

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИХ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

В. П. СЛАВОВ, И. В. ЧАЛА, Н. И. ДЕДУХ, В. Н. БИДЕНКО

*Житомирский национальный агроэкологический университет
г. Житомир, Украина, 10002*

(Поступила в редакцию 03.02.2018)

Статья посвящена исследованию влияния хронического действия ионизирующего излучения низкой интенсивности в пост-чернобыльский период на интенсивность перекисного окисления липидов и глутатионового звена антиоксидантной системы молочных коров и на изменения редокс-потенциала крови. Установлено, что содержание коров на территориях с повышенной плотностью радиоактивного загрязнения и с дополнительным хроническим облучением низкой интенсивности приводит к увеличению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, накопление в крови их гидроперекисей и малонового диальдегида. Установлено также, что активность глутатионового звена антиоксидантной системы в крови коров в условиях постоянного воздействия инкорпорированных радионуклидов существенно снижена, что проявляется значительным уменьшением восстановительной доли глутатиона и увеличение доли окисленной формы, что свидетельствует о дефиците восстановительного потенциала крови животных.

У коров, содержащихся в условиях хронического облучения низкой интенсивности, редокс-потенциал меняется в сторону положительных значений, что свидетельствует о наличии в крови окисленных продуктов и дефицита восстановительных эквивалентов.

Ключевые слова: *радионуклиды, коровы, кровь, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, антиоксидантная система, восстановленный глутатион, окисленный глутатион, редокс-потенциал.*

The article is devoted to the investigation of the effect of the chronic action of low-intensity ionizing radiation in the post-Chernobyl period on the intensity of lipid peroxidation and the glutathione link of the antioxidant system of dairy cows and on changes in the redox potential of the blood. It was discovered that the keeping the cows in areas with high density of radioactive contamination and with additional chronic low-intensity irradiation leads to an increase in the intensity of processes of lipid peroxidation, the accumulation in the blood of their hydroperoxides and malonic dialdehyde. It is also established that activity of the glutathione unit of the antioxidant system in the blood of cows is significantly reduced in conditions of constant exposure of incorporated radionuclides. This shows a significant decrease in the proportion of reducing glutathione and increase of the oxidized form. This indicates a deficiency in the recovery potential of animal blood.

Cows, kept in conditions of chronic low-intensity irradiation, have redox - potential changes in the direction of positive values. This indicates the presence in the blood of oxidized products and the deficit of reducing equivalents.

Key words: *radionuclides, cows, blood, peroxide oxidation of lipids, malonic dialdehyde, antioxidant system, reduced glutathione, oxidized glutathione, redox potential.*

Введение. В пост-чернобыльский период проблема радиоактивного загрязнения окружающей среды привлекает внимание большого числа специалистов, в том числе и ветеринарной службы. Сегодня, в более поздний период после аварии на ЧАЭС, исследователи вновь обращаются к изучению системы естественной резистентности в защите организма от дополнительного ионизирующего излучения. В этом плане влияние хронического действия малых доз радиации на организм человека и животных представляется наиболее важным и особенно актуальным. Лучевые проявления хронического радиационного воздействия низкой интенсивности имеют сложный характер, так как длительное повреждение клеток сочетается одновременно с процессами репарации в них. А скорость протекания этих реакций определяется многими факторами – продолжительностью облучения, его характером, мощностью дозы, чувствительностью клеточных, тканевых систем, видом и возрастом животных и т. д. [3, 6].

В связи с этим возникает необходимость создания научно обоснованной системы повышения неспецифической резистентности организма с целью коррекции возникших изменений и профилактики возможных последствий воздействия излучения в малых дозах. Требуется целенаправленная систематизация и анализ эффективности применения различных методов коррекции неблагоприятного влияния ионизирующего излучения.

Поэтому возникает потребность в оценке особенностей длительного воздействия малых доз радиации на органы и системы, в том числе иммунную и антиоксидантную, разработке методов определения уровня адаптационных возможностей организма и путей коррекции их нарушений при хроническом облучении низкой интенсивности.

Анализ источников. Радиоактивные вещества – наиболее сильные депрессанты, которые подавляют и повреждают все механизмы защиты организма животного. Под действием радиоактивного облучения возникает диспропорция медиаторных взаимоотношений в структурах головного мозга, в результате чего снижается нейромедиаторная адаптация. Это, в свою очередь, приводит к дисфункции иммунной системы и снижению реактивности организма. Ряд исследований свидетельствует о том, что хроническое воздействие ионизирующего излучения в малых дозах вызывает существенные нарушения естественной резистентности и иммунного гомеостаза [2, 5, 7]. Однако изменение функциональной активности отдельных механизмов защиты организма у

сельскохозяйственных животных, содержащихся на территориях, загрязненных радионуклидами, изучено крайне недостаточно.

Установлено, что снижение уровня естественной резистентности животных при воздействии ионизирующего излучения проявляется, прежде всего, биохимическими изменениями в организме, в частности, радиолиз воды, в результате которого образуется ряд соединений с высоким уровнем свободной энергии. Одним из таких продуктов радиолиза воды является супероксидный радикал, что инициирует ряд цепных реакций перекисления [1].

Поскольку цитоплазма клетки является наиболее обводненной, то и интенсивность перекисного окисления является высокой. Наиболее чувствительными являются липидные компоненты цитоплазматических мембран, в результате перекисного окисления образуются гидроперекиси липидов, а точнее жирных кислот, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид. Также супероксид радикала может взаимодействовать с белками, образуя атипичные формы последних [8].

В тканях животного организма образования свободных радикалов и перекисных соединений происходит непрерывно и в нормальных условиях, уравнивается системой природных биоантиоксидантов.

Установлено, что влияние экстремальных факторов вызывает усиление перекисного окисления липидов, которое, с одной стороны, существенно влияет на метаболизм клетки, в частности изменяет защитные, транспортные функции мембран клетки, меняет их поляризацию и т. д., с другой – требует значительных восстановительных резервов для инактивации продуктов перекисления. Такие изменения при длительном воздействии низко интенсивного ионизирующего излучения вызывают определенное напряжение биохимических процессов в результате, которого в тканях организма накапливаются продукты перекисидации, обладающих токсическим эффектом и оказывают повреждающее действие на биомембраны и другие клеточные структуры [2, 3].

Важную роль в функционировании этих веществ играют тиоломистки соединения и, в частности, глутатион – один из важных компонентов поддержки окислительно-восстановительного гомеостаза.

По химической природе глутатион является трипептидом (глутамилцистеинилглицин), который содержит сульфгидрильную группу – SH, способную легко отдавать H^+ и электроны, e^- , при этом две молекулы глутатиона взаимодействуют между собой, образуя дисульфидные связи -S-S- молекулы окисленного глутатиона. Глутатионовая

система является универсальной восстановительной системой и используется не только в процессах обезвреживания продуктов перекисного окисления липидов, она необходима для реакций восстановления ксенобиотиков, восстановление структуры ферментов и др. [8].

Для оценки состояния окислительно-восстановительных процессов наряду с другими показателями используют редокс-потенциал, характеризующий отношение окисленных и восстановленных эквивалентов. Венозная кровь клинически здоровых животных имеет значение редокс-потенциала крови близки к -7 мВ, знак «-» перед числовым значением указывает на наличие восстановительных потенциалов [5].

Эндогенные тиолы повышают резистентность животного организма к повреждающему воздействию перегрева, участвуя в структурной и химической стабилизации SH-групп, различных ферментов, гемоглобина и других веществ, которые участвуют в процессах окисления и восстановления. Несмотря на актуальность данной проблемы, в литературе недостаточно данных по влиянию низко интенсивного ионизирующего излучения на окислительно-восстановительные процессы в клетках и установления первичных биохимических механизмов данного воздействия.

Поэтому **основной целью** исследований было изучение уровня окислительно-восстановительных процессов в крови животных под действием хронического ионизирующего излучения малой интенсивности.

Материалы и методы исследований. Для реализации цели исследований ставились задачи по определению показателей перекисного окисления липидов (гидроперекисей липидов и малонового диальдегида), показателей антиоксидантной системы: содержания общего, восстановленного и окисленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы и редокс-потенциала крови коров, находящихся в зоне, загрязненной радионуклидами чернобыльского происхождения по сравнению с их аналогов, находящихся в условно благополучной зоне, не подвергшейся радиоактивному загрязнению.

Для исследований были сформированы две группы молочных коров черно-пестрой породы по 10 голов в каждой по принципу аналогов по живой массе, возрасту, стадии лактации и молочной продуктивности. Животные опытной группы содержались на радиоактивно загрязненной территории зоны безусловного (обязательного) отселения (II зона) с плотностью загрязнения $10 - 15$ Ки/км² ($370 - 555$ Бк/км² у фермерского хозяйства «Кавецкий», отделение которого расположено

в пгт. Народичи Житомирской области. Животные контрольной группы содержались на экологически благополучной территории в фермерском хозяйстве «Осенняя Калина» пгт. Барановка Житомирской области. Животные обеих групп получали одинаковые рационы, сбалансированные в соответствии норм кормления.

Для исследований отбирали кровь из яремной вены с соблюдением правил асептики и антисептики. Нативную кровь стабилизировали цитратом натрия. Содержание общего и восстановленного глутатиона определяли спектрофотометрическим методом с реактивом Эллман (5,5-дитио-бис (2-нитробензойной кислотой), концентрацию гидроперекисей липидов – спектрофотометрическим методом концентрацию малонового диальдегида – в реакции с тиобарбитуровой кислотой, активность глутатионпероксидазы – фотометрическим методом в реакции окисления бензидина перекисью водорода. Редокс-потенциал крови определяли методом потенциометрии иономером лабораторным И-160 с использованием индикаторного электрода ЕРП-101 в среде 3 моль/л хлорида калия, применяли электролитический ключ для микродоз. Гамма-фон в помещениях определяли с помощью радиометра СРП-88-01, радиоактивность кормов по ^{137}Cs определяли на гамма-спектрометре АК-01с. Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований. Ответная реакция животных на действие ионизирующего излучения оценивается комплексом показателей, охватывающих разносторонние проявления жизнедеятельности организма. В этот комплекс, прежде всего, входят показатели радиологических условий содержания животных: мощность экспозиционной дозы и уровень инкорпорированных радионуклидов. Из других важных показателей можно рассмотреть некоторые показатели окислительно-восстановительных процессов и факторы неспецифической защиты. Итак, направленность и степень изменений иммунологической реактивности животных при воздействии радиации определяется главным образом мощностью облучения и поглощенной дозой [5, 7].

Для изучения радиологических условий содержания подопытных коров в хозяйствах, в которых выполнялись исследования, определяли плотность загрязнения территории, гамма-фон животноводческих объектов и радионуклидного загрязнения основных кормов. Результаты этих исследований приведены в табл. 1.

Таким образом установлено, что радиологические условия содержания животных опытной группы существенно отличались от таковых

в контрольной группе. Животные опытной группы содержались на территории с плотностью загрязнения более 400 кБк / м², что почти в 20 раз выше на территории контрольной группы.

Таблица 1. Радиологические условия содержания животных

Показатели	Группы животных	
	I (Контрольная)	II (Опытная)
Загрязнение с/х угодий, кБк / м ²	19,7 ± 4,22	408,0±37,49
МЭД в коровнике, мкР/час	10 ±0,3	17±0,4
МЭД на выгульных двориках, мкР/час	9±1,3	21±1,7
МЭД на пастбище, мкР/час	7 ±0,9	19±0,9
Средняя сумарная активность рациона, Бк/сутки	195,0	3924,0

В результате у животных второй группы суммарная доза поступления радионуклидов ¹³⁷Cs из рациона в сутки составляла в среднем 3924,0 Бк против 195,0 Бк у животных контрольной группы.

В своих исследованиях мы исходили из того, что при повышенном уровне воздействия ионизирующего излучения функциональная активность процессов окисредукции в крови (восстановленный-окисленный глутатион) и один из первичных продуктов перекисного окисления жирных кислот гидроперекиси липидов (ГПЛ) определяют общее направление сдвигов окислительно-восстановительных процессов в организме, характеризуя состояние обмена веществ.

У животных опытной группы под влиянием ионизирующей радиации наблюдался выраженный расстройство окислительно-восстановительных процессов (табл.1). Как видно из представленных данных, содержание ГПЛ в крови коров опытной группы имел тенденцию к росту, составлявшее 37,8 %. Однако указанные продукты являются неустойчивыми, поэтому наблюдались достаточно широкие колебания показателя. Вместе с тем содержание в крови малонового диальдегида, что является относительно устойчивой составом, был достоверно большим у животных опытной группы по сравнению с контроля, – увеличение составило 42,4 %. Полученные результаты свидетельствуют о росте интенсивности перекисного окисления липидов в крови коров, которые содержались на территориях, загрязненных радионуклидами.

Среди показателей антиоксидантной системы важное значение имеет глутатионовой система, которая включает субстратную и ферментной звена. Субстратом является восстановленный глутатион, со-

держание которого имел тенденцию к снижению у коров опытной группы по сравнению с контроля, указанное снижение составило 37,5 %.

Таблица 2. Показатели окислительно-восстановительных процессов крови коров ($M \pm m$, $n=10$)

№ п/п	Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Показатели перекисного окисления липидов			
1	Гидроперекиси липидов, отн. ед./мл	$4,37 \pm 0,48$	$6,02 \pm 0,92$
2	Малоновый диальдеги, мкмоль/л	$1,32 \pm 0,18$	$1,88 \pm 0,24^*$
Показатели активности антиоксидантной защиты			
3	Глутатион общий, ммоль/л	$1,38 \pm 0,21$	$1,47 \pm 0,18$
4	Глутаттон восстановительный, ммоль/л	$0,99 \pm 0,12$	$0,72 \pm 0,09$
5	Глутатион окислительный, ммоль/л	$0,39 \pm 0,09$	$0,75 \pm 0,13^*$
6	Активность глутатионредуктазы, мкмоль/мин./ г белка	$1,91 \pm 0,21$	$1,62 \pm 0,17$
7	Редокс-потенциал, мВ	$-7,5 \pm 3,3$	$+14,3 \pm 5,7$

* – $p < 0,05$.

По содержанию в крови окисленного глутатиона зависимость была обратной, его уровень содержания в крови коров опытной группы был достоверно выше по сравнению с контроля на 92 %.

Следует отметить, что в опытных животных содержание общего глутатиона имел тенденцию к росту по сравнению с контроля, свидетельствует о возможном компенсаторное увеличение синтеза данного трипептида в условиях роста напряженности окислительно-восстановительных процессов у животных опытной группы. Увеличение доли окисленного глутатиона вызвано, с одной стороны, увеличением расходов восстановительной фракции для обезвреживания перекисленных продуктов, с другой – уменьшением восстановления его окисленной фракции. Как свидетельствуют результаты исследований активности одного из ключевых ферментов глутатионовой системы – глутатионредуктазы, что катализирует реакцию восстановления окисленного глутатиона, то у животных опытной группы она имела тенденцию к снижению. Активность данного фермента зависит от многих факторов, одним из которых является наличие цинка, который является коферментом данного фермента. Как известно, Северное Полесье Украины характеризовалось относительно низким содержанием мно-

гих биогенных элементов в почвах еще в доаварийный период. Ряд агротехнических мероприятий, направленных на уменьшение обменной доли радионуклидов в почвах, привели и к уменьшению обменной доли микро- и макроэлементов.

Таким образом, у коров опытной группы наблюдается накопление продуктов перекисного окисления липидов на фоне уменьшения восстановительных резервов глутатионового звена антиоксидантной системы. С целью обобщающей оценки состояния окислительно-восстановительной системы исследовали уровень редокс-потенциала. Как видно из представленных в таблице данных, этот показатель у коров контрольной группы имел отрицательные значения, что свидетельствует о наличии восстановительных эквивалентов, способных отдавать электроны, тогда как у животных опытной группы средние значения данного показателя имели положительное значение, что свидетельствует о преобладании окисленных продуктов, т. е. смещение окислительно-потенциала в положительную сторону свидетельствует о накоплении окисленных эквивалентов, которые не компенсируются восстановительным резервом. Следует отметить, что редокс-потенциал существенно зависит от содержания свободных ионов металлов в крови и т. д., поэтому он характеризует не только состояние перекисного окисления липидов, а соотношение между окисленными и восстановительными эквивалентами. Поэтому, как отмечалось ранее, [8] для животных, содержащихся в условиях длительного действия малых доз ионизирующего излучения увеличение редокс-потенциала чрезвычайно опасным, поскольку при таких условиях нарушается электрический заряд мембран клеток, уменьшается подвижность клеток крови, их кооперация.

Заключение. Результаты исследований позволяют утверждать, что содержание коров на территориях с повышенной плотностью радиоактивного загрязнения и с дополнительным хроническим облучением низкой интенсивности приводит к увеличению интенсивности процессов перекисного окисления липидов, накопление в крови их гидроперекисей и малонового диальдегида по сравнению с таковым у крови коров, которые содержались на экологически благополучных территориях. При этом активность глутатионового звена антиоксидантной системы в крови коров в условиях постоянного воздействия инкорпорированных радионуклидов существенно снижена, что проявляется значительным уменьшением восстановительной доли глутатиона и

увеличение доли окисленной формы, что свидетельствует о дефиците восстановительного потенциала крови животных.

У коров, содержащихся в условиях хронического облучения низкой интенсивности, редокс-потенциал меняется в сторону положительных значений, что свидетельствует о наличии в крови окисленных продуктов и дефицита восстановительных эквивалентов.

Полученные результаты исследований позволяют использовать определение редокс-потенциала в совокупности с другими показателями для характеристики состояния окислительно-восстановительных реакций при различных физиологических и клинических состояниях животных, содержащихся в условиях дополнительного хронического облучения низкой интенсивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Участие тиолдисульфидной системы в редокс-регуляции нейтрофилов при окислительном стрессе *in vitro* и остром воспалении [Текст] / Т. В. Жаворонок [и др.] // Физиология и здоровье человека : сб. тр. 2-го съезда физиологов СНГ. – Кишинев, 2008. – С. 40.
2. Жаворонок, Т. В. Вклад глутатиона у редокс – регуляцию нейтрофильных гранулоцитов при окислительном стрессе *in vitro* [Текст] / Т. В. Жаворонок, Е. А. Степовая, Н. В. Рязанцева // Сибирский физиологический съезд : тез. докл. – Барнаул, 2008. – Т. 2. – С. 65.
3. Жаворонок, Т. В. Редокс-зависимые механизмы изменений функциональных свойств нейтрофилов при остром воспалении и окислительном стрессе [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.03; 03.01.04. / Т. В. Жаворонок ; [Сибирский гос. мед. ун-т]. – Томск, 2012. – 32 с.
4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики [Текст] : справочник / под ред. И. П. Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
5. Русак, В. С. Редоркс-потенціал і вміст глутатіону крові корів при хворобах печінки / В. С. Русак, І. В. Чала // Вісн. ЖНАЕУ. – 2015. – №1 (49), – С. 267–271.
6. Чала, І. В. Редокс-потенціал та стан перекисного окиснення ліпідів крові корів, що утримуються у екологічно несприятливих умовах / І. В. Чала, В. С. Русак // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького. – 2016. – Т. 18. № 2 (66). – С. 197 – 201.
7. Чала, І. В. Відновний потенціал крові корів за умов утримання на територіях, забруднених радіонуклідами [Текст] / І. В. Чала // Вісн. ЖНАЕУ. – 2012. – №1 (30). – Т. 1. – С. 321–326.
8. Determination of Blood Total, Reduced and Oxidized Glutathione in Pediatric Subjects [Text] / A. Pastore [at al.] // Clin. Chem. – 2011. – Vol. 47, № 8. – P. 1467–1469.