

ВПЛИВ ПРИРОДНИХ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД З ПІДВИЩЕНИМ ВМІСТОМ ЗАЛІЗА НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ І СКЛАД ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ, ОПРОМІНЕНИХ У ДОЗІ 5,0 Гр

А. Ю. Моїсєєв¹, Н. К. Родіонова¹, М. О. Дружина¹, А. І. Липська¹, Ю. П. Гриневич²,
О. Б. Ганжа¹, Л. В. Костюкова¹

¹ Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України, Київ

² Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ

Досліджено вплив залізовмісної мінеральної води Дравецького родовища на клітинний склад та перекисні процеси в периферичній крові щурів, опроміненних у дозі 5,0 Гр. Установлено, що курсове застосування мінеральної води з підвищеним вмістом заліза може бути одним із способів корекції в крові активності ключового фермента системи антиоксидного захисту - каталази.

Ряд фізіологічних функцій організму опосередковується окисно-відновними і ферментативними процесами, що реалізуються за безпосередньою участю заліза або залізовмісних комплексів. В організмі тварин і людини залізо входить до складу багатьох біологічно важливих сполук (гемоглобін, міоглобін, цитохроми, оксидоредуктази тощо). Невелика кількість вільного заліза міститься в плазмі крові. Недостатній вміст заліза може призвести до розвитку патологій – залізодефіцитних анемій, гіпоксії, що веде до порушення функцій центральної нервової та серцево-судинної систем. За даними [1], частота анемій у дітей, які проживають на забруднених радіонуклідами територіях України, становить від 11 до 26 %. Разом з тим підвищений рівень заліза також призводить до розвитку патологічних процесів у печінці та інших внутрішніх органах [2].

Як один з методів лікування залізодефіцитних анемій та інших порушень системи кровотворення застосовують препарати бальнеологічно активного двохвалентного заліза в концентраціях, близьких до фізіологічного вмісту заліза в організмі [3]. Відомо [4], що залізо (II) діє значно ефективніше, якщо надходить в організм у вигляді карбонатних комплексів, а не сульфатів чи хлоридів, тому що більш легко включається в порфіринові кільця, які мають у бокових ланцюгах групи C=O і C=O–OH. З огляду на це перспективними для лікування є розповсюджені в Карпатах мінеральні води, що містять легко засвоювані гідрокарбонати заліза.

За умов дії іонізуючої радіації одним з наслідків порушення біохімічних процесів в організмі є інтенсифікація процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Залізо, як і інші метали змінної валентності, може виступати в ролі каталізатора вільнорадикальних процесів як один з реагентів у реакціях розгалуження ланцюгових процесів ПОЛ. Іони металів змінної валентності значно підвищують радіочутливість клітин і організму в цілому. З іншого боку, у модельному експерименті за умов інкубації з іонами Fe²⁺ опроміненних ліпосом виявлено, що низькі (< 5 мкМ) і високі (> 100 мкМ) концентрації іонів заліза неефективні щодо модифікації радіочутливості цих органел [5]. У роботі [6] висловлюється припущення, що в біологічних системах з низьким вмістом гідроперекисів і значною концентрацією іонів Fe²⁺ залізо може виступати в ролі антиоксидника.

У представленому дослідженні було проведено оцінку впливу природної мінеральної води з підвищеним вмістом заліза (ЗМВ) на інтенсивність перекисних процесів і склад периферичної крові щурів, опроміненних у дозі 5,0 Гр.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на білих лабораторних щурах-самцях лінії Wistar віком 1 рік розведення віварію ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Щури були розподілені на чотири групи: неопромінені тварини (I, контроль); неопромінені тварини, які випоювались ЗМВ (II); опромінені тварини (III, поглинута доза 5,0 Гр); опромінені тварини (поглинута доза 5,0 Гр), які випоювались ЗМВ (IV).

Тварини III і IV груп були одноразово опромінені на апараті "РОКУС". Щурів II і IV груп з початку експерименту впродовж 20 діб з дня опромінення випоювали вуглекислою гідрокарбонатною, кальцієво-натрієвою мінеральною водою з підвищеним вмістом заліза Дравецького родовища Закарпатської області, яку отримували безпосередньо зі свердловини № 29 (глибина 180 м) і консервували за методом [7]. Вміст активного (двовалентного) заліза у воді 14,7 мг/дм³. На 8-му, 15-ту і 22-гу добу експерименту оцінювали інтенсивність перекисних процесів у крові тварин методом ініційованої хемілюмінесценції [8], активність каталази в цільній крові – спектрофотометричним методом [9]. Кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів у крові визначали в камері Горяєва меланжерно-камерним методом, лейкограми підраховували в мазках, фарбованих за Паппенгеймом [10]. Математичну обробку результатів експерименту проводили із застосування програми Excel [11].

Результати досліджень та їх обговорення

Основні параметри індукованої хемілюмінесценції крові тварин до опромінення, на 8-му, 15-ту і 22-гу добу експерименту представлено в табл. 1.

Таблиця 1. Інтенсивність першого піка (I₁) та світлосума за 300 с (Σ₃₀₀) гемолізату периферичної крові щурів (x_{сеп.} ± δ_p, P = 95 %)

Група тварин	Параметри індукованої хемілюмінесценції							
	на початок експерименту		на 8-му добу		на 15-ту добу		на 22-гу добу	
	I ₁ , імп./с	Σ ₃₀₀ , імп. за 300 с	I ₁ , імп./с	Σ ₃₀₀ , імп. за 300 с	I ₁ , імп./с	Σ ₃₀₀ , імп. за 300 с	I ₁ , імп./с	Σ ₃₀₀ , імп. за 300 с
I (контроль)	4647 ± 84	482628 ± 9475	4704 ± 99	458284 ± 10533	4327 ± 53	444516 ± 2717	4933 ± 49	506531 ± 1027
II (ЗМВ)	3745 ± 194	532764 ± 8662	4717 ± 192	598180 ± 24589*	5427 ± 46*	670527 ± 16420*	4919 ± 102	635078 ± 12391*
III (5,0 Гр)	3193 ± 155	530802 ± 6780	4700 ± 47	625571 ± 6310	5737 ± 186	611774 ± 9221	5339 ± 119	681911 ± 20027
IV (5,0 Гр + ЗМВ)	4179 ± 114	533762 ± 6262	4953 ± 114	497633 ± 13030**	5000 ± 180**	577148 ± 7977**	5970 ± 131**	642848 ± 12827

* Різниця з I групою достовірна.

** Різниця з III групою достовірна.

На 8-му добу від початку експерименту в опроміненіх тварин зростала інтенсивність першого піка (на 47 % в III групі і 18,5 % в IV групі), у тварин III групи дещо збільшувалось значення світлосуми (на 6 %). Для опроміненіх тварин, які вживали ЗМВ, значення світлосуми зменшились на 11 %. Слід відзначити відсутність другого піка для цих груп, який був характерним для 87 % зразків крові щурів на початку експерименту (рис. 1). У неопроміненіх тварин курсове застосування ЗМВ викликало збільшення як першого піка світіння, так і світлосуми (на 24 %). При цьому другий пік був відсутній.

На 15-ту і 22-гу добу від початку експерименту для опроміненіх тварин притаманне подальше зростання параметрів хемілюмінесценції. Значення I₁ та Σ₃₀₀ гемолізату крові тварин II групи наприкінці 3-го тижня від початку експерименту зменшились відповідно на 10 і 5 % порівняно з даними на 15-ту добу. Параметри хемілюмінесценції для I групи (контрольні тварини) упродовж експерименту вірогідно не відрізнялися від вихідних.

Відповідні значення активності каталази в периферичній крові щурів упродовж експерименту наведено на рис. 2. Через тиждень від початку експерименту активність каталази у крові щурів з опроміненіх груп була знижена.

Для тварин, які вживали ЗМВ, спад активності каталази був менш значимим (на 46 % проти 60 % у III групі), також підвищилась активність каталази в крові тварин II групи. На 15-ту добу рівень активності каталази в периферичній крові опроміненних тварин зростав до контрольних значень. Через три тижні від початку експерименту в опроміненних тварин, які вживали ЗМВ, спостерігалось підвищення каталазної активності в еритроцитах до 141 % від контролю, тоді як у тварин III групи відмічалось зниження цього показника до 69 % від значень контрольної групи. Для тварин II групи (неопромінені + ЗМВ) було характерне поступове зростання наведеної активності каталази протягом експерименту (до 134 % порівняно з вихідними даними).

Проведений хемілюмінесцентний аналіз дозволив виявити вільнорадикальні зрушення в системі крові опроміненних тварин III групи вже на 8-му добу від початку експерименту. На 15-ту і 22-гу добу від початку експерименту для тварин цієї групи спостерігалось подальше зростання інтенсивності вільнорадикальних процесів у крові. Отримані нами дані свідчать про різноплановість впливу мінеральної води з підвищеним вмістом заліза на інтенсифікацію перекисних процесів у периферичній крові щурів опроміненої і неопроміненої груп. У неопроміненних тварин, які вживали ЗМВ, виявлено чітку тенденцію до підвищення інтенсивності ПОЛ за показниками хемілюмінесценції. Зниження хемілюмінесцентних параметрів у цій групі на 22-гу добу (порівняно з 15-ю) пов'язано з тим, що тварин з 20-ї доби від початку експерименту перевели на звичайний водний режим. Зниження світлосуми хемілюмінесценції у тварин IV групи на 8-му добу вірогідно обумовлене зростанням концентрації іонів заліза в крові, що сти-

мулює каталазну активність з одного боку і, з другого боку, Fe^{2+} у цій ситуації виступає в якості антиоксидника [12]. У подальшому інтенсифікація ПОЛ пояснюється зростанням концентрацій радіаційно обумовлених ендогенних вільнорадикальних продуктів та екзогенного заліза, внаслідок чого порушується прооксидно-антиоксидна рівновага в крові, і Fe^{2+} прискорює цей процес.

Активність каталази залежить від присутності іонів Fe^{2+} , Fe^{3+} [13]. Це може бути одним з факторів, що зумовлював підвищену активність каталази в крові щурів II і IV груп

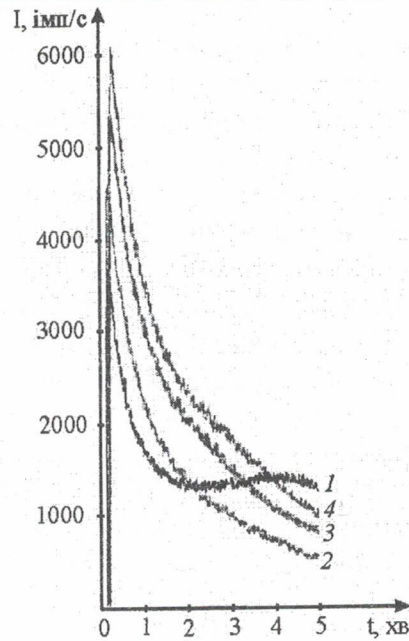


Рис. 1. Типові хемілюмінограми гемолізату крові опроміненних щурів (5,0 Гр) за умов застосування природної мінеральної води з підвищеним вмістом заліза (IV група): 1 – на початок експерименту; 2 – на 8-му добу; 3 – на 15-ту добу; 4 – на 22-гу добу.

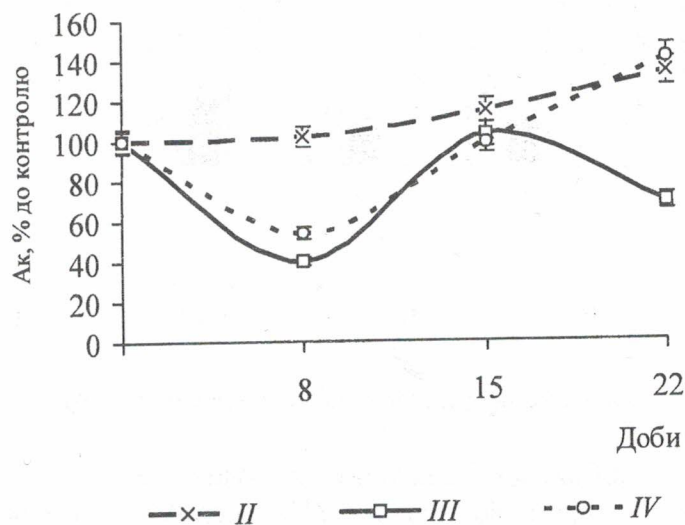


Рис. 2. Активність каталази A_k (мкат/ 10^{12} еритроцитів) у периферичній крові щурів дослідних груп: II – ЗМВ; III – 5,0 Гр; IV – 5,0 Гр + ЗМВ.

порівняно з I і III групами відповідно впродовж експерименту. Підвищена активність каталази в крові тварин цих груп спостерігалась і через дві доби після припинення вживання ЗМВ.

Можливо, підвищена активність каталази в периферичній крові щурів за умов вживання ЗМВ може бути зумовлена більшою кількістю молодих еритроцитарних елементів, що характеризуються, відповідно, більшою каталазною активністю. Відомо, що додаткове надходження заліза в організм активує утворення гемоглобіну, сприяє прискоренню визрівання клітин еритроцитарного ряду в кістковому мозку і стимулює їх вихід у периферичну кров. При цьому загальна кількість еритроцитів у крові опромінених щурів в обох групах (III і IV) вірогідно не відрізнялась, однак тенденція до збільшення їх вмісту при застосуванні ЗМВ спостерігалась упродовж усього експерименту (рис. 3, а). Аналогічну направленість змін було виявлено у неопромінених тварин, які вживали ЗМВ (II група). Слід відзначити, що в периферичній крові деяких тварин з цієї групи виявлено зниження вмісту еритроцитів, що може бути обумовлено ефектом гемодилуції, оскільки після припинення вживання ЗМВ протягом однієї доби рівень еритроцитів швидко відновлювався і навіть перевищував вихідні значення.

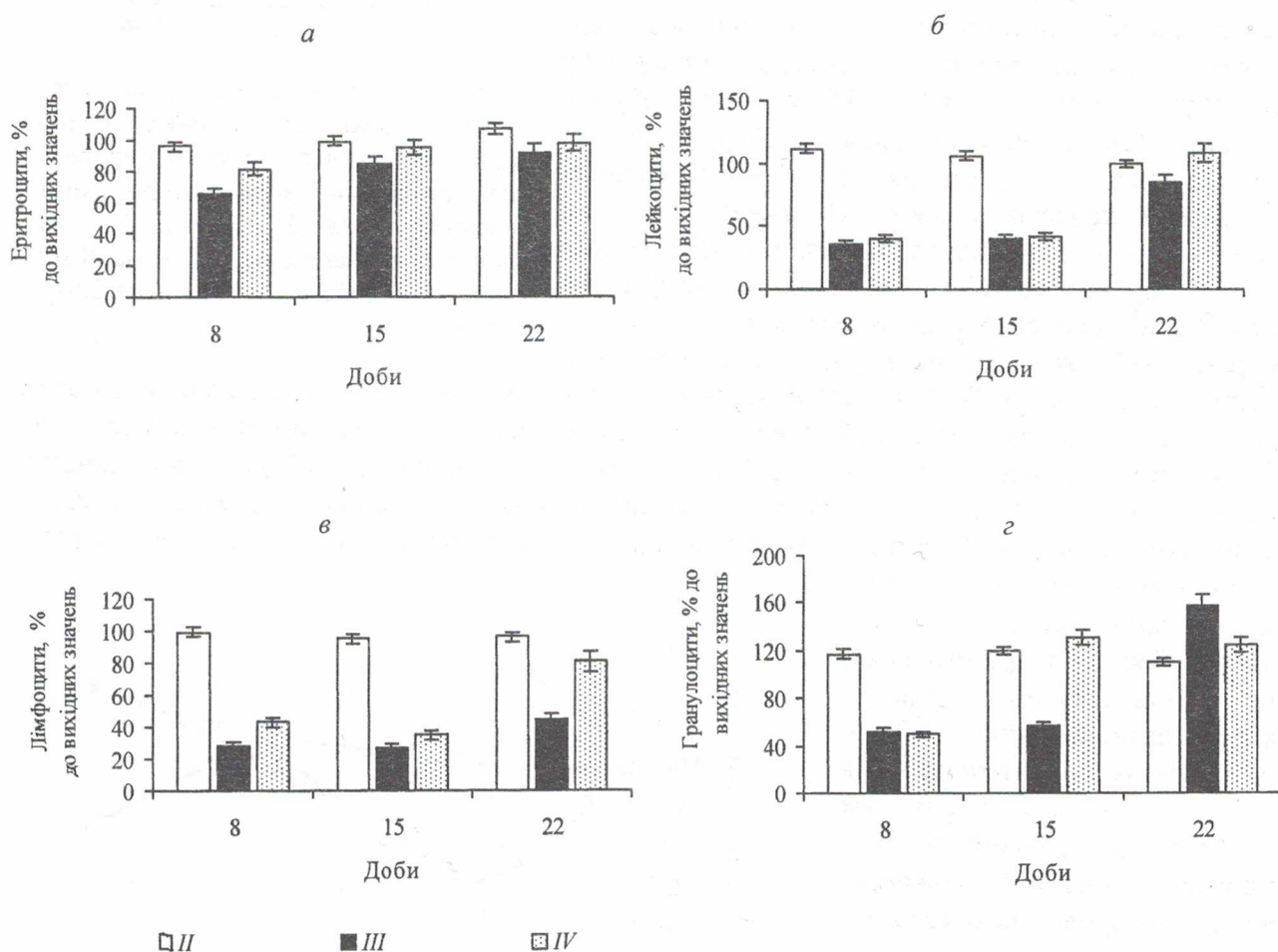


Рис. 3. Склад периферичної крові щурів дослідних груп: II – ЗМВ; III – 5,0 Гр; IV – 5,0 Гр + ЗМВ.

При вивченні лейкоцитарної ланки також спостерігалась виражена дія ЗМВ. В опромінених тварин, які вживали ЗМВ, відзначалось більш раннє й ефективніше відновлення. Загальна кількість лейкоцитів у щурів IV групи на 22-гу добу експерименту сягала рівня контролю, у той час як в опромінених тварин складала лише 80 % (рис. 3, б). Більш значимі ефекти виявлено при дослідженні окремих лейкоцитарних фракцій. Число лімфоцитів у тварин IV групи вже на 8-му добу достовірно перевищувало їх рівень в опромінених тварин (III група) і на 22-гу добу наближалось до контрольних значень (рис. 3, в). Про активні

процеси відновлення в гранулоцитарному ряді з 15-ї доби свідчить високий вміст нейтрофільних та еозинофільних лейкоцитів у периферичній крові опромінених тварин, які вживали ЗМВ.

Слід зазначити, що стимулюючий ефект ЗМВ виявлено й для неопромінених щурів, у яких вміст гранулоцитів достовірно перевищував дані для контрольної групи під час вживання ЗМВ і нормалізувався після переходу на стандартний водний раціон. Беручи до уваги, що еозинофільні й нейтрофільні гранулоцити характеризуються високим вмістом пероксидази, ефект збільшення їх вмісту в периферичній крові щурів може бути віднесений до активуючої дії додаткового надходження заліза в організм.

При оцінці ефективності впливу ЗМВ на перебіг відновних процесів за радіаційних уражень слід враховувати комплексність дії мінеральних вод, що зумовлена не лише вмістом активного заліза, а й детоксикуючим ефектом, вмістом інших сполук та мікроелементів. Зокрема, досліджувана вода Дравецького родовища характеризується високим вмістом кремнієвої кислоти, концентрація якої 156 мг/л. Оскільки офіційно для мінеральних вод прийнято її бальнеологічну концентрацію 50 мг/дм³, вміст кремнію у воді цієї свердловини перевищує норму в три рази. Кремній посилює процеси обміну, стимулює функцію печінки та наднирників, стабілізує м'язову активність. Вживання мінеральних вод, що містять кремній, підвищує імунітет організму, гальмуючи процеси старіння [14].

В опромінених тварин, які отримували мінеральну воду, відзначалось покращання клінічних проявів променевої хвороби: тварини були більш активними, у них не спостерігалось геморагічних явищ, значно меншою була втрата маси тіла (табл. 2).

Таблиця 2. Маса щурів через три тижні після опромінення ($x_{\text{ср.}} \pm \delta_p$, $P = 95\%$)

Групи*	Маса, г		Зміна маси (по $x_{\text{ср.}}$), %	Летальність, %
	на початок експерименту	через три тижні після опромінення		
III (5,0 Гр)	318±19	248±29	- 22	44
IV (5,0 Гр + ЗМВ)	310±16	280±30	- 10	11

* Маса неопромінених тварин протягом експерименту істотно не змінювалась.

Високу ефективність застосування ЗМВ встановлено за одним з основних критеріїв оцінки модифікаторів – виживаністю тварин, яка в IV групі становила 89 % на відміну від 56 % в опромінених тварин, які не вживали ЗМВ.

У літературі є багато даних про “латентний” дефіцит у системі кровотворення навіть через багато років після перенесення гострої променевої хвороби (ГПХ) [15, 16, 17]. У віддалені строки ГПХ функції гемопоєзу в ряді випадків можуть не повністю відновитися, у кровотворних тканинах зберігаються незворотні зміни. Курсове застосування природної мінеральної води з підвищеним вмістом заліза прискорює відновлення лейкоцитарної ланки в опромінених тварин і може бути одним із засобів корекції в крові активності важливого ферменту антиоксидного захисту організму – каталази. З огляду на роль фєроїонів у розвитку ланцюгових реакцій ПОЛ курсову профілактику слід проводити в комплексі з препаратами антиоксидної дії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бебешко В.Г., Бруслова К.М. Цветкова Н.М. та ін. Особливості перебігу анемії у дітей, що зазнають впливу комплексу несприятливих чинників аварії на ЧАЕС // Укр. медичний часопис. – 2000. – № 2/16. – С. 101 – 104.
2. Bradher R.A., Bain C., Siskind V. et al. Cohort study of internal malignancy in genetic hemochromatosis and other chronic nonalcoholic liver diseases // J. Natl. Canc. Inst. – 1985. – Vol. 75. – P. 81 – 84.

3. *Авцин А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А.* Микроэлементозы человека. – М: Медицина, 1991. – 496 с.
4. *Бабенко Г.А.* Микроэлементы в экспериментальной и клинической медицине. – К.: Здоров'я, 1965. – 185 с.
5. *Рябченко Н.И.* Влияние облучения и стрессовых воздействий на перекисное окисление липидов // Лекции Школы по радиационной биологии в "Галактике" / Под. ред. А. С. Саенко. – Обнинск: МРНЦ, РАМН, 2003. – С. 150 – 166.
6. *Суслова Т.Б., Владимиров Ю.А.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // Биологические мембраны / Под. ред. П. В. Сергеева. – М.: Медицина, 1973. – С. 75 – 94.
7. *Технология консервирования и разлива железистых минеральных вод, консервируемых органическими кислотами / В. М. Шестопалов, Н. П. Моисеева // Авт. право ПА № 1198 від 16.06.98.*
8. *Серкиз Я.И., Дружина Н.А., Хриенко А.П. и др.* Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии. – К.: Наук. думка, 1989. – 176 с.
9. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.
10. *Руководство по клиническим лабораторным исследованиям / Осн. В. Е. Предтеченским; Под. ред. Л. Г. Смирновой, Е. А. Коста. – М.: Медгиз, 1960. – 963 с.*
11. *Латач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2001. – 407 с.
12. *Белоус А.М., Конник К.Т.* Физиологическая роль железа. – К.: Наук. думка, 1991. – 103 с.
13. *Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.* Биологическая химия. – М.: Медицина, 1983. – 750 с.
14. *Лозинский А.А.* Лекции по общей бальнеологии. – М: Медгиз, 1949. – 368 с.
15. *Гуськова А.К., Байсоголов Г.Д.* Лучевая болезнь человека. – М.: Медицина, 1971. – 384 с.
16. *Alexsandrov S.N.* Late radiation pathology in mammals. – Berlin: Akademia-Verlag, 1982. – 156 p.
17. *Суворова Л.А.* Гематологические последствия перенесенного острого радиационного поражения у человека // Мед. радиология и радиац. безопасность. – 2000. – Т. 45, вып. 1. – С. 67 – 75.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖЕЛЕЗА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ В ДОЗЕ 5,0 Гр

**А. Ю. Моисеев, Н. К. Родионова, Н. А. Дружина, А. И. Липская, Ю. П. Гриневич,
О. Б. Ганжа, Л. В. Костюкова**

Исследовано влияние железосодержащей минеральной воды Дравецкого месторождения на клеточный состав и перекисные процессы в периферической крови крыс, облученных в дозе 5,0 Гр. Установлено, что курсовое применение минеральной воды с повышенным содержанием железа может быть одним из способов коррекции в крови активности важного фермента системы антиоксидантной защиты – каталазы.

INFLUENCE OF NATURAL MINERAL WATERS WITH HIGH CONTENTS OF IRON ON FREE-RADICAL PROCESSES AND COMPAUND OF PERIPHERAL BLOOD OF THE RATS IRRADIATED BY DOZE 5,0 Gy

**A. J. Moiseev, N. K. Rodionova, N. A. Druzhina, A. I. Lypska, Yu. P. Grinevich,
O. B. Ganzha, L. V. Kostyukova**

The influence of iron-containing mineral water of Dravets deposit on cellular compound and peroxide processes in peripheral blood of rats irradiated at 5,0 Gy was investigated. It was established that the course application of mineral water with high iron concentration can be one of the correction methods of the catalase activity - important blood enzyme of the antioxidant protection.

Надійшла до редакції 17.02.05,
після доопрацювання – 06.06.05.