

УДК 612. 223 [274, 761]

**А.Ю. Капова, студ., Ю.В. Притула, студ., О.Д. Павліченко  
ст. викл., С.Г. Каракіс, ст.н.сп.**

**АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ  
ПІСЛЯ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,  
біологічний факультет, кафедра фізіології людини та тварин, пров.  
Шампанський, 2, Одеса, 65058,  
Україна, тел.: (048) 687-932, e-mail: Alka\_Kapova@mail.ru

Kapova A. U., Pritula U. V., Pavlichenko O. D., Karakis S.G  
Odessa National Mechnikov University,  
Department of man's and animal's physiology,  
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65082, Ukraine

**AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN TISSUES OF RATS AFTER  
X-IRRADIATION**

**Summary**

Activity of alaninaminotrasferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) were studied in the organs (liver, heart, brain) of white rats. It is shown that radiation exposure had a negative impact on the internal organs, caused activation of transamination processes in the radiosensitive organs of rats. Found that the UHF, as well as an introduction to the diet of rats complex of vitamins, mutant strains of spirulina biomass 27G, 198B caused the normalization of the level of aminotransferase activity in the tissues of irradiated rats.

**Вступ**

Вплив екологічних факторів на здоров'я людини в останні десятиліття все більше привертає увагу учених самих різних спеціальностей. В умовах екологічної ситуації, що погіршується, і постійного техногенного впливу людина, як і все живе, перебуває в стані пригніченої адаптації. У зв'язку з широким розповсюдженням ядерних технологій, що сприяють неминучому розширенню кола людей, які підлягають дії іонізуючого випромінювання, пошук засобів захисту людини від дії радіації має особливу актуальність. При дії іонізуючого опромінення на живі організми відбуваються зміни в життєдіяльності і структурі цих організмів. В результаті ланцюгових реакцій, що виникають при поглинанні енергії випромінювання, змінюються компоненти клітини, у тому числі, макромолекули (ДНК, ферменти та ін.). Це призводить до зміни активності ферментів, порушенню ферментативних реакцій фізіологічних процесів і клітинних структур [1, 3, 5].

В наш час велика увага приділяється розробці та вивченню можливостей використання препаратів природного походження для послаблення біологічних ефектів іонізуючого ураження. Серед природних адаптогенів по ефективності і спектру позитивної біологічної дії на організм людини і лабораторних тварин в несприятливих умовах довкілля виділяється синьо-зелена водорість *Spirulina platensis*. Завдяки своєму унікальному складу біомаса спіруліни має антиоксидантну, імуномодуючу, імуностимулюючу дію і здатна коригувати зміни метаболізму, які виникають під дією несприятливих зовнішніх факторів [9].

Метою даного дослідження було вивчення особливостей впливу одноразового рентгенівського опромінення в дозі 6 Гр на активність амінотрансфераз в тканинах органів щурів на тлі прийому біомаси різних штамів спіруліни, вітамінного комплексу та дії УВЧ.

#### **Метеріали і методи дослідження**

Експеримент проводили на 30 білих лабораторних щурах-самцях масою 240 – 260 г. В експерименті брали участь статевозрілі щури одного місяця народження з метою звести до мінімуму вікові відмінності ферментів. Щурів утримували в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води і їжі. Тварини були розділені на 5 груп по 6 особин в кожній.

Усі групи тварин були залучені до експерименту одночасно, що виключало вплив зовнішніх температурних, кліматичних та інших факторів на різницю активності ферментів дослідних і контрольних груп.

Перша група була контрольною. Її склали інтактні тварини. Тварини інших 4-х груп підлягали дії одноразовому рентгенівському опроміненню в дозі 6 Гр. Опромінювання здійснювали за допомогою гаматерапевтичного апарату «АГАТ-С» за наступних технічних умов: середня енергія випромінювання – 1,25 МеВ відстань «джерело – поверхня» 125 см. Тривалість опромінення - 40 хвилин.

Тварини 3-ї, 4-ї і 5-ї груп підлягали дії неіонізуючого випромінювання щоденно протягом тижня. Джерелом електромагнітного випромінювання була УВЧ – установка. Вибір доз обумовлений літературними даними [11].

Усі тварини знаходилися на стандартному раціоні віварію. Додавання біомаси штамів спіруліни (250 мг сухої ваги на кг маси тіла) до корму щурів 3-ої, 4-ої і 5-ої груп починали за тиждень до опромінення і здійснювали щодня упродовж усього експерименту. Тварини 3-ї групи отримували біомасу штаму 27G, тварини 4-ї групи - біомасу штаму 27G та вітамінний комплекс ( $B_1$  – 6 мг на кілограм маси; нікотинова кислота – 20 мг/кг; рибофлавін-монопнуклеотид – 2 мг/кг; ліпоєва кислота – 2 мг/кг; пантогенат кальцію – 25 мг/кг;  $B_6$  – 5 мг/кг); 5-ї групи - вітамінний комплекс і біомасу штаму 198В.

Штами мутанта 27G та 198В отримані співробітниками лабораторії «Біологічно - активних речовин» при кафедрі фізіології людини і тварин біологічного факультету Одеського національного університету імені І.І. Мечникова в результаті тривалої селекційної роботи. Властивості штамів описані [4, 6].

Через 4 тижня щурів забивали у відповідності до етичних норм під ефірним наркозом методом декапітації, потім проводилося вилучення органів.

Активність амінотрансфераз визначали в гомогенатах серця, печінки, мозку за загальноприйнятими методами з використанням стандартних наборів реактивів виробництва НПП «Філісит діагностика», АО «Реагент» (м. Дніпропетровськ) [2].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерія Ст'юдента.

### **Результати та їх обговорення**

Амінотрансфрази приймають участь в трансамінуванні - процесі, який має важливе значення для енергетичного обміну та азотистого обміну. Встановлено, що будь-які стани, що потребують термінової мобілізації компонентів білку для покриття енергетичних потреб організму, пов'язані з адаптивним, гормонально-стимульованим біосинтезом перш за все аланін-і аспартат-амінотрансфераз. Через трансамінази зв'язуються потоки не тільки обміну амінокислот білків, але й вуглеводів. В печінці відбувається інтеграція метаболізму за участі трансаміназ. Вони регулюють потоки метаболітів між органами. АлАТ накачує глюкозу, а АсАТ компенсує підвищення аміаку [7, 8, 10].

В результаті проведених досліджень нами було встановлено, що в нормі активність аспартатамінотрансфери в серці щурів інтактної групи становила  $672 \pm 44$  мкмоль/г х год. (рис 1). В серці щурів опроміненого контролю спостерігалася тенденція до підвищення швидкості ферментативного трансамінування з L-аспартат на кетоглутарову кислоту на 12,5 % у порівнянні з інтактною групою. У щурів дослідних груп № 3 - № 5 показники активності ферменту АсАТ в гомогенатах серця не відрізнялися від значень активності цього ферменту в тканинах серця щурів інтактної групи. Стосовно показників активності АлАТ треба відмітити, що в контрольній групі щурів, яку тільки опромінювали, спостерігалася тенденція до збільшення активності фермента в серці на 21 % відносно контрольної інтактної групи, при цьому в групах тварин, що окрім опромінення підлягали дії УВЧ та приймали біомасу штаму 27G або комплекс вітамінів

з комбінацією біомаси мутантних штамів, відмічена тенденція до зниження активності в середньому на 13 %.

Таким чином, в тканинах серця нами не було виявлено достовірних відмінностей в змінах активності обох амінотрансфераз.

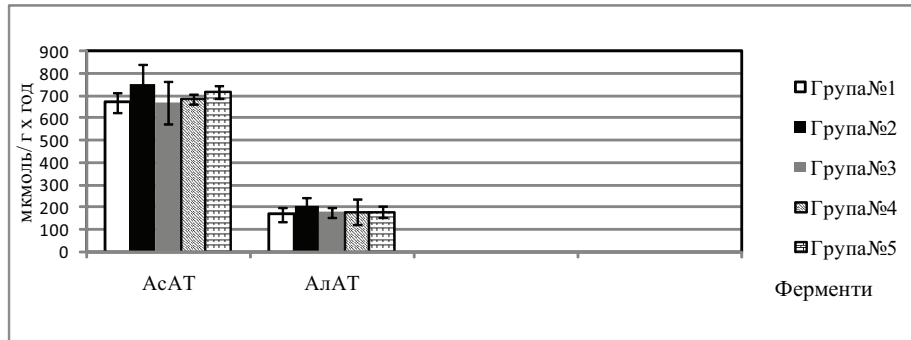


Рис. 1. Активність амінотрансфераз в серці щурів після  $\gamma$ -опромінення у дозі 6 Гр на тлі застосування штамів спіруліни, вітамінного комплексу та УВЧ

Група № 1 – контроль № 1 (інтактний); група № 2 – контроль № 2 (опромінений); група № 3 – опромінення + (27G+УВЧ); група № 4 – опромінення + (27G+BK+УВЧ); група № 5 – опромінення + (198B+BK+УВЧ)

Під впливом іонізуючого опромінення активність АсАТ в гомогенатах печінки щурів змінювалася наступним чином (рис. 2). У печінці щурів, які підлягали дії лише опромінення, спостерігалася тенденція до зростання активності фермента на 20 % відносно інтактної групи. У тварин, в раціон яких вводили біомасу мутантного штаму спіруліни 27G на тлі застосування УВЧ, виявлено достовірне ( $p < 0,05$ ) зменшення активності АсАТ на 12 % відносно опроміненого контролю. Введення штамів 27G або 198B з вітамінним комплексом в харчовий раціон тварин на тлі дії УВЧ сприяло достовірному ( $p < 0,05$ ) зменшенню активності аспартатамінотрансферази на 17 % відносно показників опроміненої групи (контроль № 2).

Активність аланінамінотрансферази в гомогенатах печінки щурів групи № 2 в результаті дії опромінення достовірно ( $p < 0,01$ ) була більшою і складала 140 % відносно інтактної групи, а введення в харчовий раціон щурів 3-ї групи біомаси штаму 27G сприяло достовірному ( $p < 0,05$ ) зниженню активності цієї трансамінази на 10 %. Введення вітамінного комплексу у композиції з біомасою мутантних штамів 27G або 198B на тлі дії УВЧ мало найбільшу захисну реакцію - швидкість ферментативного трансамінування з L-аланіну на кетоглутарову кислоту в печінці тварин 4-ї та 5-ї груп достовірно зменшилася ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ) на 20 % та 21 % відповідно у порівнянні тільки з опроміненними щурами.

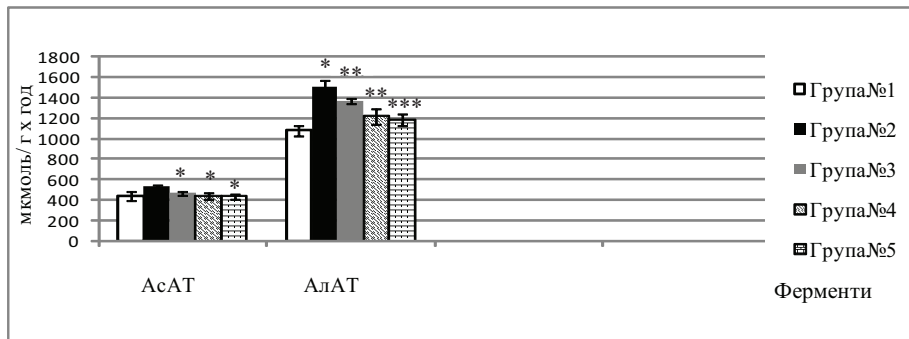


Рис. 2. Активність амінотрансфераз в печінці щурів після  $\gamma$ -опромінення у дозі 6 Гр на тлі застосування штамів спіруліни, вітамінного комплексу та UVB

Група № 1 – контроль №1 (інтактний); група № 2 – контроль № 2 (опромінений); група № 3 – опромінення + (27G+UVB); група № 4 – опромінення + (27G+BK+UVB); група № 5 – опромінення + (198B+BK+UVB)

\* -  $p < 0,001$  зміни достовірні у порівнянні з контролем №1

\*\* -  $p < 0,05$  зміни достовірності у порівнянні з контролем № 2

\*\*\* -  $p < 0,01$  зміни достовірності у порівнянні з контролем № 2

Таким чином, відбувалося значне зниження рівня активності амінотрансфераз в печінці на тлі дії UVB, під впливом біомаси штамів спіруліни, а їх спільна композиція з вітамінним комплексом виявляла ще більш виражений позитивний ефект.

Як видно з представлених даних на рис. 3, одноразове опромінення в дозі 6 Гр істотним чином не вплинуло на активність досліджених ферментів. На відміну від тканин печінки, в гомогенатах мозку не виявлені статистично достовірні зміни активності амінотрансфераз в усіх групах. Швидкість ферментативного трансамінування з L-аспартату та з L-аланіну на кетоглутарову кислоту в гомогенатах мозку тварин контрольної групи після опромінення залишалася незмінною і дорівнювала значенням цього показника у щурів інтактної групи. Активність АсАТ і АлАТ в мозку тварин 3-ї, 4-ї та 5-ї груп не змінювалася відносно обох контрольних груп.

В результаті проведеного дослідження нами не було виявлено достовірних відмінностей в змінах активності обох амінотрансфераз в тканинах серця та мозку. Таким чином, в радіорезистентних тканинах метаболічні зрушення невеликі або відсутні. З літературних джерел [11] відома закономірність, яка чітко виявляється при вивченні порівняльної радіочутливості тканин: найвищою радіочутливістю володіють ті тканини, в яких процеси ділення клітин виражені найбільш інтенсивно.

Ядро клітини володіє особливо високою радіочутливістю в порівнянні з цитоплазмою, порушення ядерних структур більш істотно позначається на життєздатності і життєдіяльності клітини. Численні дані показують, що при опроміненні уражаються насамперед зростаючі тканини. Нервова тканини є радіорезистентною, тому що нервові клітини не мають здатності до поділу.

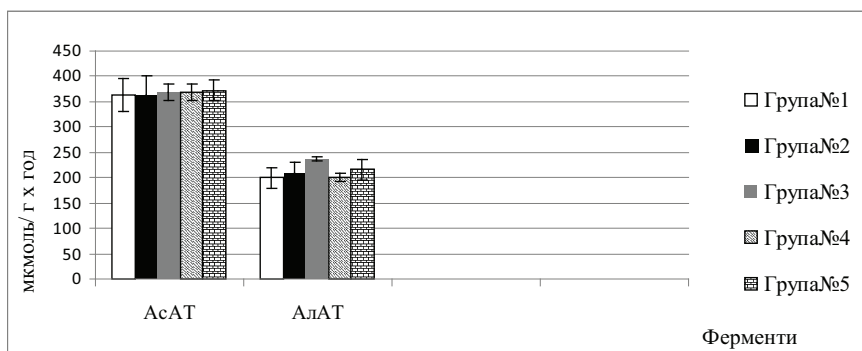


Рис. 3. Активність амінотрансфераз в мозку щурів після  $\gamma$ -опромінення у дозі 6 Гр на тлі застосування штамів спіруліни, вітамінного комплексу, УВЧ

Група № 1 – контроль №1 (інтактний); група № 2 – контроль № 2 (опромінений); група № 3 – опромінення + (27G+УВЧ); група № 4 – опромінення + (27G+BK+УВЧ); група № 5 – опромінення + (198B+BK+УВЧ)

Показано, що серед досліджених органів найбільш чутливим до дії  $\gamma$ -опромінення була печінка. При дії іонізуючого опромінення в тканинах печінки спостерігалось значне підвищення активності амінотрансфераз, з переважним збільшенням аланінамінотрансферази, можливо, це пов'язано з тим, що АлАТ є маркером периферичної зони катаболізму, і його вміст в тканинах печінки великий [7]. Відомо (11), що активація біосинтезу основних метаболічних субстратів в печінці є наслідком регуляторних ефектів, що викликаються метаболітами радіо чутливих тканин, перш за все амінокислотами. Спостережуване нами збільшення швидкості трансамінування в гомогенатах печінки може бути наслідком субстратного активування досліджуваних ферментів. Вільно-радикальні ланцюгові реакції, ініційовані дією іонізуючого випромінювання, можуть призводити до метаболічних розладів і появи невластивих організму сполук. Ці сполуки можуть викликати неспецифічне підвищення ферментативної активності. Можливо, це обумовлено їх взаємодією з молекулами ферментів, що призводить до розкриття додаткових активних центрів, що веде до підвищення активності амінотрансфераз.

Виявлено, що під впливом компонентів біомаси штамів спіруліни, вітамінного комплексу та дії УВЧ відбувалося значне зниження активності амінотрансфераз в тканинах печінки незважаючи на їх виражене радіаційне ураження. Спільна композиція з УВЧ, вітамінного комплексу, штаму 27G або 198B виявляла ще більш виражений позитивний ефект.

### **Висновки**

1. Виявлено, що у досліджуваних щурів найменш чутливим до дії іонізуючого опромінення був мозок, а найбільш чутливим – печінка.
2. Встановлено значне збільшення активності амінотрансфераз, особливо аланінамінотрансферази, у печінці щурів після іонізуючого опромінення.
3. Спостерігали ефективне зниження рівня активності амінотрансфераз у печінці опромінених щурів на тлі дії УВЧ, під впливом біомаси штамів спіруліни 27G. Більш виражений захисний ефект виявила комбінація УВЧ, вітамінного комплексу із штамами 27G або 198B.

### **Список літератури**

1. *Горизонов П. Д.* Гомеостаз, его механизмы и значения. – М.: Медицина, 1981. – С. 5 – 28.
2. *Горячковський А. М.* Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочник. - 3-е изд. – Одесса: Астропринт, 2005. – 616 с.
3. *Жиеев Е. Р., Ушаков И. Б., Солдатов С. К.* Ближние и отдаленные гематологические последствия при действии малых доз ионизирующего излучения // Воен. Мед. Журн. – 1992. - № 11. – С. 44 – 47.
4. *Каракис С. Г.* Информация о штаммах мутантов *Spirulina platensis* с повышенным содержанием белка и свободных аминокислот // Микробиологический журн. – 1994. – Т. 56 № 1. – С. 63.
5. *Когл Дж.* Биохимические эффекты радиации: Пер. з. англ. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 184 с.
6. *Королев Л. М., Браун И. И., Каракис З. Р., Васильева Т. С., Чабанова Ю. А.* Пострадиационное применение витаминсодержащих комплексов и экстрактов фикоцианина при облучении крыс // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 3. – С. 310 – 314.
7. *Рослый И.М., Абрамов С.В., Акуленко Л.В.* Принципы анализа ферментемии: Учеб. Пособие. М.: Изд-во Моск. Гос. Мед.-стоматол. Ун-та, 2003.- 45 с.
8. *Силиванов М.П.* Клиническая биохимия. М.: Мир, 1984.- 543 с.
9. *Сиренко Л.А., Козицкая В.Н.* Биологически активные вещества водорослей и качество воды. – Киев: Наук. Думка, 1988. – 253 с.

10. *Фергит Е.* Структура и механизм действия ферментов. - М.: Мир, 1980.-414 с.
11. *Ярмоненко С.П.* Радиобиология человека и животных.- М.: Высш.шк.- 1988.- 375 с.