалу на 10,7% відбувалося за рахунок в основному функціонально активних білкових сульфгідрильних груп. Тобто, γ -опромінення щурів у

більшій дозі викликає під час старіння у їх самців-нащадків більше виснаження білкової і небілкової ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

Таблиця 4.23

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у печінці 365-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / г тканин печінки; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	$5,54 \pm 0,12$	$1,08 \pm 0,03$	$5,14 \pm 0,09$	$0,68 \pm 0,03$
	Самки	$5,3 \pm 0,13$ * ¹	$1,29 \pm 0,03$	$4,11 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,03$
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	$4,0 \pm 0,05$	$1,09 \pm 0,02$ * ¹ , * ³	$3,68 \pm 0,04$	$0,2 \pm 0,01$
	Самки	$5,01 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,04$ * ²	$4,2 \pm 0,09$ * ²	$0,3 \pm 0,01$

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.

На відміну від самців, у 365-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, порівняно з 90-денними, відбувалося менше виснаження тіол-дисульфідної системи. Так, у таких самок відбувалося з часом зменшення вмісту білкових і небілкових SH-груп у тканинах печінки відповідно на 17,6 та

37,5%; при цьому кількість білкових SS-груп не змінювалася, а редокс-потенціал знижувався на 12,5%. У результаті цих змін тканини печінки самок означеної групи містили на 5,5 та 31,8% менше білкових і небілкових SH-груп відповідно. Інші показники тіол-дисульфідної системи тканин печінки не відрізнялися від таких у інтактних тварин. Отже, з віком у 365-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів, виявлено певне виснаження тіолзалежних механізмів неспецифічної резистентності, причому, у меншому ступені, чим у самок цієї експериментальної групи. Останнє підтверджується при порівнянні показників тіол-дисульфідної системи самців і самок. Так, у самок тканини печінки містили порівняно з самцями на 25,3 і 50% більше білкових і небілкових SH-груп відповідно. Хоча зростала і кількість дисульфідних груп на 10,1%. Але, все ж таки, редокс-потенціал білкових молекул тканин печінки був вищим у самок на 14,1%.

Нарешті, порівняно з самками отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, у 365-денних самок, нащадків щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, тканини печінки містили на 17,1% менше функціонально активних білкових SH-груп, менше дисульфідних на 25%, що призводило до збільшення редокс-потенціалу на 11,1%. При цьому вміст небілкових SH-груп був вищим на 15%.

Подібні вікові процеси відбувалися і у сироватці крові 365-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин (табл. 4.24).

Так, порівняно з 90-денними тваринами, у цих самок знижувалася кількість небілкових SH-груп на 11,8% і редокс-потенціал на 12%. Але, на відміну від тканин печінки, у сироватці крові до зниження рівня останнього призводило збільшення рівня дисульфідних груп на 13,6% при незмінній кількості білкових сульфгідрильних. Сироватка крові самок означеної групи містила на 30,7% менше дисульфідних груп, що, у сукупності з тенденцією до зменшення рівня білкових SH-груп, призводило до зростання редокс-потенціалу на 35,9%, порівняно з інтактними одновіковими тваринами. При цьому, вміст небілкових SH-груп був меншим на 20,9%. Зниження концентрації низькомолекулярних тіолів, можливо, свідчить про виснаження

небілкової ланки тілзалежних систем неспецифічної резистентності самок, а вміст білкових SH-груп підтримувався за рахунок відновлення дисульфідних зв'язків.

Таблиця 4.24

Вміст сульфгідрильних та дисульфідних груп у сироватці крові 365-денних щурят, отриманих від інтактних та опромінених у дозі 1,0 Гр тварин.

($M \pm m$; мкмоль / л сироватки крові; $n=10$)

Умови експерименту		Білкові SH-групи	Білкові SS-групи	SH/SS- коефіцієнт	Небілкові SH-групи
Нащадки інтактних щурів	Самці	533,33 ± 12,87	133,33 ± 5,67	4,04 ± 0,11	27,64 ± 0,94
	Самки	408,04 ± 11,15	210,01 ± 7,89	1,95 ± 0,03	20,91 ± 0,87
Нащадки щурів опромінених у дозі 1,0 Гр	Самці	456,11 ± 10,16	130,21 ± 6,04 * ¹ , * ³	3,54 ± 0,09	33,76 ± 1,13
	Самки	383,99 ± 7,8 * ²	145,45 ± 4,88 * ⁴	2,65 ± 0,06	16,55 ± 0,67

Примітки:

- *¹ $p > 0,05$ порівняно з інтактними самцями.
- *² $p > 0,05$ порівняно з інтактними самками.
- *³ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр щурів.
- *⁴ $p > 0,05$ порівняно з самцями, отриманими від опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр щурів.

Порівняно з 365-денними самками, отриманими від попередників опромінених у дозі 0,75 Гр, у самок, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр

попередників, сироватка крові містила на 14% менше білкових SH-груп, на 11,7% більше дисульфідних груп, що призводило до зменшення редокс-потенціалу на 23,4%. Поруч з цим, на 33,8% був меншим вміст небілкових SH-груп. Узагальнюючи ці зміни, а також характер зрушень у тіол-дисульфідній системі 365-денних самок, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів (розділ 4.2), можна припустити більшу стабільність і функціональну спроможність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності останніх.

Нарешті, по відношенню до 365-денних самців, отриманих від щурів опромінених у дозі 1,0 Гр, у самок цієї ж групи у сироватці крові містилося на 15,8 і 51% менше білкових і небілкових SH-груп відповідно; вміст SS-груп мав тенденцію до збільшення і співвідношення білкових SH-груп до SS-груп було нижчим на 25,1%. Але, слід підкреслити, що за фізіологічних умов виявлені аналогічні за направленістю статеві відмінності тіол-дисульфідної системи (розділ 3.1). У свою чергу, у 365-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр щурів порівняно з 90-денними, відбувалося зниження рівня і небілкових і білкових SH-груп. При цьому, у сукупності з відсутністю вікових змін дисульфідних груп, останнє спричиняло зменшення редокс-потенціалу. У результаті цих змін, по відношенню до інтактних одновікових щурів, вміст білкових SH-груп сироватки крові зменшувався на 14,5%, дисульфідних не змінювався, що викликало зменшення редокс-потенціалу на 12,4%. При цьому, сироватка крові містила на 22,1% більше небілкових SH-груп. Нарешті, по відношенню до 365-денних самців, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів, у самців, нащадків тварин з сумарною дозою γ -опромінення 1,0 Гр, сироватка крові містила на 25,3 і 10,3% більше сульфгідрильних груп відповідно білкового і небілкового походження, однаковий вміст дисульфідних груп і як слідство цих зрушень вище на 31,1% співвідношення білкових SH-груп SS-груп.

Накінець, у 365-денних самців - нащадків щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, виявлені більш глибокі морфофункціональні зрушення у тканинах печінки

порівняно з одновіковими самцями, отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів. Так, у самців цієї групи більш виражена дискомплексція печінкових балок (рис. А. 12). Окрім інфільтрації порталних трактів, навколо центральних вен виявлені великі, завбільшки 2-3 діаметри вени, лімфоцитарногістіоцитарні інфільтрати. Значно більше гепатоцитів з ознаками дегенеративних змін. Виражений поліморфізм ядер. Значна кількість ядер з ознаками каріолізису. У свою чергу, у самок даної групи, порівняно з самцями, виразність дистрофічних змін у паренхимі печінки суттєво менша і навпроти, більша у порівнянні з самками отриманими від опромінених у дозі 0,75 Гр щурів.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок перед спарюванням у сумарній дозі 1,0 Гр призводить до виражених змін у тіол-дисульфідній системі тканин печінки і сироватки крові їх нащадків. Зрушення на молекулярному рівні супроводжуються не менш виразними структурно-функціональними змінами тканин печінки. Слід звернути увагу на те, що виявлені зрушення мають більшу глибину, ніж у тварин, отриманих від попередників, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр. Накінець, у самців дистрофічні зміни паренхіми печінки і зрушення у тіол-дисульфідній системі тканин печінки і сироватки крові більш виражені, ніж у самок.

РОЗДІЛ 5

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Як показав аналіз літературних джерел (Розділ I), на сьогоднішній день відомо, що статеві диференційовка, охоплює увесь організм і в першу чергу інтегративні системи, які забезпечують його цілісність і об'єднують його адаптивні і репродуктивні властивості [107]. До важливих інтегративних органів, поруч з мозком та ендокринними залозами, відносять печінку. До того ж, відома залежність від статі багатьох її функцій. Поруч з цим, не викликає сумніву значна роль тіол-дисульфідної системи у адаптивних реакціях організму людини та тварин і роль печінки у підтриманні гомеостазу зазначеної системи [14, 121, 122]. Окрім статевого фактору, функціональний стан систем резистентності організму залежить від віку тварин і людини [5]. Натомість, у доступній літературі відомості про вікові та статеві особливості тіол-дисульфідної системи вкрай обмежені, а існуючі не дозволяють всебічно охарактеризувати згадані особливості. Отже, не можна виключити різний характер її реагування у різновікових та різностатевих тварин на вплив різних за інтенсивністю та природою факторів зовнішнього середовища. Необхідно підкреслити, що деякі процеси, що протікають у печінці дорослого організму, здатні тимчасово проявляти статевий диморфізм лише при екстремальних фізіологічних та патологічних умовах, зокрема вагітності [107].

Проведені дослідження виявили статеві та вікові закономірності у змінах тіол-дисульфідної системи на різних етапах онтогенезу щурів. Особливо привертає увагу стан тіолзалежних систем, які забезпечують неспецифічну резистентність у період новонародженості, статевого дозрівання, статевої зрілості, старіння. Характер виявлених змін у тіол-дисульфідній системі тканин печінки новонароджених щурят свідчить про активацію систем адаптації. Підтримання, при цьому, високого рівня функціональноактивних білкових SH-груп на незмінному рівні, зростання тіол-дисульфідного співвідношення свідчить про достатню функціональну спроможність

тіолзалежних систем, які забезпечують неспецифічну резистентність організму.

Надалі, до початку періоду статевої зрілості, більшість показників, що характеризують тіол-дисульфідну систему не відрізнялись у самців і самок. Виключенням був такий інтегральний показник, як співвідношення білкових SH- до SS-груп, що може бути пояснене тим, що статева диференційовка функцій печінки починається вже в ембріональний період. При досягненні статевої зрілості тіол-дисульфідна система тканин печінки і сироватки крові у самців і самок суттєво відрізняється. При цьому, слід звернути увагу на переважання у самок вмісту SS-груп, порівняно з самцями, а у самців - білкових SH-груп. Переважання у самок за фізіологічних умов SS-груп, на нашу думку, може свідчити про більш високі функціональні резерви тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Останнє припущення узгоджується з даними літератури про наявність різко підвищених тонічних здібностей адаптивних систем у самців і переважання адаптивних резервів у самок [107].

Підсумовуючи вищесказане, можна, з великим ступенем вірогідності, стверджувати наявність різних механізмів функціонування тіолзалежних систем самців і самок за фізіологічних умов. У першу чергу привертає увагу тіолзалежна ланка антиоксидантної системи та інших систем, які забезпечують неспецифічну резистентність організму, і статеві особливості їх функціонування за умов дії несприятливих факторів оточуючого середовища, зокрема радіації.

Як показав аналіз літературних джерел (розділ I), існують поодинокі дані про вплив малих доз іонізуючої радіації на стан тіол-дисульфідної системи ссавців. Разом з тим, доведена неправомірність екстраполяції дозової залежності радіаційноіндукованих ушкоджень від великих доз радіації в область малих. Тому, на відміну від змін, що виникають у тіол-дисульфідній системі за умов дії великих доз γ -опромінення, малі дози можуть викликати

якісно і кількісно інші зрушення у зазначеній системі. Дійсно, проведені дослідження виявили певну закономірність у зрушеннях тіол-дисульфідної системи за умов дії малих доз радіації, яка відрізняється від такої при значних дозах.

Так, направленість змін білкової ланки тіол-дисульфідної системи тканин печінки не відрізнялася при опроміненні у дозі 0,75 та 1,0 Гр, те саме можна сказати і про небілкову ланку. А саме, зменшення концентрації білкових сульфгідрильних груп, збільшення рівня дисульфідних, зниження редокс-потенціалу, зростання вмісту небілкових SH-груп. Характер цих зрушень може свідчити про вільнорадикальне окислення SH-груп, і перетворення їх у дисульфідні у реакціях тіол-дисульфідного обміну. Внаслідок цього відбувається зсув редокс-потенціалу у бік окислених продуктів.

Як зазначалося раніше (Розділ I), основні біологічні функції SH-груп та SS-груп можна поділити на структурні, функцію підтримання окислювально-відновного балансу клітин, включення і виключення певних типів біологічної активності [17]. Тобто, зазначені зрушення можуть свідчити про те, що у опроміненних тварин знижується буферна ємність білкової ланки тіолзалежних антирадикальних систем; що у свою чергу призводить до зниження неспецифічної резистентності організму [122]. Зменшення вмісту білкових SH-груп може викликати і обумовити зменшення функціональної активності тіолових ферментів. Збільшення вмісту білкових дисульфідних груп може призводити до конформаційних зрушень у білкових молекулах, які, не виключено, супроводжуються змінами їх активності [2, 10]. Отже, виявлені радіаційноіндуковані зрушення у тіол-дисульфідній системі можуть безпосередньо або опосередковано викликати негативні зміни вже на клітинному рівні. Це можливо, враховуючи роль сіркомістких функціональних груп у структурі хроматину [13, 131, 132], клітинних мембран [94, 105], клітинному поділі [3, 42]. Дійсно, як згадувалося раніше, такі зрушення були

виявлені у паренхімі печінки радіаційноуражених щурів (Розділ 3.2; Розділ 3.3).

Привертають до себе увагу кількісні відмінності у концентрації сіркомістких функціональних груп у тканинах печінки самців і самок, опромінених у дозі 0,75 та 1,0 Гр. Так, у самців майже в чотири рази інтенсивніше відбувалося збільшення вмісту дисульфідних груп білкового походження, ніж у самок. На нашу думку, це вказує на більш значний зсув рівноваги у бік окислених продуктів у реакціях тіол-дисульфідного обміну. Отже, однаковий за інтенсивністю вплив іонізуючої радіації потребує для нейтралізації його наслідків більшої активності тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Завдяки, в основному, коливанням рівня дисульфідних груп у самців менший порівняно з самками редокс-потенціал, отже менша буферна ємність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

Як відомо, радіорезистентність ссавців корелює, за умов дії малих доз радіації, з рівнем небілкових тіолових сполук [14]. Отже, можна припустити більшу радіорезистентність самок, порівняно з самцями, виходячи з майже втричі більшого приросту, порівняно з самцями, вмісту небілкових SH-груп у тканинах печінки. Останнє має неабияке значення, адже низькомолекулярні тіоли, що синтезуються у печінці, приймають участь у забезпеченні захисту від вільних радикалів, не тільки усього організму [111], а й безпосередньо тканин печінки.

Слід зауважити, що іонізуюче випромінювання у дозі 0,75 Гр призводить до майже однакового зниження вмісту білкових SH-груп у тканинах печінки самців і самок. Природно, ці зміни супроводжуються процесами направленими на відновлення вмісту SH-груп. З цього приводу привертає увагу більш інтенсивне зростання концентрації небілкових SH-груп у тканинах печінки самок. На нашу думку, це свідчить про більшу радіорезистентність самок. Більшу резистентність самок підтверджують і зрушення виявлені у сироватці

крові. Як відомо [108, 194], низькомолекулярні тіоли синтезуються у печінці і надходять до загального кровообігу. Таким чином, за показниками, що характеризують тіол-дисульфідну систему, можна оцінити синтетичну діяльність печінки. Як відомо [122], за тіол-дисульфідним співвідношенням сироватки крові можна оцінити стан неспецифічної резистентності організму. Отже, дослідження показників тіол-дисульфідної системи сироватки крові має неабияке значення. Наші дослідження виявили більш глибокі зрушення у тканинах печінки самців, опромінених у дозі 0,75 Гр, порівняно з самками. У свою чергу, це позначилося і на стані тіол-дисульфідної системи сироватки крові.

Як виявили проведенні дослідження іонізуюче випромінювання у дозі 0,75 Гр викликало більш глибокі зміни показників тіол-дисульфідної системи самців. Так, відмічалось зростання вмісту дисульфідних груп, завдяки чому знижувався редокс-потенціал. Але, вміст сульфгідрильних груп білкового походження не змінювався. Тобто, тривале опромінення викликало окислення SH-груп до SS-груп, але, завдяки дії репаративних систем, кількість білкових сульфгідрильних груп не змінювалась. У свою чергу, у самок, опромінених у дозі 0,75 Гр, не зважаючи на зростання вмісту дисульфідних груп, редокс-потенціал залишався незмінним. Останнє забезпечувалося підвищенням концентрації SH-груп білкового походження. Тобто, захисні механізми забезпечують підтримання належного вмісту SH-груп і навіть реактивне його збільшення, підтримання буферної ємності тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок щурів у сумарній дозі 0,75 Гр призводило до суттєвих зрушень показників тіол-дисульфідної системи тканин печінки і сироватки крові. У сукупності ці зрушення можуть свідчити про більшу радіорезистентність самок порівняно з самцями. Слід зазначити, що у самців опромінення у сумарній дозі 0,75 Гр

викликало більш глибокі морфофункціональні зрушення паренхіми печінки ніж у самок.

У свою чергу, у тканинах печінки самців і самок, опромінених у дозі 1,0 Гр, за напрямком відбувалися зміни схожі на такі у тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр. Кількісно означені зміни у тканинах печінки самців були дещо іншими, ніж у самок, опромінених у дозі 0,75 Гр. Привертає увагу відсутність достовірних змін вмісту сульфгідрильних груп у тканинах печінки, а наявність лише тенденції до їх збільшення. На нашу думку, це може бути пояснено суттєвими конформаційними радіаційноіндукованими зрушеннями у білкових молекулах, змінами мікрооточення тіолових функціональних груп. Тому, ми вважаємо, що виявлені зміни не можуть бути показником меншої ушкоджуючої дії γ -опромінення у сумарній дозі 1,0 Гр на тіол-дисульфідну систему, порівняно з таким при опроміненні у дозі 0,75 Гр. На користь останнього можуть свідчити більш глибокі морфофункціональні зрушення тканин печінки самців, опромінених у дозі 1,0 Гр. Особливо яскраво це простежується на периферії печінкової часточки, де зосередженні ферменти антиоксидантної системи, глутатіон. До того ж у сироватці крові самців, опромінених у дозі 1,0 Гр, порівняно з одностатевими тваринами, опроміненими у дозі 0,75 Гр, виявлено більш значне зниження буферної ємкості білкової і небілкової ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

У той же час, привертає увагу той факт, що у тканинах печінки самок, порівняно з самцями, опроміненими у дозі 1,0 Гр, відбувається більш значне зростання вмісту білкових сульфгідрильних груп, зниження редокс-потенціалу, що може свідчити про більше виснаження білкової частини тіол-дисульфідної системи, і більшу ушкоджуючу дію опромінення у зазначеній дозі на тканини печінки самок. Але, привертає увагу те, що, по-перше, зберігається майже на такому ж рівні, як і у інтактних тварин, співвідношення небілкових сульфгідрильних груп між самцями та самками. По-друге, у

сироватці крові самок виявлені менш глибокі зрушення у тіол-дисульфідній системі, ніж у самців. Так, велике значення для організму має реактивне зростання вмісту білкових сульфгідрильних груп; підтримання редокс-потенціалу на незмінному рівні. Таким чином, хоча тіолзалежні механізми резистентності тканин печінки у самок, за умов опромінення у дозі 1,0 Гр, діють з більшою напругою ніж у самців, виходячи із показників тіол-дисульфідної системи сироватки крові, вони підтримують її на рівні, який більше наближений до фізіологічного, ніж у самців. Слід зазначити, що тривале γ -опромінення у дозі 1,0 Гр викликає значно глибші зміни у тіол-дисульфідній системі сироватки крові самців ніж ті, що виникають при опроміненні у дозі 0,75 Гр. У самок такої помітної різниці не виявлено, але, все ж таки, і у них опромінення у дозі 1,0 Гр викликає більш глибокі зрушення тіол-дисульфідної системи сироватки крові.

Таким чином, тривале тотальне γ -опромінення викликає значні зрушення у тіол-дисульфідній системі тканин печінки і сироватки крові самців і самок. При чому, ці зрушення більш виражені у тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр, ніж у тих, що були опромінені у дозі 0,75 Гр. Нарешті, самки виявилися за досліджуваними показниками більш резистентними, ніж самці. Стан тіол-дисульфідної системи був визначений на 12-ту добу після завершення опромінення, у цей же період відбувалося спарювання дослідних тварин. Тобто, процеси запліднення, початкові стадії, можливо і увесь ембріогенез будуть проходити за умов, що відрізняються від фізіологічних. Натомість відомо, що ушкодження тканин печінки вагітних самок в експерименті викликає низку компенсаторно-приспосувальних і дистрофічних змін відповідних клітин печінки ембріонів [19]. Дійсно, в експерименті виявлені дистрофічні зміни гепатоцитів, пригнічення кровотворення у печінці 18-денних ембріонів, отриманих від опромінених перед спарюванням самок.

Виявлені дистрофічні зміни тканин печінки і дводенних щурят. Морфофункціональні зрушення у паренхімі печінки супроводжувалися і значними зсувами показників тіол-дисульфідної системи.

Отримані дані свідчать про те, що, дійсно, існує описана у літературі тканинспецифічна залежність між ураженням печінки самок і їх зародків [19]. Про це свідчить інший стан тіол-дисульфідної системи тканин печінки зародків опромінених тварин. У даному випадку не виключені генетично-детерміновані порушення, але у цей час у забезпеченні нормальної життєдіяльності зародків велике значення має, стан вагітної самки. Як показали проведені дослідження, буферна ємкість білкової ланки тіол-дисульфідної системи наближена до контрольних показників у зародків тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр, в той час, як у зародків, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр - відбувається значне її виснаження. Причому, у зародків першої групи зменшення вмісту білкових сульфгідрильних груп супроводжувалося зменшенням дисульфідних груп. Тобто, у цьому випадку відбувається компенсація вмісту SH-груп за рахунок відновлення дисульфідних груп. Тобто, розвиток зародку за нефізіологічних умов призводить до змін у його тіол-дисульфідній системі, по-перше. По-друге, включаються системи репарації, які, наскільки це можливо, підтримують гомеостаз у білковій ланці тіол-дисульфідної системи.

У той же час, у зародків тварин, опромінених у дозі 1,0 Гр, концентрація білкових SH-груп теж знижується, порівняно з інтактними зародками, причому інтенсивніше ніж у зародків тварин, опромінених у дозі 0,75 Гр. Слід звернути увагу на те, що зменшення вмісту білкових SH-груп супроводжувалося зростанням кількості SS-груп. Тобто, рівновага у реакціях тіол-дисульфідного обміну була зсунута у бік окислених продуктів. Отже, інтенсивність процесів відновлення SS-груп була значно меншою, чим у тканинах печінки зародків самок, опромінених у дозі 0,75 Гр. Кардинально відрізнявся і вміст небілкових SH-груп у тканинах печінки. Якщо у зародків, отриманих від опромінених у дозі 0,75 Гр тварин, вміст небілкових SH-груп зростав, то у отриманих від

щурів опромінених у дозі 1,0 Гр зменшувався, що свідчило про виснаження небілкової ланки тіолзалежних механізмів резистентності у останніх.

Тобто, у зародків, отриманих від опромінених у дозі 0,75 і 1,0 Гр щурів, несприятливі умови оточуючого середовища призводять до суттєвих змін у тіол-дисульфідній системі. Але, у першому випадку відбувається активація систем неспецифічної резистентності, спрямована на підтримку рівноваги у тіол-дисульфідній системі. У другому, така активація відсутня. Тобто, тривале тотальне γ -опромінення самців і самок перед спарюванням призводить до значних структурно-функціональних зрушень у тіол-дисульфідній системі їх нащадків, причому виражена їх залежність від дози опромінення.

Паралельно з цим відбувалися і дистрофічні зміни у паренхімі печінки, пригнічення процесів кровотворення, причому ці зрушення були більш вираженими у нащадків щурів опромінених у дозі 1,0 Гр.

Отже, якісно інший стан тіол-дисульфідної системи зародків опромінених тварин, пригнічення процесів кровотворення, дистрофічні зміни у печінці не виключали якісно іншої реакції цих зародків на фізіологічні перевантаження у ході пологів та пристосування новонароджених щурят до нових умов оточуючого середовища. У результаті проведених досліджень, дійсно, були виявлені відмінності у стані тіол-дисульфідної системи інтактних новонароджених щурят і щурят, отриманих від опромінених попередників. Якщо означені процеси у інтактних новонароджених щурят супроводжувалися зростанням буферної ємності білкової ланки тіолзалежних систем резистентності організму, то у новонароджених щурят, отриманих від опромінених попередників, відбувалося значне її зниження. Відбувався значний зсув рівноваги у реакціях тіол-дисульфідного обміну у бік окислених продуктів, при чому, у новонароджених щурят, отриманих від опромінених у дозі 1,0 Гр тварин, він був більш вираженим. Якісно іншою була і реакція небілкової ланки тіол-дисульфідної системи новонароджених щурят, отриманих від опромінених попередників, у ході пристосування до нових умов

оточуючого середовища. У цих тварин відбувалося виснаження небілкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності тканин печінки, причому глибина його була більшою у щурят - нащадків тварин, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Описані зміни пов'язані зі структурно-функціональними зрушеннями тканин печінки, характер яких свідчить про зниження синтетичної активності гепатоцитів, їх дистрофічних змінах.

На наступних етапах онтогенезу у самців і самок, отриманих від опромінених попередників виявлена більша інертність тіол-дисульфідної системи, виходячи з порівняно меншої амплітуди коливань у різні вікові періоди вмісту SH-груп білкового походження. Причому глибина зрушень була більше виражена у самців. Тобто, можна припустити меншу активність не тільки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності, а і усіх шляхів обміну речовин в яких активну участь приймають тіолові сполуки. Паралельно з цим у нащадків опромінених щурів значно вищим був вміст дисульфідних груп білкового походження, що може свідчити про більш високу активність вільнорадикальних процесів в організмі цих тварин, недостатню їх регуляцію. Можна припустити генетично детермінований синтез білкових молекул з більшою кількістю дисульфідних зв'язків. Як відомо, зростання у білках кількості більш міцних дисульфідних зв'язків зменшує їх функціональну активність. У сукупності описані зрушення призводили до того, що практично на всіх досліджуваних етапах онтогенезу у нащадків опромінених тварин редокс-потенціал тканин печінки і сироватки крові був нижчим, ніж у одновікових одностатевих щурів. На нашу думку це може свідчити про знижену буферну ємність систем неспецифічної резистентності, отже меншу резистентність таких організмів до дії несприятливих факторів різної природи.

Слід звернути увагу на деякі особливості зрушень показників тіол-дисульфідної системи експериментальних тварин. По-перше, опромінення самців і самок перед спарюванням призводить до більш виражених негативних наслідків у їх нащадків - самців і менш виражених у самок. По-друге,

зростання дози опромінення попередників викликає у їх нащадків більш глибокі зрушення як у тіол-дисульфідній системі, так і морфофункціональної структури тканин печінки.

Не менш глибокі зрушення виявлені у нащадків опромінених щурів і з боку небілкової ланки тіол-дисульфідної системи. Причому вміст небілкових SH-груп у тканинах печінки нащадків щурів, опромінених у дозі 1,0 Гр, на більшості етапів онтогенезу був вищим, ніж в інших групах дослідних тварин. Це може свідчити про денатураційні зміни білкових молекул, які супроводжуються вивільненням небілкових тіолових сполук. Тобто, цим підтверджується той факт, що у цих тварин може мати місце генетично детермінований синтез дефектних білків, які нездатні виконувати свої функції на необхідному рівні. З іншого боку, не виключена активація небілкової ланки тіолзалежних систем неспецифічної резистентності, внаслідок чого у тканинах підвищується вміст небілкових SH-груп. Якщо це має місце, то можна думати про недостатню функціональну спроможність цих систем. У даному випадку індикатором буде нездатність підтримувати у тканинах необхідний вміст білкових тіолових сполук, нейтралізувати активні форми кисню.

Отже, проведені дослідження та їх аналіз дозволяють зробити висновки щодо стану тіол-дисульфідної системи тканин печінки самців і самок щурів за фізіологічних умов, за умов тривалого впливу низьких доз іонізуючої радіації та у нащадків опромінених щурів; визначити характер взаємозв'язку між змінами тіол-дисульфідної системи та морфофункціональними особливостями тканин печінки тварин зазначених груп.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення проблеми успадкованих наслідків тривалого впливу на організм ссавців іонізуючого випромінювання у малих дозах, що виявляється у з'ясуванні закономірностей змін у тіол-дисульфідній системі тканин печінки та сироватці крові у пізньому ембріогенезі та постнатальному онтогенезі щурів - нащадків опромінених попередників, та визначенні їх ролі у структурних зрушеннях тканин печінки. Отримані результати дослідження можуть бути використані для розробки методів корекції негативних проявів радіаційноіндукованих ушкоджень геному в організмі нащадків, опромінених попередників.

1. За фізіологічних умов тіол-дисульфідна система тканин печінки характеризується високим вмістом білкових і небілкових сульфгідрильних груп, високим редокс-потенціалом білкових молекул. Адаптація до нових умов оточуючого середовища у новонароджених інтактних щурят супроводжується активацією тіолзалежних систем неспецифічної резистентності.

2. У інтактних тварин до 45-ї доби постнатального розвитку відбувається поступове зниження вмісту у тканинах печінки білкових і небілкових SH-груп, надалі їх вміст збільшується і зберігається на певному рівні на протязі більшої частини життя. Кількість білкових SS-груп на всіх досліджуваних етапах онтогенезу у тканинах печінки практично не змінюється. З початком періоду статевого дозрівання вміст сіркомістких функціональних груп у тканинах печінки і сироватці крові самців і самок суттєво відрізняється, що свідчить про статеву диференціацію тіол-дисульфідної системи. Самцям притаманний більш високий вміст білкових SH-груп, самкам - білкових SS-груп у печінці і сироватці крові. Наведене свідчить про більш високу функціональну активність тіолзалежних систем, але менші їх функціональні резерви у самців.

3. На 12-ту добу по завершенні опромінення, у тканинах печінки відбувається виснаження тіолзалежних систем неспецифічної резистентності,

причому в більшій мірі при опроміненні у дозі 1,0 Гр, ніж 0,75 Гр. За направленістю у сироватці крові зміни співпадають з такими у тканинах печінки. Глибина зрушень у тканинах печінки і сироватці крові самців більша, ніж у самок, не дивлячись на те, що у самців за фізіологічних умов функціональна активність тіолзалежних систем неспецифічної резистентності порівняно висока. У сукупності це свідчить про більшу радіорезистентність самок порівняно з самцями.

4. У зародків опромінених тварин буферна ємкість тіолзалежних систем неспецифічної резистентності менша ніж у інтактних зародків. У новонароджених щурят - нащадків опромінених тварин пристосування до нових умов оточуючого середовища супроводжується різким зміщенням у бік окислених продуктів реакцій тіол-дисульфідного обміну і виснаженням тіолзалежних систем неспецифічної резистентності. Більш глибокі і стійкі зрушення виявлені у нащадків тварин, які були опромінені в сумарній дозі 1,0 Гр.

5. В онтогенезі тварин, отриманих від самців і самок, що зазнали тривалого впливу тотального γ -опромінення у сумарній дозі 0,75 і 1,0 Гр, направленість вікових змін білкових SH-груп співпадає з такими у інтактних тварин, але вони є меншими за амплітудою. При цьому, практично в усіх досліджуваних групах тварин, тканини печінки містили більше SS-груп і мали нижчий редокс-потенціал. У сукупності виявлені зрушення вказують на більшу інертність білкової ланки тіол-дисульфідної системи і меншу буферну ємкість тіолзалежних систем неспецифічної резистентності щурів, отриманих від опромінених тварин. Виявлено, що тіол-дисульфідна система тканин печінки і сироватки крові взаємопов'язані. Зміни стану тіол-дисульфідної системи тканин печінки супроводжуються реактивними змінами тіол-дисульфідної системи сироватки крові.

6. Виснаження білкової і небілкової ланок тіолзалежних систем неспецифічної резистентності самців і самок щурів супроводжується

ушкодженням морфологічної структури тканин печінки. Збільшення тривалості і дози γ -опромінення викликає більш виразні зрушення структури тканин печінки. Тривале тотальне γ -опромінення щурів перед спарюванням обумовлює структурно-функціональні порушення у паренхимі печінки щурят першого їх покоління, які зберігаються на всіх досліджуваних етапах онтогенезу. Збільшення дози і тривалості опроміненні попередників призводить до більш глибоких зрушень морфофункціональних властивостей тканин печінки їх потомства. Глибина структурних зрушень у тканинах печінки нащадків опромінених щурів залежить від стану тіол-дисульфідної системи організму останніх. Більш глибокі зрушення у тіол-дисульфідній системі самців супроводжуються значно виразнішими змінами морфофункціональних властивостей тканин печінки порівняно з самками.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамченко В.В., Костюшов Е.В., Щербина Л.А. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. - СПб.: Logos, 1995. - 120 с.
2. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. - Л.: Наука, 1985. - 317 с.
3. Алов И.А., Аспиз М.Е., Рыбак Л.Е. Значение тиоловых групп белка для возникновения патологических митозов в опухолевых клетках // Бюл. эксп. биол. и мед. - 1967. - Т. 63, № 2. - С. 94 - 97.
4. Антиоксидантная активность сыворотки крови / Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 1999. - № 2. - С. 15 - 22.
5. Антиоксидантная система, онтогенез и старение (обзор) / О.Н. Воскресенский, И.А. Жутаев, В.Н. Бобырев, Ю.В. Безуглый // Вопросы медицинской химии. - 1982. - № 1. - С.14 - 27.
6. Артишевский А.А., Леонтьук А.С., Слука Б.А. Гистология с техникой гистологических исследований. - Минск.: Вышэйшая школа, 1999. - 236 с.
7. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелєвський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біох. журнал. - 1994. - Т. 66, № 4. - С. 3 – 18.
8. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии: В 2 ч. / Ин-т нейрохирургии им. А.П. Ромоданова АМН; Под ред. Ю.А. Зозули. - К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. - Ч. 1.- 202 с.
9. Барабой В.А., Олейник С.А. Стресс в развитии радиационного поражения. Роль регуляторных механизмов // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1999. - Т. 39, № 4. - С. 438 - 443.
10. Белицер В.А. Макроструктура и денатурационные превращения белков // Укр. біох. журнал. - 1962. - Т. 34, № 2. - С. 290 – 318.

11. Бекенева Г.П., Пархоменко И.М., Бурлакова Е.В. О механизме различной радиорезистентности клеток млекопитающих, культивируемых *in vitro* // Радиобиология. - 1971. - Т. 11, № 1. - С. 48 – 52.
12. Биохимические изменения в синапсах головного мозга при γ -облучении мышей малой дозой с разной интенсивностью / Молочкина Е.М., Джаман У.М., Озерова И.Б. и др. // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1995. - Т. 35, № 6. - С. 860 – 868.
13. Блюм Я.Б., Цудзевич Б.А., Кучеренко Н.Е. Роль модификаций структуры гистонов в активации хроматина. 1. Фосфорилирование, АДФ-рибозилирование и обратимое окисление тиольных групп гистонов // Молекулярная биология. - К.: Наукова думка. - 1982. - Вып. 31. - С. 35 – 45.
14. Бурлакова Е.Б., Иваненко Г.Ф., Шишкина Л.Н. Вклад антиоксидантов и эндогенных тиолов в обеспечение радиорезистентности организма // Изв. АН СССР. Сер. биологическая. - 1985. - № 4. - С. 588 – 593.
15. Бусыгина О.Г., Григорьев Н.Б., Северина И.С. Роль SH-групп гуанидителиолов - новых субстратов NO-синтетазы- в стимуляции активности растворимой гуанилатциклазы // Биохимия. - 1996. - Т. 61, № 1. - С. 119 - 125.
16. Бычковская И.Б., Комаров Е.И. Особое радиационное наследуемое нестохастическое повреждение на клеточном уровне организации // Радиобиология. - 1990. - Т. 30, № 4. - С. 467 - 476.
17. Введение в количественную цитохимию / Под ред. В.Я. Бродского, В.Я. Полякова: Пер. с англ. - М.: Мир, 1969. - 439 с.
18. Верин В.К. К возрастной морфологии печени крыс // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1970. - № 2. - С. 40 - 44.
19. Верин В.К. Морфофункциональные связи между тканями печени матери и плода и их изменения в эксперименте // Морфология. - 1993. - № 9. - С. 10.
20. Виленчик М.М. Нестабильность ДНК и отдаленные последствия воздействия излучений. - М.: Энергоатомиздат, 1987. - 192 с.

21. Воробцова И.Е. Влияние облучения родителей на физиологическую полноценность и риск канцерогенеза у потомства первого поколения организмов разных видов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.01/Центр. НИИ рентгенорадиологии ф.т. - Л., 1988. - 49с.

22. Гемолитическое действие тиоловых ядов // Некоторые видовые биохимические особенности эритроцитов с высокой и низкой резистентностью к гемолитическому действию окислителей / Белозерова Л.А., Колмаков Т.Б., Лиэлуп Т.Б. и др. // Тиоловые соединения в биохимических механизмах патологических процессов / Труды ЛСГМИ. - Т. 125. - Л.: СГМИ, 1979. - С. 21 - 27.

23. Гичев Ю.П. Роль печени в стрессорных реакциях организма // Успехи физиологических наук. - 1990. - Т. 21, № 1. - С. 23 – 46.

24. Годлевський Л.С., Костюшов В.В., Мандрієвська Н.М. Оцінка стану неспецифічної резистентності організму за тіол-дисульфідним співвідношенням крові. - Одеса: Маяк, 1997. - 32 с.

25. Гончаренко Е.Н. Гипотеза эндогенного фона радиорезистентности. - М.: Изд-во Московского университета, 1980. - 176 с.

26. Горішина О.В., Цебржинський О.І., Горішний Б.М. Зміни прооксидантно-антиоксидантної системи печінки в експерименті при дії тривалого фракційного гамма-опромінення в залежності від вікового аспекту // Український медичний альманах. - 2001. - Т. 4, № 1. - С. 53 - 55.

27. Горішина О.В., Цебржинський О.І., Горішний Б.М. Особливості стану енергетичного метаболізму в печінці білих щурів в залежності від віку під впливом дії тривалого фракційного гамма-опромінення // Український медичний альманах. - 2000. - Т. 3, № 5. - С. 44 - 46.

28. Граевский Э.Я. О роли сульфгидрильных групп в определении естественной радиочувствительности и ее искусственного варьирования // Радиобиология. - 1967. - Т. 7, № 5. - С. 715 – 727.

29. Граевский Э.Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. - М.: Атомиздат, 1969. - 145 с.

30. Граевский Э.А., Корчак Л.И. О содержании сульфгидрильных групп в тканях мышцы в норме и после общего воздействия рентгеновских лучей в смертельных дозах // Докл. АН СССР. - 1955. - Т. 102, № 5. - С. 939 – 941.

31. Губський Ю.І. ДНК ядерного хроматину: вільнорадикальні механізми хімічного пошкодження // Медична хімія. - 1999. - Т. 1, № 1. - С. 7 - 14.

32. Диагностическая эффективность морфометрических признаков при дистрофии печени / Гомоляко И.В., Донцова Л.С., Швадчин И.А. и др. // Лабораторна діагностика. - 1998. - № 2. - С. 55 - 57.

33. Дозовая зависимость цитогенетических повреждений и адаптивный ответ клеток млекопитающих при действии ионизирующего излучения в малых дозах / Шмакова Н.Л., Абу Зеид, Фадеева Т.А. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2000. - Т. 40, № 4.- С. 405 - 409.

34. Донцова Г.В. О влиянии радиозащитных агентов на содержание белковых SH-групп в клетках печени и эпителии крипт тонкого кишечника мышей // Радиобиология. - 1972. - Т. 12, № 5. - С. 760 – 763.

35. Дубинин Н.Н. Общая генетика. - М.: Наука, 1986. - 559 с.

36. Жижина Г.П. Связь структурных характеристик ДНК эукариот и ее чувствительности к действию малых доз ионизирующей радиации // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 41 - 48.

37. Жестяников В.Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение. - Л.: Наука, 1979. - 285 с.

38. Засухина Г. Д. Радиоадаптивный ответ в клетках человека, различающихся по репарации ДНК // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 58 - 63.

39. Значение глутатионовой противоперекисной системы в реализации компенсаторных механизмов при γ -облучении / И.В. Савицкий, В.К. Напханюк, Е.М. Васютинская, С.Г. Курбатов // Восстановительные и

компенсаторные процессы при лучевых поражениях. - Л.: Атомиздат. - 1986. - С. 78 - 79.

40. Зотова М.Г. Влияние унитиола на выделение полония и на содержание сульфгидрильных групп в белках некоторых органов у крыс, пораженных полонием // Тиоловые соединения в медицине. - К.: Государственное изд-во УССР, 1959. - С. 223 - 229.

41. Изергина А.Г. Влияние унитиола на высшую нервную деятельность белых крыс, пораженных полонием // Тиоловые соединения в медицине. - К.: Государственное изд-во УССР, 1959. - С. 230 - 239.

42. Изменения содержания тиоловых групп в профазе митоза нормальных и опухолевых клеток / И.А. Алов, М.Е. Аспиз, Л.П. Зусева, И.В. Урываева // Бюл. эксп. биол. и мед. - 1969. - Т. 67, № 2. - С. 88 - 90.

43. Ильин Б.А., Борисов С.В. Отдаленные биологические эффекты комбинированного действия радионуклидов различной тропности. - М.: Энергоатомиздат, 1991. - 215 с.

44. Исследование действия сублетальных доз ионизирующего излучения на эндогенный фон радиорезистентности / Кудряшов Ю.Б., Гончаренко Е.Н., Антонова С.В. и др. // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1997. - Т. 37, № 3. - С. 372 - 376.

45. Карташова О.Я., Максимова Л.А. Функциональная морфология печени. - Рига: Зинатне, 1979. - 118 с.

46. Керимов Б.Ф. Уровень различных типов сульфгидрильных групп в крови и печени экспериментальных животных при развитии лучевого поражения // Известия АН Азербайджанской ССР. Серия биологич. наук. - 1981. - № 3. - С. 121 - 124.

47. Киндзельский Л.П., Демина Э.А. Анализ заболеваемости у ликвидаторов последствий Чернобыльской аварии // Врачебное дело. - 1998. - № 1. - С. 7 - 11.

48. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии. - 1989. - Т. 107, № 2. - С. 179 - 194.

49. Коломийцева И.К. Регуляция обмена холестерина при повреждении организма ионизирующей радиацией и другими агентами // Успехи современной биологии. - 1983. - Т. 96, № 3 (6). - С. 381 - 393.

50. Коломийцева И.К., Васильев А.В. Радиационные нарушения метаболизма липидов мембранных образований клетки // Радиационная биохимия. - М.: Атомиздат, 1975. - С. 149 – 164.

51. Константинова М.М., Донцова Г.В., Смирнова И.Б., Рахманина О.Н. Значение эндогенного глутатиона для реализации кислородного эффекта на клетках костного мозга // Радиобиология. - 1986. - Т. 26, № 5. - С. 674 - 677.

52. Корогодина В.И. Каскадный мутагенез // Сообщения ОИЯИ. Дубна, 1992. Репринт 19-92-81. - 15 с.

53. Корчак Л.И., Сперанская Т.А. Влияние некоторых защитных веществ на изменение реактивности тканевых сульфгидрильных групп облученных животных // Докл. АН СССР. - 1963. - Т. 151, № 3. - С. 712 – 713.

54. Котеров А.Н. Молекулярно-клеточные закономерности, обуславливающие эффекты малых доз ионизирующего излучения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. - 2000. - Т. 45, № 5. - С. 5 - 20.

55. Коферменты // ММЭ: в 6-ти т. -М.: Советская энциклопедия, 1991. - Т. 2. - С. 524 - 525.

56. Коштыянец Х.С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. - М.: Изд-во АН СССР, 1951. - 100 с.

57. Краснова А.Ф., Яковлев Н.Н. О связи между аденозинтрифосфатазной активностью миозина и содержанием в нем свободных тиоловых групп // Укр. биох. журн. - 1962. - Т. 34, № 3. - С. 428 – 434.

58. Кресюн В.И., Бажора Ю.И., Рыбалова С.С. Клинические аспекты иммунофармакологии. - Одесса: Черноморье, 1993. - 208 с.

59. Кудряшов Ю.Б. Лучевое поражение "критических систем" // Лучевое поражение (острое лучевое поражение, полученное в эксперименте). - М.: Изд-во МГУ. - 1987. - С. 5-72.
60. Кулинский В.И. Биохимико-фармакологический анализ и потенцирование радиозащитного эффекта аминотиолов при кишечной форме острой лучевой болезни // Радиобиология. - 1971. - Т. 11, № 1. - С. 86 – 91
61. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Исследование механизмов регуляции дисульфидредуктазной системы печени мыши // Вопросы медицинской химии. - 1975. - Т. 21, № 3. - С. 286 - 290.
62. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. - М.: Наука. - 1990. - Т. 31. - С. 157 – 179.
63. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. - 1990. - Т. 110, № 1 (4). - С. 20 – 33.
64. Кухта В.К., Олецкий Э.И., Лисицына Л.Г. Состояние ферментативной системы антиоксидантной защиты животных после радиационного воздействия // Здравоохранение Беларуси. - 1993. - № 8. - С. 9 - 11.
65. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. - К.: Вища школа, 1983. - 383 с.
66. Ланкин В.З. Ферментативное перекисное окисление липидов // Укр. биох. журн. - 1984. - Т. 56, № 3. - С. 317 - 331.
67. Левицкий Е.Л., Губский Ю.И. Свободнорадикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки // Укр. биох. журн. - 1994. - Т. 66, № 4. - С. 18 - 30.
68. Лепехин Н.П. Противолучевая эффективность гипоксии на разных стадиях сперматогенеза крыс вистар, облученных в диапазоне нестерилизующих доз: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.01/ Медицинский радиологический научный центр РАМН. - Обнинск, 1993. - 17с.

69. Лепехин Н.П., Палыга Г.Ф. Последствия для внутриутробного развития потомства облучения половых клеток самцов на разных стадиях сперматогенеза // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1994. - Т. 34, № 4 - 5. - С. 645 - 650.

70. Логинов А.С., Матюхин Б.Н. Внутриклеточная активация кислорода и молекулярные механизмы автоокислительного повреждения печени // Вестник РАМН. - 1994. - № 5. - С. 3 - 7.

71. Льюин Б. Гены: Пер. с англ. - М.: Мир, 1987. - 554 с.

72. Лягинская А.М., Карелина Н.М., Овдиенко Н.И. // Материалы конференции "Актуальные проблемы влияния ионизирующих излучений на репродуктивную функцию". - Обнинск. - 1992. - С. 42 - 44.

73. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. О некоторых молекулярных механизмах основных радиобиологических последствий действия ионизирующих излучений на организм млекопитающих // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 89 - 96.

74. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2001. - Т. 41, № 3. - С. 272 - 289.

75. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека: основы учения о взаимосвязи с физиологией и патологией: Пер. с англ. - М.: Мир, 1980. - 368 с.

76. Мантак Г.І. Вплив малих доз радіації на морфологію клітини // Вісник морфології. - 2000. - № 2. - С. 342 - 344.

77. Манухин Б.Н. О роли сульфгидрильных групп в осуществлении влияния адреналина на дыхание ткани // Докл. АН СССР. - 1956. - Т. 107, № 1. - С. 188 - 190.

78. Марчук Р.Я. К вопросу о механизме защитного действия тиоловых соединений при лучевом поражении // Тиоловые соединения в медицине. - К.: Государственное изд-во УССР, 1959. - С. 270 - 275.

79. Матышевская О.П. Биохимические аспекты вызванного радиацией апоптоза // Укр. биохим. журн. - 1998. - Т. 70, № 5. - С. 15 - 29.
80. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. - Л.: Медицина, 1969. - 423 с.
81. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків // Буковинський медичний вісник. - 1999. - Т. 3, № 1. - С. 196 - 205.
82. Микроскопическая техника / Под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. - М.: Медицина, 1996. - 544 с.
83. Миронов Г.П., Молчанова Л.В. Реакции перехода SH → SS при образовании фибрина // Вопросы мед. химии. - 1971. -Т. 17, № 3. - С. 301 –306.
84. Мишнев О.Д., Щеголев А.И. Структурно-метаболическая характеристика ациноса печени // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1988. - № 10. - С. 89 - 96.
85. Молекулярная биология клетки: В 5 т. / Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др.: Пер с англ. - М.: Мир, 1986. - Т. 2. - 313 с.
86. Морфологические изменения печени у собак при хроническом γ -облучении / Савина Е.А., Подымов В.К., Плахута- Плахутина Г.И. и др. // Космическая биология и медицина. - 1973. - Т. 7, № 1. - С. 29 - 33.
87. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. - М.: Медицина, 1991. - 464 с.
88. Напханюк В.К., Заярная С.П., Ульянцева О.А. Стан неспецифічної адаптивної системи організму при дії гамма-опромінення // Вісник наукових досліджень. - 1995. - № 5. - С. 30 - 48.
89. Некрасова И.В., Граевский Э.Я. Роль тиолов в изменении радиочувствительности при фракционировании дозы радиации // Радиобиология. - 1973. - Т. 13, № 2. - С. 294 – 297.
90. Нестабильность генома после воздействия радиации в малых дозах (в 10-километровой зоне аварии на ЧАЭС и в лабораторных условиях) /

Пелевина И.И., Готлиб В.Я., Кудряшова О.В. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1996. - Т. 36, № 4. - С. 546 - 560.

91. Нефедов И.Ю., Нефедова И.Ю., Палыга Г.Ф. Некоторые методологические аспекты экспериментального моделирования и оценки наследственных последствий облучения одного и обоих родителей // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1996. - Т. 36, № 6. - С. 912 - 920.

92. Нефедов И.Ю., Нефедова И.Ю., Палыга Г.Ф. Актуальные аспекты проблемы генетических последствий облучения млекопитающих (Обзор литературы) // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2000. - Т. 40, № 4. - С. 358 - 372.

93. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах / Е.Б. Бурлакова, А.Н. Голощанов, Г.П. Жижина, А.А. Конрадов // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 26 - 34.

94. Окада Ш. Радиационная биохимия клетки. - М.: Мир, 1974. - 408 с.

95. Омельчук С.Т. Морфологическое обоснование необходимости проведения мониторинга здоровья населения Украины в зависимости от экологической ситуации // Довкілля та здоров'я. - 2000. - № 4. - С. 8 - 12.

96. Определение SH-групп в гемоглобине крысы / Г.М. Рекун, Н.Ф. Стародуб, В.П. Артюх, Л.И. Цыгельник // Молекулярная биология. Вып. 18. Структура и функции биополимеров. - К.: Наукова думка, 1977. - С. 71 - 73.

97. Особливості антропометричних показників у студентів м. Києва, потерпілих внаслідок аварії на ЧАЕС / Давиденко Л.М., Талько В.І., Болгаров Ю.О. та ін. // Український медичний альманах. - 1998. - № 2. - С. 66 - 67.

98. Особливості стану колагену і його взаємозв'язків у дітей, народжених після аварії на ЧАЕС / Арабська Л.П., Антипкін Ю.Г., Михайлець Л.П. та ін. // Український медичний альманах. - 2000. - Т. 3, № 5. - С. 10 - 15.

99. Оцінка стану неспецифічної резистентності організму за тіолдисульфідним співвідношенням крові / В.Й. Кресюн, В.В. Костюшов, Н.М. Мандрієвська та ін. // Одеський медичний журнал. - 1999. - № 6. - С. 5 – 7.

100. Палеев Н.Р., Ковалева Л.И., Савченко М.В. Изменения центральной гемодинамики у ликвидаторов последствий аварий на Чернобыльской АЭС в отдаленные сроки после воздействия малых доз ионизирующего излучения // Кардиология. - 2000. - № 4. - С. 63 - 68.

101. Пахирко А.В., Лакотко Г.М. Биологическое действие ионизирующих излучений и единицы их измерений // Здравоохранение Беларуси. - 1992. - № 8. - С. 16 - 18.

102. Пегель В.А., Докшина Г.А., Дементьева Т.А. Изменение содержания сульфгидрильных групп в митохондриях и гиалоплазме печени и сердечной мышцы крыс при воздействии излучений высоких энергий // Изв. Сиб. Отд-ния АН СССР. Сер.: Биологические науки. - 1971. - Вып. 1, № 5. - С. 108 – 113.

103. Пероксидне окислення ліпідів і його регуляція у крові та печінці щурів за умов радіаційного впливу / Ю В. Нікітченко, М.Є. Романько, В.М. Дзюба, П.П. Фукс // Український біохімічний журнал. - 2001. - Т. 73. № 5. - С. 43 - 48.

104. Петин В.Г., Комаров В.П. Количественное описание модификации радиочувствительности. - М.: Энергоатомиздат, 1989. - 192 с.

105. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. Глутатионпероксидаза в системе антиоксидантной защиты мембран // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1981. - №5. - С. 76 - 78.

106. Петросян Э.П., Коринтели В.И., Ярмоненко С.П. Кинетика эндогенных SH-групп при первичных процессах радиационного поражения // Медицинская радиология. - 1972. - Т. 17, № 7. - С. 29 – 32.

107. Половая дифференцировка функций печени / В.Б. Розен, Г.Д. Матарадзе, О.В. Смирнова, А.Н. Смирнов. - М.: Медицина, 1991. - 336 с.

108. Положий Е.А. Влияние облучения на сульфгидрильные группы в различных органах крыс // Механизмы регуляции функций организма при экстремальных воздействиях. - Томск: Изд-во Томского университета, 1981. - С. 93 – 96.

109. Практикум по эмбриологии / Под ред. Ивановой – Казас О.М.-Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1986. - 232 с.

110. Радиационная биохимия тимуса / Романцев Е.Ф., Блохина В.Д., Жуланова З.И. и др. / Под ред. Е.Ф. Романцева. - М.: Атомиздат, 1972. - 176 с.

111. Роль антиоксидантного статуса в формировании последствий биологического действия низкоинтенсивного излучения в малой дозе / Л.Н. Шишкина, Е.В. Кушнирева, О.Ф. Беспалько, Н.В. Полякова // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2000. - Т. 40, № 2. - С. 162 – 167.

112. Роль критических метаболических систем в механизмах развития радиационного стресса / В.К. Напханюк, Е.Л. Холодкова, М.М. Пилипенко, В.А. Кузьменко // Актуальные проблемы патологии. - Одесса: Маяк. - 1997, Т.2. - С. 133 - 138.

113. Сент-Дьерди А. Биоэлектроника. Исследование в области клеточной регуляции, защитных механизмов и рака: Пер. с англ. - М.: Мир, 1971. - 80 с.

114. Сигэру А.Э. Химия органических соединений серы. - М.: Химия, 1975. -512.

115. Синтез и исследование некоторых тиолов и их производных как возможных детоксикантов хлорированных углеводородов / Петрунькин В.Е., Мизюкова И.Г., Лысенко Н.М. и др. // Органические соединения серы: В 2 т. - Рига: Зинатне, 1976. - Т. 1. - С. 395 – 400.

116. Системный ответ антиоксидантных ферментов на окислительный стресс, вызванный облучением в малых дозах / Вартамян Л.С., Гуревич С.М., Козаченко А.И. и др. // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2000. - Т. 40, № 3. - С. 285 – 291.

117. Смирнов Г.Д., Бызов А.Л., Рампан Ю.И. Действие некоторых тиоловых ядов на синаптическое проведение возбуждения в симпатическом ганглии // Докл. АН СССР. - 1952. - Т. 87, № 1. - С. 155 – 158.

118. Смирнов С.Н. Возрастные изменения пролиферативного пула в печени крыс // Український медичний альманах. - 2001. - Т. 4, № 3. - С. 157 - 158.

119. Соколовский В.В., Белозерова Л.А., Огурцова Р.Е. Методика количественного определения дисульфидных групп крови обратным амперметрическим титрованием // Лабораторное дело. - 1977. - № 1. - С. 26 - 27

120. Соколовский В.В. Тиоловые соединения в биохимических механизмах жизнедеятельности // Тиоловые соединения в биохимических механизмах патологических процессов/ Под ред. Соколовского В.В.: Труды ЛГСМИ. - Л.: ЛГСМИ, 1979. - Т. 125. - С. 5 - 9.

121. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие (обзор) // Вопросы медицинской химии. - 1988. - Т. 34, № 6. - С. 2 - 11.

122. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. - С.-Пб.: Медицинская академия последипломного образования, 1996.- 33 с.

123. Соколовский В.В. Антиоксиданты в профилактике и терапии заболеваний // Международные медицинские обзоры. - 1993. - Т. 1, № 1. - С. 11 – 14.

124. Сорокина В.С. О природе высокой реакционной способности сульфгидрильных групп // Тиоловые соединения в биохимических механизмах патологических процессов / Под ред. Соколовского В.В.: Труды ЛГСМИ. - Л.: ЛГСМИ, 1979. - Т. 125. - С. 10 – 13.

125. Сперанская Т.А. Изменение реакционной способности тканевых сульфгидрильных групп после общего и частичного облучения животных // Докл. АН СССР. - 1969. - Т. 188, № 1. - С. 223 – 226.

126. Спитковский Д.М. О некоторых новых биофизических и биологических аспектах механизмов при воздействии малых и близких к ним доз ионизирующих излучений (низких ЛПЭ) на клетки эукариотов // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 145 - 155.

127. Спитковский Д.М., Зайцев С.В., Талызина Т.А. Моделирование особенностей инициации генетических повреждений малыми дозами ионизирующих излучений в клетках эукариот на основе концепции существования клеток эволюционного резерва // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1994. - Т. 34, № 6. - С. 739 - 746.

128. Стан тіолової системи та глутатіонзалежних ферментів у тканинах щурів із перевивною карценомою Герена / Л.В. Бойцова, І.В. Данова, Г.І. Кулик, В.Ф. Чехун // Медична хімія. - 2001. - Т. 3, № 1. - С. 12 - 15.

129. Стручков В.А., Стражевская Н.Б. Специфические дисульфидные связи комплекса ДНК-остаточный белок // Докл. АН СССР. - 1989. - Т. 307, № 3. - С. 755 – 758.

130. Стручков В.А., Стражевская Н.Б., Блохин Д.Ю. Изменение состава ДНК-связанного негистонового белка в тимусе и печени γ -облученных крыс // Радиобиология. - 1989. - Т. 29, № 4. - С. 441 – 444.

131. Стручков В.А., Стражевская Н.Б., Блохин Д.Ю. Тиол-дисульфидная фрагментация хромосомальной ДНК // Бюл. эксп. биол. и мед. - 1992. -Т. 113, № 5. - С. 529 - 531.

132. Стручков В.А., Стражевская Н.Б. Значение специфических белковых S-S связей в структурно-функциональной организации ДНК // Бюл. эксп. биол. и мед. - 1994. -Т. 115, № 8. - С. 180 - 183.

133. Тестостерон та фізичний і статевий розиток дітей, народжених після аварії на ЧАЕС / Арабська Л.П., Антипкін Ю.Г., Поворознюк В.В. та ін. // Український медичний альманах. - 2000. - Т. 3, № 4. - С. 16 - 21.
134. Тиунов Л.А., Иванова В.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации // Вестн. АН СССР. - 1988. - № 1. - С. 62 –69.
135. Токин И.Б. Проблемы радиационной цитологии. - Л.: Медицина, 1974. - 319 с.
136. Торчинский Ю.М. Сера в белках. - М.: Наука, 1977. - 303 с.
137. Туманський В.О. Концепції молекулярно-метаболичної альтерації клітини // Український журнал патології. - 2000. - № 1. - С. 110 - 120.
138. Турпаев Т.М. Роль сульфгидрильных групп в сократительном акте сердечной мышцы // Биохимия. - 1951. - Т. 16, № 6. - С. 611 – 614.
139. Турпаев Т.М. Значение тиоловых групп в осуществлении действия ацетилхолина // Биохимия. - 1955. - Т. 20, № 5. - С. 456 – 462.
140. Турпаев Т.М., Нистратова С.Н. Влияние ацетилхолина на реактивность тканевых сульфгидрильных групп // Тиоловые соединения в медицине. - К.: Государственное медицинское изд-во УССР, 1959. - С. 65 – 71.
141. Хміль С.В., Маланчук Л.М., Корда І.В. Стан загального імунітету, процесів перекисного окислення ліпідів та системи антиоксидантного захисту у хворих з гнійно-запальними захворюваннями придатків матки, які тривалий час знаходилися під впливом малих доз радіації // Медична хімія. - 2000. - Т. 2, № 2. - С. 79 - 81.
142. Хорст А. Молекулярные основы патогенеза болезней: Пер. с польск. - М.: Медицина, 1982. - 456 с.
143. Черниговский В.Н. Интероцепторы. - М.: Медгиз. - 1960.- 659 с.
144. Чещевик А.Б. Содержание SH-групп в крови больных сахарным диабетом и их влияние на биохимические процессы // Терапевтический архив. - 1981. - Т. 8, № 12. - С. 110 –112.

145. Чижик В.В., Бенядь В.П. Особливості фізичного розвитку підлітків, які проживають на радіактивно забруднених територіях // Український медичний альманах. - 1998. - № 3. - С. 166 - 168.

146. Эйдус Л.Х. О проблеме экстраполяции дозовой зависимости цитогенетических повреждений от больших доз к малым // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 177 - 180.

147. Эндогенные сульфгидрильные группы и структурно-морфологические изменения в тканях мышей при облучении в сверхсмертельной дозе тормозным излучением с энергией 7,5 МэВ / Романцев Е.Ф., Пушкарева Н.Б., Кузнецова Е.В. и др. // Радиобиология. - 1979. - Т. 19, № 4. - С. 525 - 531.

148. Юрьева Г.Ю. Новые данные о роли сульфгидрильных групп белков во вкусовой чувствительности // Биофизика. - 1961. - Т. 6, № 2. - С. 172 - 176.

149. Яковлев Н.Н., Краснова А.Ф. Влияние мышечной деятельности на взаимодействие тиоловых групп миозина с аденозинтрифосфорной кислотой // Укр. биох. журнал. - 1962. - Т. 34, № 1. - С. 95 - 103.

150. Abate C., Patel L., Rauscher F.J., Curran T. Redox regulation of fos and jun DNA - binding activity in vitro // Science. - 1990. - V. 249, № 4973. - P. 1157 - 1161.

151. Barron E.S.G. Thiol groups of biological importance // Adv. Enzymol. - 1951. - Vol. 11. - P. 201 - 206.

152. Biaglow J.E., Varnes M.E., Clark E.P. et al. The role of thiols in cellular response to radiation and drugs // Radiat. Res. - 1983. - V. 95, № 3. - P. 437 - 455.

153. Chan H.M., Cherian M.G. Protective roles of metallothionein and glutathione in hepatotoxicity of cadmium // Toxicology. - 1992. - V. 72, № 3. - P. 281-290.

154. Clottes E., Burchell A. Three thiol groups are important for the activity of the liver microsomal glucose-6-phosphatase system. Unusual behavior of one

thiol located in the glucose-6-phosphate translocase // *J. Biol. Chem.* - 1998. - V. 273, № 31. - P.19391-19397.

155. Constant electrophoretic mobility of the cysteine-containing histone in plant and animals / S. Panyim, R. Chalkley, S. Spiker, O. Oliver // *Biochem. et biophys. acta.* - 1970. - V. 214, № 1. - P. 216 – 221.

156. Cumene hydroperoxide an agent inducing lipid peroxidation, and 4-hydroxy, 2,3-nonenal, a peroxidation product, cause coronary vasodilatation in perfused rat hearts by a cyclic nucleotide independent mechanism / Kraaj A.M., Jonge H.R., Esterbauer H. et al. // *Cardiovasc. Res.* - 1990. - Vol. 24, № 2. - P. 144 - 150.

157. Durchschlag H., Zipper P. Post-irradiation inactivation of the sulfhydryl enzyme malate synthase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1984. - V. 118, № 1. - P. 364-370.

158. Durchschlag H., Zipper P. Primary and post-irradiation inactivation of the sulfhydryl enzyme malate synthase: correlation of protective effects of additives // *FEBS Lett.* - 1988. - V. 237, № 1 - 2. - P. 208-212.

159. Durchschlag H., Zipper P. X-ray induced inactivation of the sulfhydryl enzyme malate synthase in the presence of various additives. Probing the extent of primary and post-irradiation inactivation and repair by rapid screening on the microleve // *Z. Naturforsch.* - 1990. - V. 45, № 6. - P. 645-654.

160. Edgren M., Revesz L., Larsson A. Induction and repair of single-strand DNA breaks after X-irradiation of human fibroblasts deficient in glutathione // *Int. J. Radiat. Biol.* - 1981. - Vol. 40, № 4. - P. 355 - 363.

161. Effect of oral glutathione monoethyl ester and glutathione on circulating and hepatic sulfhydrils in the rat / Grattagliano I., Wieland P., Schranz C., Lauterburg B.H. // *Pharmacol. Toxicol.* - 1994. - V. - 75, № 6. - P. 343-347.

162. Effect of the sulfhydryl compound cysteamine on gamma-radiation-induced mutations in double-stranded M13 DNA / Braun J.E., Sarquis F., Lafleur M.V., Retel J. // *Muta.t Res.* - 1996. - V. 364, № 3. - P. 171-182.

163. Eriksson S., Askelof P., Axelsson K. Resolution of glutathione-linked enzymes in rat liver and evaluation of their contribution to disulfide reduction via thiol – disulfide interchange // *Acta chem. Scand.* - 1974. - V. 28, № 8. - P. 922 – 930.

164. Fambrough O.M., Bonner J. Sequence homology and role of cysteine in plant and animal arginine-rich histones // *J. Biol. Chem.* - 1968. - V. 243, № 17. - P. 4434 – 4439.

165. Frankenberg D., Kistler M., Eckardt-Schupp F. Effect of cellular glutathione content on the induction of DNA double strand breaks by 25 WeV electrons // *Int. J. Radiat. Biol.* - 1987. - V. 52, № 2. - P. 185 – 190.

166. Friedmen M. Chemistry and Biochemistry of sulfhydryl group in aminoacids, peptides and proteins. - Oxford: Pergamon, 1973. - 231 p.

167. Jocelyn P.C. Biochemistry SH groups. - L.: Acad. Press, 1972. - 404 p.

168. Hammond C.L., Lee T.K., Ballatori N. Novel roles for glutathione in gene expression, cell death, and membrane transport of organic solutes // *J. Hepatol.* - 2001. - V. 34, № 6. - P. 946 - 954.

169. Held K.D., Hopcia K.L. Role of protein thiols in intrinsic radiation protection of DNA and cells // *Mutat. Res.* - 1993. - V. 299, № 3 - 4. - P. 261-269.

170. Hinchman C.A., Ballatori N. Glutathione conjugation and conversion to mercapturic acids can occur as an intrahepatic process // *J. Toxicol. Environ Health.* - 1994. - V. 41, № 4. - P. 387-409.

171. Huang J., Khan S., O'Brien P.J. // The glutathione dependence of inorganic sulfate formation from L- or D-cysteine in isolated rat hepatocytes // *Chem. Biol. Interact.* - 1998. - V. 110, № 3. - P. 189 - 202.

172. Immediate and delayed effects of lead on AChE, GSH-T and thiols in the substantia nigra, neostriatum and cortex of the rat brain / G.M.E. Hernandez, Z.M.M. Ibarra, O.E. Garcia, S.A. Sierra // *J. Appl. Toxicol.* - 2001. - V. 21. - № 5. - P. 397-401.

173. In vitro transformation induces abnormal protein thiol levels in rat liver cells // Principe P., Wilson G.D., Riley P.A., Slater T.F. // *Carcinogenesis*. - 1990. - V. 11, № 8. - P. 1429-1432.

174. Kather H., Simon B. Proceedings: Studies on the role of superficial fat cell SH-groups in basal and insulin-stimulated glucose uptake // *Hoppe seylers Z. Fhysiol. Chem.* -1974. - Vol. 355, № 10. - P. 1215.

175. Koeppe O.J., Boyer P.D., Stulberg M.P. On the occurrence, equilibria and site of acyl-enzyme formation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. - *The journal of biological chemistry*. - 1956. - V. 219, № 2. - P. 569 – 583.

176. Little G., Brocklehurst K. Kinetics of the reversible reaction of papain with 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoate) dianion: evidence for nucleophilic reactivity in the un-ionized thiol group of cysteine – 25 and for general acid catalysis by histidine-159 of the reaction of the 5-mercapto-2-nitrobenzoate // *The Biochemical journal*. - 1972. - V. 128, № 2. - P. 475 – 477.

177. Loghman-Adham M. Inhibition of renal Na(+)-Pi cotransporter by mercuric chloride: role of sulfhydryl groups // *J. Cell. Biochem.* - 1992. - V. 49, № 2. - P. 199 - 207.

178. Lu S.C. Regulation of hepatic glutathione synthesis // *Semin Liver Dis.* - 1998. - V. 18, № 4. - P. 331 - 343.

179. Lundstrom J., Holmgren A. Protein disulfide-isomerase is a substrate for thioredoxin reductase and has thioredoxin-like activity // *J. Biol. Chem.* - 1990. - V. 265, № 16. - P. 9114-9120.

180. Lynch S.M., Frei B. Physiological thiol compounds exert pro- and anti-oxidant effects, respectively, on iron- and copper-dependent oxidation of human low-density lipoprotein // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1997. -V. 1345, № 2. - P. 215 - 221.

181. Meister A., Anderson M.E., Hwang O. Intracellular cysteine and glutathione delivery systems // *J. Am. Coll. Nutr.* - 1986. -V. 5, № 2. - P. 137-151.

182. Miller A.C., Henderson B.W. The influence of cellular glutathione content on cell survival following photodynamic treatment in vitro // *Radiat. Res.* - 1986. - V. 107, № 1. - P. 83 – 94.

183. Mitsuyama H., May J.M. Uptake and antioxidant effects of ergothioneine in human erythrocytes // *Clin. Sci.* - 1999. - V. 97, № 4. - P. 407 - 411.

184. Modulation of glutathione by a cysteine pro-drug enhances in vivo tumor response / Wang T., Chen X., Schechter R.L. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1996. - V. 276, № 3. - P. 1169 - 1173.

185. Morcillo M.A., Rucandio M.I., Santamaria J. Effect of gamma irradiation on liver metallothionein synthesis and lipid peroxidation in rats // *Cell Mol. Biol.* - 2000. - V. 46, № 2. - P. 435 - 444.

186. Ono H., Sakamoto A., Sakura N. Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects // *Clin. Chim. Acta.* - 2001. - V. 312, № 1-2. - P. 227-229.

187. Panyim S., Sommer K.R., Chalkley R. Oxidation of the cysteine-containing histone F3: Detection of an evolutionary mutation in a conservative histone // *Biochemistry.* - 1971. - V. 10, № 19. - P. 3911 – 3919.

188. Protein S-thiolation and redox regulation of membrane-bound glutathione transferase / H. Sies, A.L. Dafre, Y. Ji, T.P. Akerboom // *Chem. Biol. Interact.* - 1998. - V. 24, № 111 - 112. - P. 177 - 185.

189. Rat brain thioltransferase: regional distribution, immunological characterization, and localization by fluorescent in situ hybridization / Balijepalli S., Tirumalai P.S., Swamy K.V. et al. // *J. Neurochem.* - 1999. - V. 72, № 3. - P. 1170 - 1178.

190. Responses of thiols to an oxidant challenge: differences between blood and tissues in the rat / Giannerini F., Giustarini D., Lusini L. et al. // *Chem. Biol. Interact.* - 2001. - V. 134, № 1. - P. 73-85.

191. Revesz L., Modig H. Effect of X-irradiation on the cellular sulfhydryl content // *Ann. Med. Exp. Fenn.* - 1966. - V. 44. - P. 333 - 335.

192. Rikans L.E., Hornbrook K.R. Thiol-disulfide exchange systems in the liver of aging Fischer 344 rats // *Gerontology*. - 1998. - V. 44, № 2. - P. 72 - 77.
193. Sablin S.O., Ramsay R.R. Monoamine oxidase contains a redox-active disulfide // *J. Biol. Chem.* - 1998. - V. 273, № 23. - P. 14074 - 14076.
194. Siegel G. Zur frage des einflusses ionisierender strahlung auf die SH-gruppen im gewebe // *Strahlentherapie*. - 1964. - Bd. 124, № 4. - S. 588 - 598.
195. Soszynski M., Bartosz G. Decrease in accessible thiols as an index of oxidative damage to membrane proteins // *Free Radic. Biol. Med.* - 1997. - V. 23, № 3. - P. 463 - 469.
196. Specific glutathione binding sites in pig cerebral cortical synaptic membranes / Janaky R., Shaw C.A., Varga V. et al. // *Neuroscience*. - 2000. - V. 95, № 2. - P. 617-624.
197. Specific [3H] raclopride binding to neostriatal dopamine D2 receptors: role of disulfide and sulfhydryl groups / Reader T.A., Molina-Holgado E., Lima L. et al. // *Neurochem. Res.* - 1992. - V. 17, № 8. - P. 749 - 759.
198. Stress proteins and SH-groups in oxidant-induced cellular injury after chronic ethanol administration in rat / Calabrese V., Renis M., Calderone A. Et al. // *Free Radic. Biol. Med.* - 1998. - V. 24, № 7 - 8. - P. 1159 - 1167.
199. Studies on sulphhydryl radioprotectors in mouse spleen and peripheral blood cells against gamma rays / S. Kumar, M.K. Popli, M. Kumar, P. Uma-Devi // *Radiobiol. Radiother.* - 1985. - V. 26, № 3. - P. 373 - 377.
200. Vos O. Role of endogenous thiols in protection // *Adv. Space. Res.* - 1992. - V. 12. - № 2 - 3. - P. 201 - 207.
201. Vos O., Van Der Schans G.R., Roos-Verhey W.S.D. Reduction of interacellular glutathione content and radiosensitivity // *Int. J. Radiat. Biol.* - 1986. - V. 50, № 1. - P. 155 - 165.
202. Wan F.Y., Wang Y.N., Zhang G.J. The influence of oxidation of membrane thiol groups on lysosomal proton permeability // *Biochem. J.* - 2001. - V. 360, № 2. - P. 355 - 362.

203. Winstead J.A. The role of sulfhydryl groups in radiation sensitivity and chemical protection in enzymes // *Radiat. Res.* - 1967. - V. 30, № 9. - P. 832 - 840.

204. Wolters H., Konings A.W.T. Radiosensitivity of normal and polyunsaturated fatty acid supplemented fibroblasts after depletion of glutathione // *Int. J. Radiat. Biol.* - 1984. - V. 46, № 2. - P. 161 - 168.

205. Zhang P., Davis A.T., Ahmed K. Mechanism of protein kinase CK2 association with nuclear matrix: role of disulfide bond formation // *J. Cell. Biochem.* - 1998. - V. 69, № 2. - P. 211 - 220.

ДОДАТОК А

Морфофункціональний стан тканин печінки інтактних щурів, щурів опромінених у сумарній дозі 0,75 та 1,0 Гр і самців та самок щурів, отриманих від опромінених попередників.

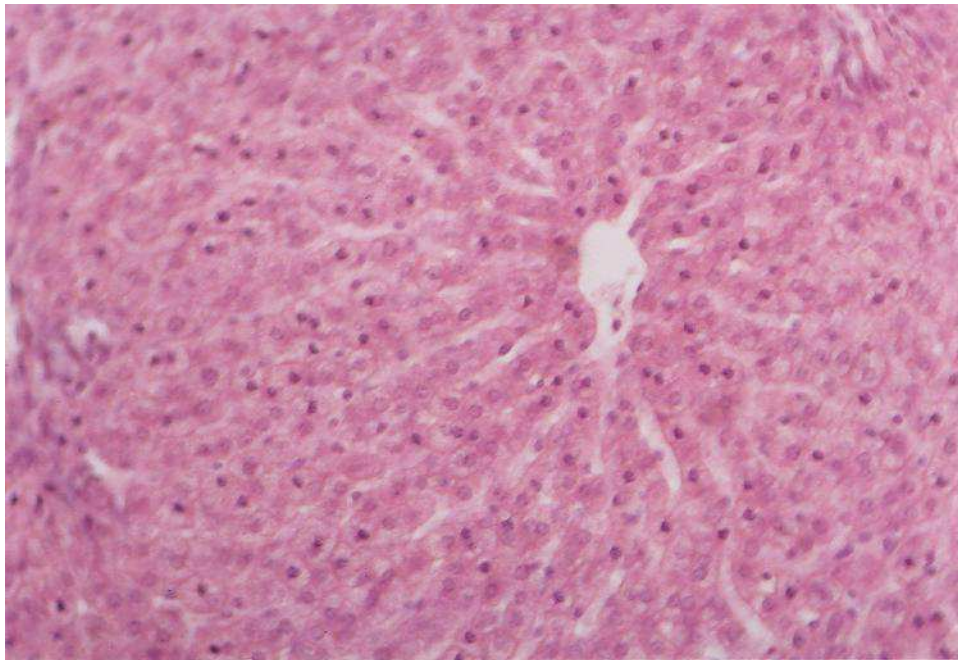


Рис. А. 1 Печінка інтактного 30-денного самця.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

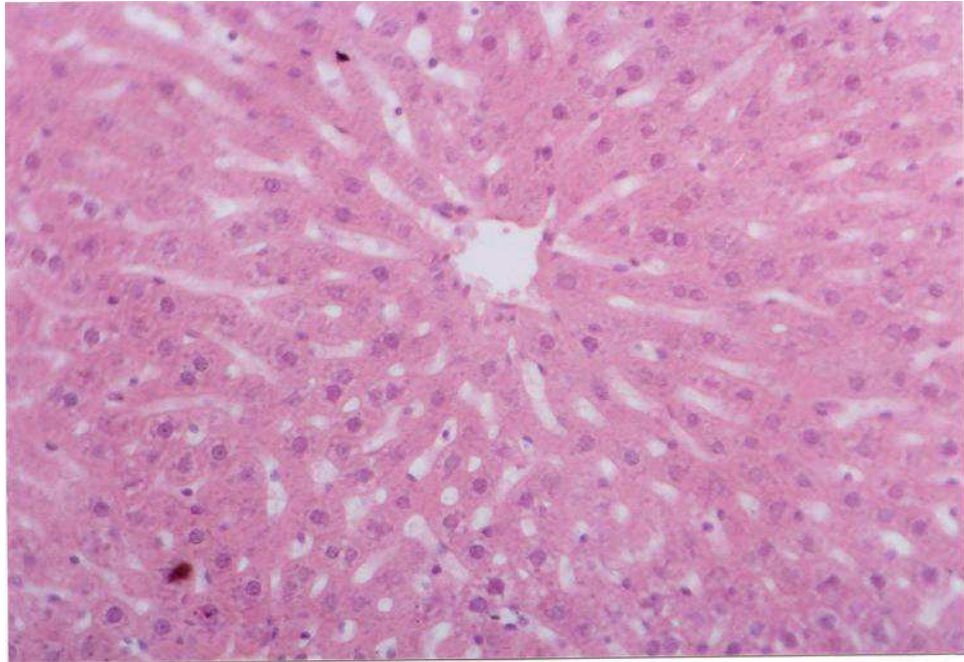


Рис. А. 2 Печінка інтактного самця віком 90 днів.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

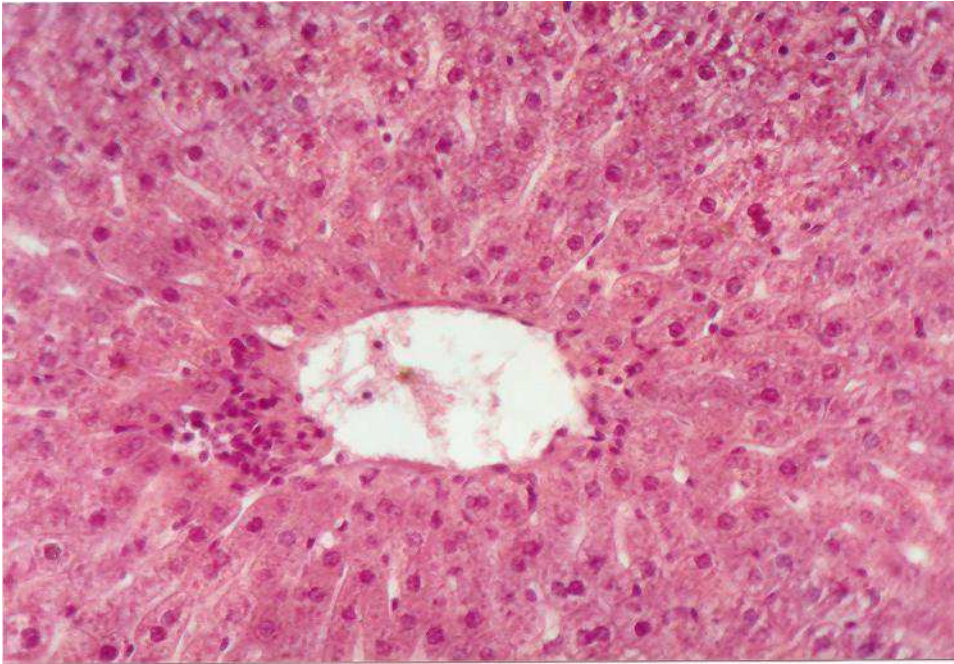


Рис. А. 3. Печінка інтактного самця віком 365 днів.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

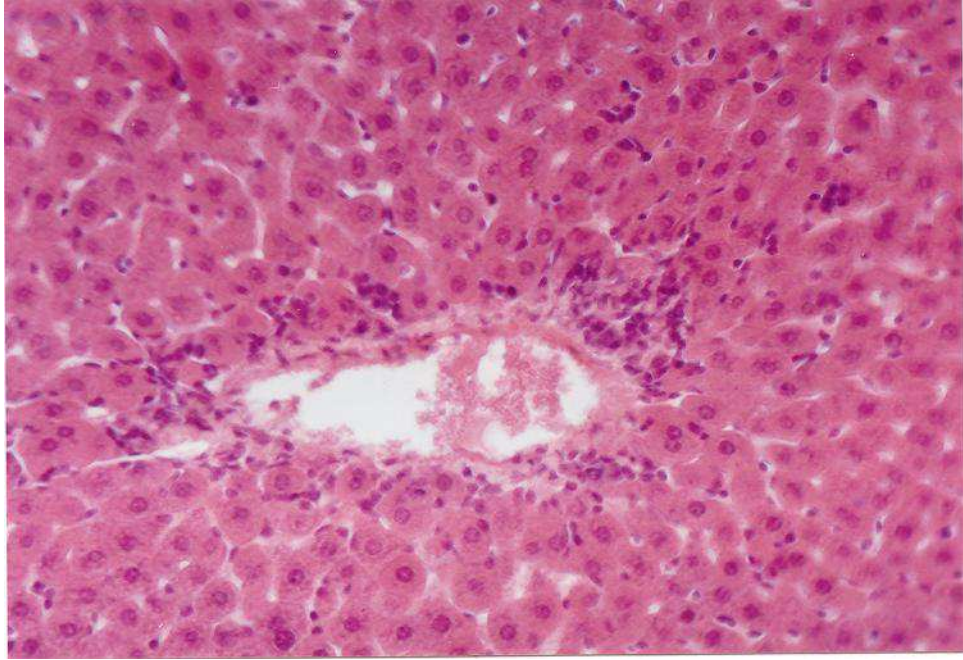


Рис. А. 4 Печінка самця опроміненого у сумарній дозі 0,75 Гр.
Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$.

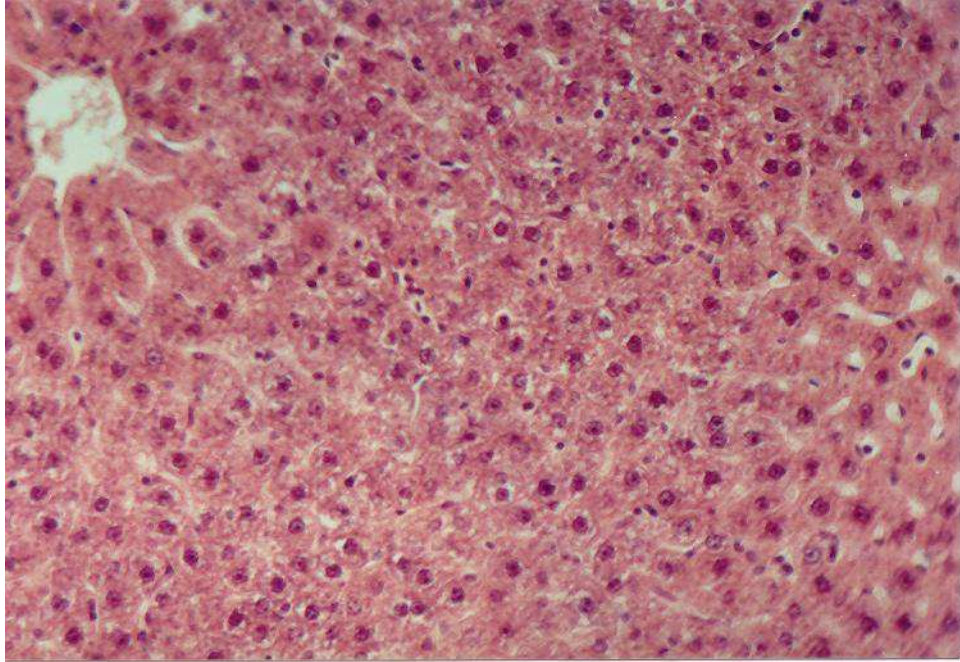


Рис. А. 5 Печінка самця опроміненого у сумарній дозі 1,0 Гр.
Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

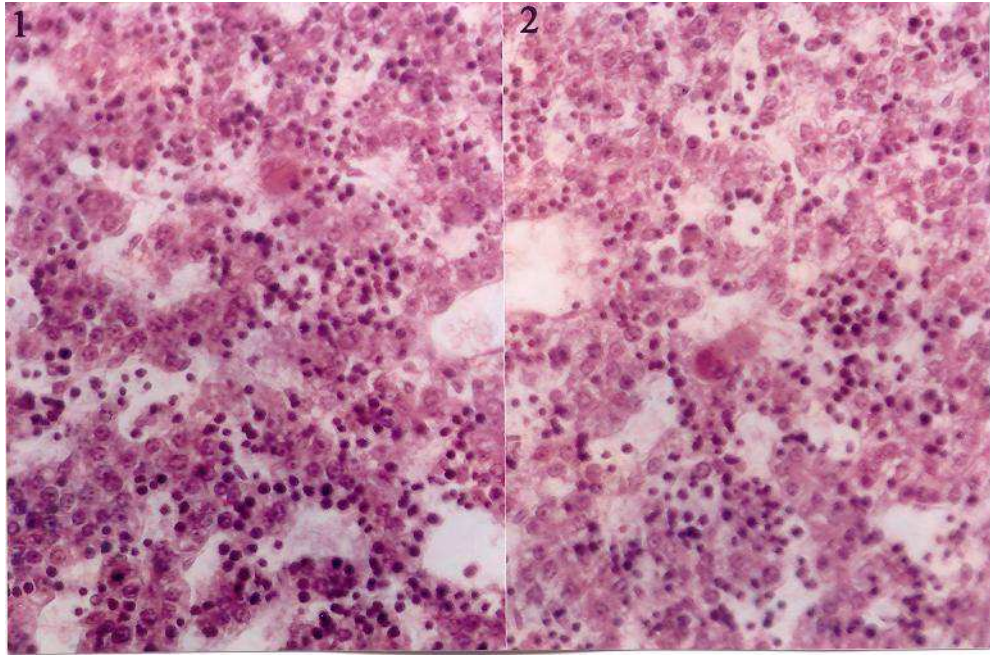


Рис. А. 6 Печінка 18-денних зародків.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 200$.

1 - зародок, отриманий від інтактних тварин;

2 - зародок, отриманий від щурів, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

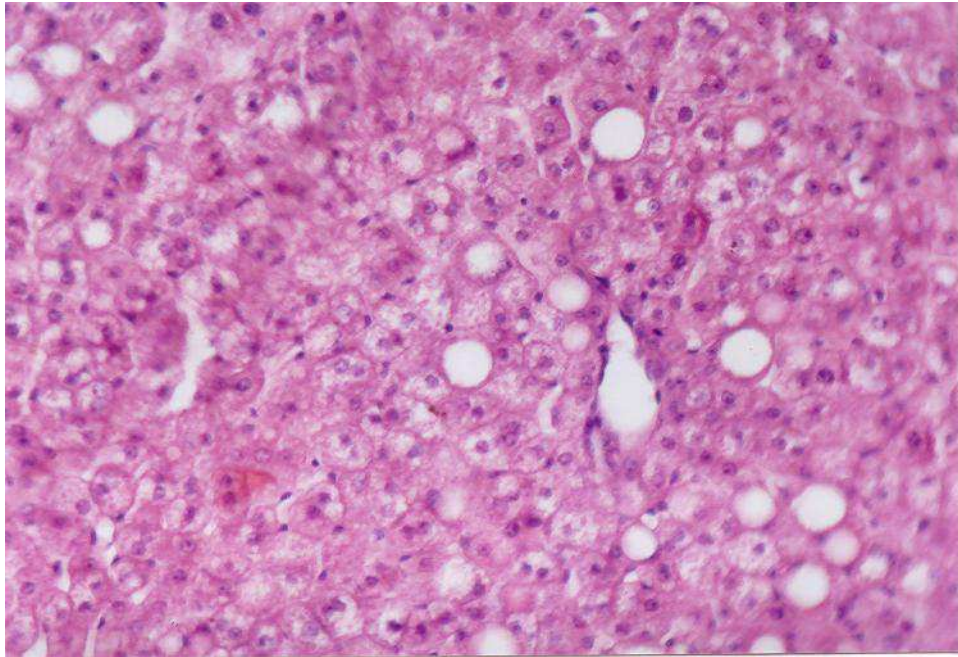


Рис. А. 7 Печінка 30-денного самця, отриманого від щурів, опромінених у сумарній дозі 0,75 Гр.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

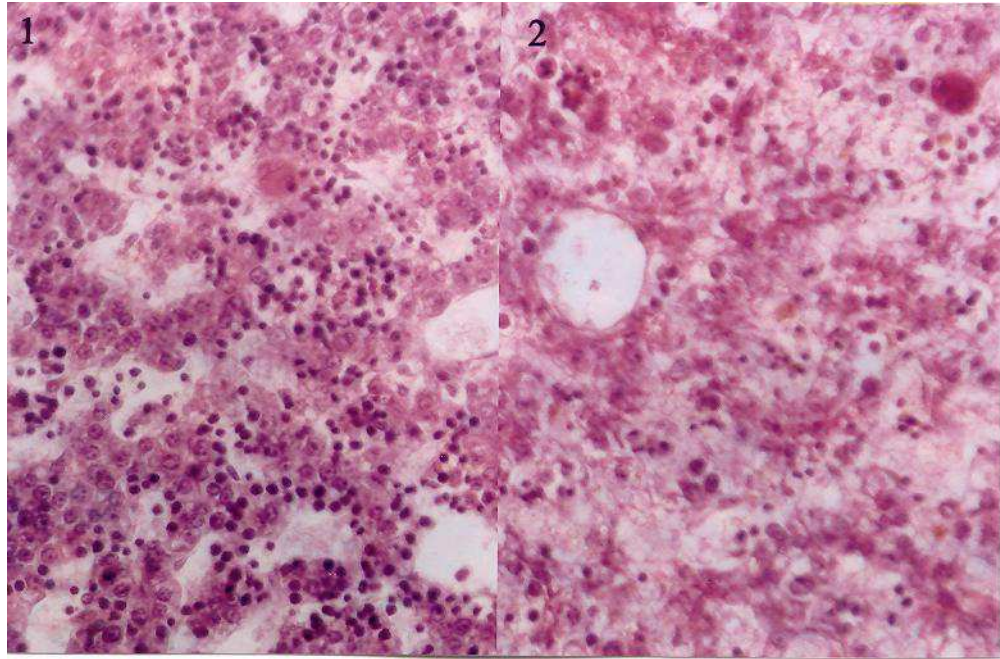


Рис. А. 8 Печінка 18-денних зародків.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

1 - зародок, отриманий від інтактних тварин;

2 - зародок, отриманий від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

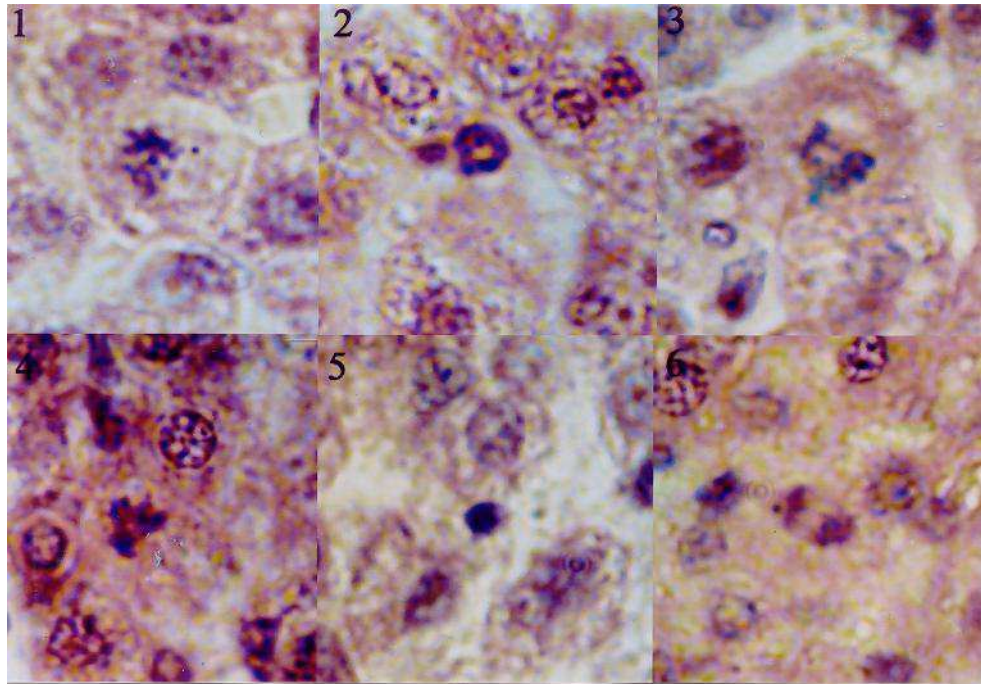


Рис. А. 9 Печінка 14-денного самця, отриманого від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 900$.

- 1 - розсіяна метафаза;
- 2 - полярна метафаза;
- 3 - асиметричний мітоз;
- 4 - поліцентрична метафаза;
- 5 - К-мітоз;
- 6 - хромосомні мости в метафазі.

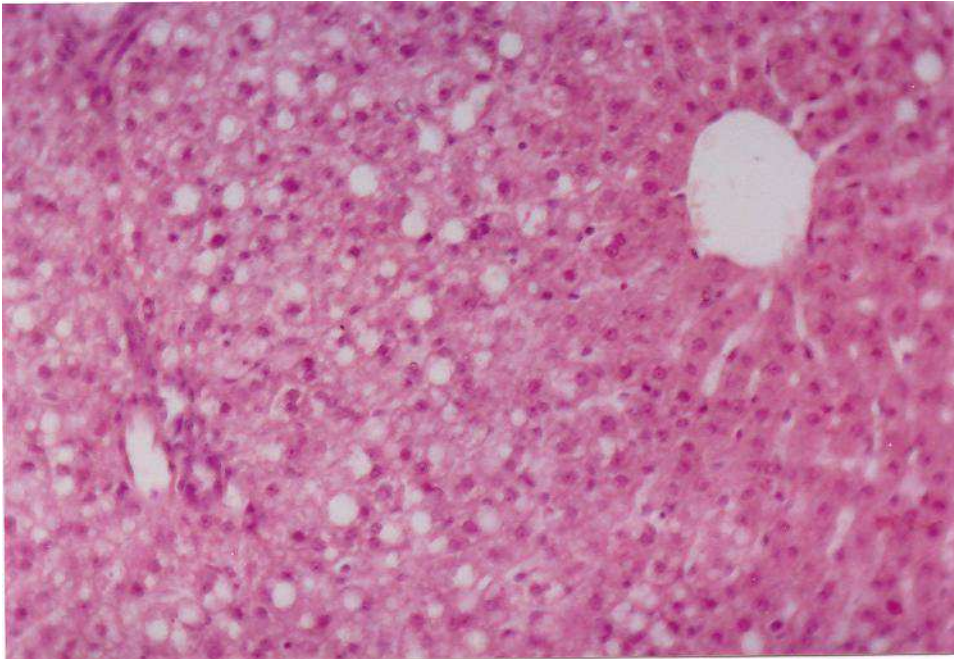


Рис. А. 10 Печінка 30-денного самця, отриманого від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

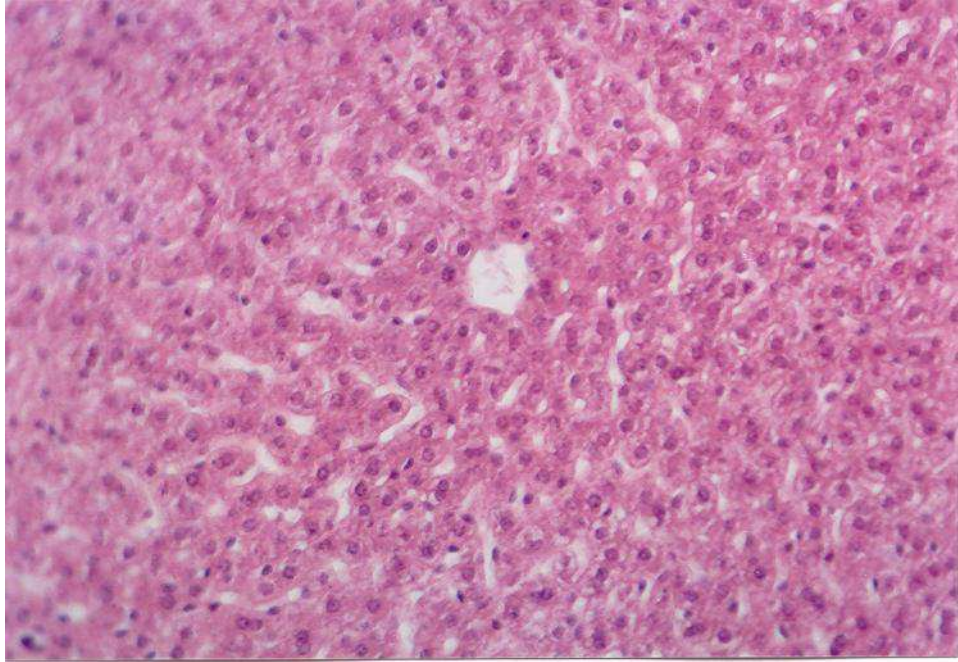


Рис. А. 11 Печінка 30-денної самки, отриманої від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

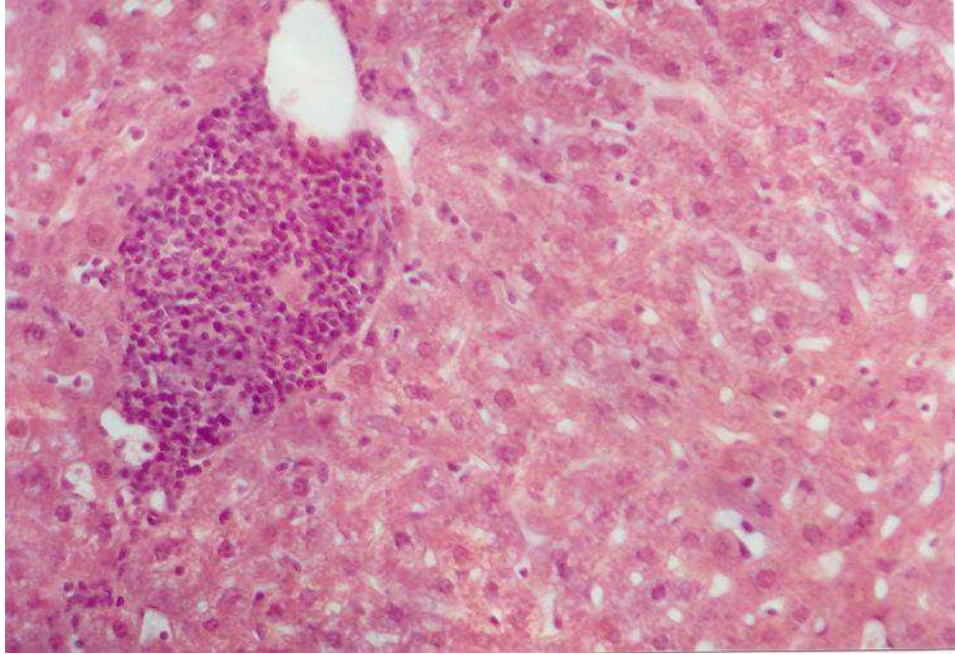


Рис. А. 12 Печінка 365-денного самця, отриманого від щурів, опромінених у сумарній дозі 1,0 Гр.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 200$.