

УДК619.615.8:636.9:619:612.015

Костюк С.С., Бойчук Р.Р. ©*НДІ фізіології та екоімунології тварин і птиці ЛНУВМ та БТ імені
С.З.Гжицького***АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕРАМІНУВАННЯ ТА
АЦЕТИЛХОЛІН ЕСТЕРАЗИ У КРОЛІВ ПРИ ГОСТРІЙ ПРОМЕНЕВІЙ
ХВОРОБИ ЗА ДІЇ ВІТАМІНУ В₆**

Вивчення характеру біологічної дії в різних дозах опромінення на живий організм, діагностика захворювання та профілактика опромінення залишається актуальним і досі, особливо, коли існує загроза опромінення при різних аварійних ситуаціях на численних атомних електростанціях України.

Ефективне використання тварин в умовах інтенсифікації тваринництва вимагає глибокого розуміння особливостей фізіологічних процесів у тварин і птиці, а також змін, які виникають в організмі під впливом різноманітних факторів навколишньосередовища, серед яких вважається іонізуюча радіація. Через інтенсивне випробування ядерної енергетики, виникненням аварій на атомних електростанціях стають нові завдання вивчення особливостей дії іонізуючого випромінювання на живий організм і пошук речовин, які зменшували б шкідливий вплив іонізуючої радіації на живий організм і серед них суттєву роль як радіопротектор відіграє піридоксин (вітамін В₆) (Чумаченко В.Ю.з співавторами, 1989, Нуго Аebi, 1982).

Мельничук Д.О., Мельникова Н.М., Кліх Л.В. (2006) встановили зниження активності аспартатамінотрансферази крові щурів під впливом іонізуючого випромінювання, через що можна передбачати сповільнення процесів дезамінування амінокислот, яке може виражатися у зниженні рівня аміаку та глютаміну в крові щурів.

Променева хвороба кролів після загального опромінення гама променями супроводжується зміною регуляції системи крові і проявляється хвилеподібний характер. Зміна функціонального стану і реактивності серцево-судинної системи при променевому ураженні є результатом порушень різних ланок нейрогуморальної регуляції. За цих умов істотна роль змін функцій парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи (Литвинов С.А., 1981).

Активність аланінамінотрансферази в сироватці крові у тварин після гострого радіаційного поразення зазнає чітких змін (Федорченко В.И., Моисеенко Е.В., Гуляр, 1993). У кроликів і тотально опромінених мишей на відміну від щурів активність сироваткової амінотрасферази явно підвищувалась, що вказує про видові відмінності.

Мета і завдання. В даній роботі метою було вивчення активності ферментів пере амінування і ацетилхолін естерази в кролів при гострій променевій хворобі за впливу піридоксину.

Матеріал і методи дослідження.

Дослідження проводили в дві серії. У першій серії досліджень вивчалася гостра променева хвороба тварин без будь-яких зовнішніх втручань. У другій — застосовувався до опромінення і протягом усього досліду після опромінення піридоксін.

Тварини двох серій досліджень були розділені на дві групи: контрольну (I) і дослідну (II) (Табл.1). Дослідній групі другої серії досліджень за день до опромінення і протягом усього досвіду вводили внутрішньом'язово 0,1 мл піридоксину гідрохлориду (вітамін В₆). Тварин опромінювали рентгенівськими променями DL = 50, яка становила 1000 рентген (V — 190 кV, A — 20 mA), фокусна відстань — 62 см, потужність 20 P / хв. З метою фільтрації м'яких променів застосовувалися алюмінієвий і мідний фільтри (Cu — 0,5, Al — 1 мм). Опромінення було тотальним і одномоментним.

Таблиця 1

Піддослідні тварини

Кролики	1-я серія досліджень		2-я серія досліджень	
	Вік (місяць)		Маса тіла (кг)	
	I група	II група	I група	II група
1	5	5	3,2	3,4
2	5	5	3,3	3,5
3	5	5	3,6	3,3
4	5	5	3,7	3,2
5	5	5	3,8	3,7

Результати досліджень. Активність аланінамінотрансферази до опромінення становила 6,33 мкмоль/мл/год інкубації. На перший день після опромінення спостерігалось зростання активності ферменту з наступним зменшенням. Слід відмітити, що активність АЛТ на протязі досліду була надзвичайно мінливою і вкінці майже на половину меншою від вихідного рівня. Характерною особливістю впливу піридоксину при променевої хворобі кролів — це нормалізація активності аланін амінотрансферази протягом досліду і навіть повернення до вихідного рівня в кінці досліду, на відміну від кролів контрольної групи, що підтверджує залежність активності цього ферменту від вітаміну В₆.

Активність аланінамінотрансферази сироватки кролів першої групи досліду становила 6,33 мкмоль/мл год. На п'ятий день досліджень після опромінення спостерігається підвищення активності ферменту до 7,37 мкмоль/мл год. В наступному активність ферменту знову наблизилася до вихідної величини і складала 6,48 мкмоль/мл год, а на 15-ий день достовірно (P<0,01) знизилася, в порівнянні з нормою, до 4,25 мкмоль/мл год. В дальнійшому активність, аланінамінотрансферази підвищилась і до 36-ої доби знову зменшилась до 3,35 мкмоль/мл год, що майже в два рази нижче вихідної величини.

На тлі дії піридоксину активність аланінамінотрансферази в сироватці крові кролів другої серії дослідів нормалізується, що вказує, що вона є піридоксинзалежним ферментом. Так, якщо до опромінення у кролів цієї групи активність ферменту становила 3,92 мкмоль/мл год, то в перші дні після

опромінення вона збільшилася до 5,09 мк моль/мл год. Величина активності цього фермента спостерігалась максимальною на 70-й день досліджень і складала 174 мк моль/мл хв ($P < 0,001$).

Таблиця.2.

Активність АсАТ, АлАТта АХЕ в крові кролів, $M \pm m$, $n=5$

	АсТ		АлА		АХЕ		АХЕ		АсТ		АлА		АХЕ		АХЕ
	мкмол мл год		мкмол мл год		еритроц.		сироватки		мкмол мл год		мкмол мл год		эритроц.		сироватки
	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m
норма	11,25± 2,4		7,4± 1,6		4,1± 3,1		34,48± 1,4		11,25± 2,4		6,33± 0,3		4,8± 2,1		35,28± 1,6
Після К R поромі- нення Д	6,25± 2,0 8,86± 1,8		4,8± 1,0 5,0± 1,7		2,1± 1,4 3,2± 0,9		25,50± 2,1		6,25± 2,0 8,86± 1,8		4,3± 1,7 5,4± 1,5		1,8± 0,8 2,9± 1,6		20,50± 2,14 28,32± 1,8
1-й К Д	7,52± 2,0 8,60± 2,8		4,6± 1,3 4,3± 1,4		2,3± 1,7 2,8		15,65± 3,8 19,32± 1,8		6,25± 2,0 8,86± 1,8	p	4,2± 1,7 5,1± 0,9		2,2± 1,6 3,3± 1,4		21,05± 2,8 29,22± 2,4
5-й К Д	8,25± 2,20 7,80± 2,4		4,9± 1,8 5,3± 1,5		2,7± 1,1 3,4± 1,3		18,45± 2,6 20,65± 3,0		7,21± 2,6 9,62± 2,3	p	4,6± 1,2 4,9± 1,3		2,4± 1,8 3,5± 1,7		22,55± 2,8 27,24± 3,1
15-й К Д	7,53± 2,4 8,80± 1,9		5,4± 1,6 5,0± 1,3		2,9± 1,6 3,4± 1,0		22,35± 2,4 21,45± 2,6		6,22± 2,0 8,88 2,4		4,5± 1,4 5,2± 0,8		2,5± 1,8 3,6± 2,2		22,35± 2,4 p 29,44± 2,7
36-й К Д	5,50± 2,6 6,40± 1,5		5,5± 1,0 4,8± 0,8		3,3± 1,2 3,0± 0,7		18,78± 2,8 19,65± 2,6		7,23± 2,2 9,44± 2,5		5,2± 1,4 5,6± 1,6		2,7± 2,1 3,8± 1,4		20,42±2,2 p 29,55± 2,2
56-й й К Д	9,20± 2,4 7,25± 1,6		5,1± 1,5 5,5± 0,7		3,1± 1,6 3,7± 1,4		23,86± 2,4 21,58± 2,0		6,58± 2,2 9,64± 2,6		5,2± 1,7 6,8± 1,2		2,6± 1,3 3,4± 1,0		23,86± 2,4 p 28,08± 2,5
76-й К Д	8,27± 2,4 8,06± 2,5		5,8± 0,8 5,4± 1,5		2,7± 1,2 2,5± 1,5		24,64± 1,8 23,88± 2,5		6,28± 2,0 10,0± 1,4	p	5,0± 1,8 6,2± 1,2		2,9± 1,4 3,8± 1,8		24,04± 1,8 p 29,28± 2,8

Примітка: $P < 0,05$

В подальшому спостерігалось різке падіння активності ацетилхолінестерази, яка знизилася майже в 3 рази, в порівнянні з вихідним показником і складала всього 25 мк моль/мл хв ($P < 0,001$). В посліуючі дні досліджень ативність фермента періодично змінювалася. Так, на 15-ий день зросла до 49 мк моль/мл хв. і до 36-го дня дещо знизилася (45 мк моль/мл хв).

Ацетилхолінестераза (АХЕ) еритроцитів у кроликів другої серії дослідів до опромінення була вища від першої серії майже в два рази і складала 150 мк моль/мл хв. Після опромінення активність АХЕ різко знизилася і складала 57 мк моль/мл хв. Як видно з Табл.2 ацетилхолінес-тераза еритроцитів була в межах 42 - 72 мк моль/мл хв, що значно вище кроликів, яким не вводили вітамін В₆.

Таким чином, піридоксин як симпатикотонічна речовина активізує АХЕ і вирівнює обмін речовин в в нормотонічному напрямку, що узгоджується з кофакторно субстратною теорією Стояновського С.В. з співавт.

Ацетилхолінестераза сироватки крові кролів першої серії дослідів становила 34,47 мк моль/мл хв. Зразу після опромінення активність АХЕ сироватки знизилася більше чим на половину і складала лише 15,50 мк моль/мл хв. В дальнійшому спостерігалось тимчасове підвищення активності фермента. Так, на 7-у добу її активність підвищилася до 63,82 мк моль/мл хв ($P < 0,001$). Слід зазначити, що до 15-го дня досліджень активність АХЕ еритроцитів та сироватки крові змінюється паралельно, навіть подібно: в скільки разів відносно вихідної величини змінюється активність АХЕ еритроцитів, у стільки разів відносно своєї вихідної величини змінюється активність ацетилхолінестерази сироватки.

На наступних етапах променевої хвороби спостерігалися різні зміни активності АХЕ сироватки і еритроцитів. Так, на 17-у добу активність АХЕ сироватки збільшилась до 15,37 мк моль/мл хв, а на 36-у – знизилася до 10,24 мк моль/мл хв.

Активність ацетилхолинестерази сироватки крові кроликів другої серії дослідів була вдвоє нижча від першої серії і становила 14,18 мк моль/мл хв. У перші дні після опромінення активність АХЕ знижується до 13,39 мк моль/мл хв, однак на 7-у добу на тлі дії вітаміну В₆ вона була вища від вихідної і становила 17,33 мк моль/мл хв.

Як видно з даних табл.2, активність ацетилхолінестерази періодично змінюється. Найбільш виражене зниження активності АХЕ було встановлено на 17-у добу досліджень і складало 4,33 мк моль/мл хв.

Слід відзначити, що на деяких періодах досліджень активність АХЕ була вірогідно вищою у дослідній групі, якій вводили піридоксину гідрохлорид. У кінці досліджень у дослідній групі тварин другої серії досліджень, яким вводили піридоксину гідрохлорид, активність ацетилхолінестерази зросла, і по вернулася до величини норми та утримувалася такою до кінця досліджень.

Висновки:

1. Гамма опромінення змінює активність АлАТ, АсАТ та АХЕ.

2. Під впливом екзогенного піридоксину активність вищедосліджуваних ферментів зменшувалася не істотно.

Література

1. Литвинов С.А. Влияние АХ и гистамина на содержание электролитов и катехоламинов в стенке сосудов в условиях рентгенооблучения и действия цистамина. // Фармакология и токсикология. – 1981. - т.44. - №1. – С.55-66.

2. Мельничук Д.О., Мельникова Н.М., Кліх Л.В. Вплив стабільних ізотопів стронцію на активність ферментів печінки отруєних щурів // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені с,з,Гжицького. – 2006. – Т.8, №4 (31), Ч.1. – С.103-106.

3. Федорченко В.И., Моисеенко Е.В., Гуляр С.А. Влияние малых доз радиации на периферическую кровь крыс и разработка способов модификации радиационных эффектов. дозах // Радиологический съезд. Киев, 20-25 сентября 1993 г. Тезисы докладов. – 1993. – С. 1038-1039.

4. Чумаченко В.Ю., Стояновський С.В., Лагодюк П.З. та ін. Довідник по застосуванню біологічно активних речовин у тваринництві. К.- Урожай. - 1989.-264 с.

5. Hugo Aebi. Action of vitamins on enzymes // Trends pharm. Sci. – 1982. – V.3. - №4. – P. 150-15.

Стаття надійшла до редакції 10.05.2011