

## НО-ЗАЛЕЖНА КОРЕКЦІЯ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ДИСФУНКЦІЙ ЗА УМОВ ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ ЩУРІВ У МАЛИХ ДОЗАХ

Н. М. Кургалюк<sup>1</sup>, Г. М. Ткаченко<sup>2</sup>

*Поморська педагогічна академія, Слупськ, Польща,  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна*

У досліджах на щурах досліджено ефекти парентерального введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну (600 мг/кг) та інгібітора синтази оксиду азоту L-NNA (35 мг/кг) на величини АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки за умов використання субстратів окиснення 0,35 мМ сукцинату і 1 мМ  $\alpha$ -кетоглутарату. Показано коригуючий вплив L-аргініну, спрямований на підвищення спряженості енергетичних реакцій на тлі зниження інтенсивності вільнорадикальних реакцій.

Унаслідок аварії на ЧАЕС виник підвищений інтерес до дослідження біологічної дії малих доз іонізуючої радіації [1]. Розвиток радіаційно-індукованих ушкоджень функціонального стану мітохондрій (МХ) і структурно-метаболических порушень у найбільш важливих системах організму (серцева, травна, дихальна, ендокринна тощо) супроводжується значною активацією вільнорадикальних процесів [2]. Виявлено, що стан парасимпатичного відділу нервової системи значно впливає на перебіг радіаційного ушкодження організму [3]. Нами з'ясовано, що інтермедіат циклу Кребса  $\alpha$ -кетоглутарат (КГЛ) при опроміненні тварин у летальній дозі сприяє переведенню гострої форми променевого ураження у підгостру, тобто підвищує виживання тварин при тотальному рентгенівському опроміненні [4]. Виражена стимуляція енергетичних процесів екзогенним КГЛ у пострадіаційний період обумовлена зростанням холінергічного статусу опромінених тварин, подальшим накопиченням у тканинах ацетилхоліну (АХ) при дефіциті катехоламінів, зниженням активності холінестерази [5]. Останнє сприяє пролонгації реакцій холіноміметичного впливу КГЛ [6].

Відомо, що функціонування саме холінорецепторів опосередковує ефекти оксиду азоту (NO) [7], який має широкий спектр біорегуляторного впливу в організмі ссавців [8]. Проте на сьогоднішній день залишаються недослідженими питання негативних наслідків перебування організму при підвищеному радіаційному фоні і роль NO за цих умов. На наш погляд, вирішальними моментами у цих дослідженнях могло б стати дослідження показників мітохондріального енергозабезпечення у тварин під впливом попередника біосинтезу оксиду азоту в організмі L-аргініну за умов фракційного рентгенівського випромінювання в малих дозах.

### Матеріали та методи

З метою дослідження радіомодифікаційних ефектів екзогенного L-аргініну тварин щоденно в однакові години доби опромінювали на апараті РУМ-17 у дозі 0,259 мКл/кг до досягнення сумарних доз 2,59 (10 діб), 5,18 (20 діб) та 7,77 (30 діб) мКл/кг відповідно. Умови випромінювання: напруга 110 кВ, сила струму 4 мА, фільтр Cu 0,5 мм + Al 1 мм, віддаль від джерела випромінювання 0,4 - 2,0 м залежно від умов експерименту, потужність дози 0,0518 мКл/кг за 1 хв, час випромінювання 5 хв. При парентеральному введенні 1 мл L-аргініну (600 мг/кг) або інгібітора синтази оксиду азоту N<sup>o</sup>-нітро-L-аргінін (35 мг/кг) і досягненні вказаних сумарних доз проводили декапітацію тварин у кожній серії досліджень. Отже, тварини, які досягли сумарної дози випромінювання 2,59 мКл/кг отримали L-аргініну 6 г/кг, 5,18 мКл/кг - 12 г/кг, а 7,77 мКл/кг - 18 г/кг відповідно. Для контролю інтактним і опроміненим тваринам кожної підгрупи вводили 1 мл фізіологічного розчину.

Мітохондрії печінки виділяли диференційним центрифугуванням за умов, в яких зберігалась їхня нативність [4]. Про цеси дихання та окиснювального фосфорилування (ОФ)

досліджували полярографічним методом [9] з використанням закритого електрода Кларка й полярографічного аналізатора РА-7. Середовище гомогенізації містило, ммоль/л: КСІ - 120,  $K_2CO_3$  - 2, НЕРЕС - 10, EGTA - 1 (рН 7,2). Середовище інкубації містило, ммоль/л: КСІ - 120,  $K_2CO_3$  - 2,  $KH_2PO_4$  - 2, НЕРЕС - 10 (рН 7,2). Як субстрати окиснення використовували, ммоль/л: сукцинат - 0,35 і  $\alpha$ -кетоглутарат - 1. Дихання стимулювали 200 мкМ АДФ. За отриманими полярограми обчислювали параметри дихання мітохондрій: швидкість фосфорилуючого (метаболічний стан 3,  $V_3$ ) та контрольованого (метаболічний стан 4,  $V_4$ ) дихання, дихальний контроль ( $V_3/V_4$ ) за Чансом, коефіцієнт ефективності фосфорилування (АДФ/О) та швидкість фосфорилування ( $V_\phi$ ). Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [10]. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів оцінювали за накопиченням продуктів, які реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активними продуктами) [11]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

### Результати досліджень та їх обговорення

Наявні літературні дані свідчать, що за різних умов опромінення ушкоджуючий ефект різний, проте із збільшенням тривалості дії чинника негативні ефекти зростають [4]. Це засвідчують результати наших досліджень щодо зниження процесів енергозабезпечення найважливішими субстратами циклу Кребса вже при опроміненні у найменшій дозі (2,59 мКл/кг). Результати досліджень наведено в табл. 1 і 2.

Опромінення в дозі 2,59 мКл/кг призводить до зниження швидкості процесів АДФ-стимульованого дихання при використанні субстрату окиснення сукцинату (СК) на 32,29 % ( $P < 0,01$ ) та спряженості процесів дихання і фосфорилування (дихальний коефіцієнт за Чансом) на 39,34 % ( $P < 0,01$ ). Проте за цих умов не спостерігали вірогідних змін ефективності окиснювального фосфорилування (величини АДФ/О) та швидкості фосфорилування доданої АДФ. За умов окиснення КГЛ встановлено значне, порівняно з окисненням СК, зменшення всіх показників функціонування МХ: величини АДФ-стимульованого дихання у стані  $V_3$ , спряженості й ефективності ОФ. Таким чином, уже найменша доза опромінення викликає виражене зниження функціонування МХ, пов'язане з окисненням субстратів циклу трикарбонових кислот (ЦТК), що може впливати на процеси репарації та відновлення ушкоджених структур навіть у радіорезистентних органах, одним з яких є печінка.

Результати, одержані нами за умов парентерального щоденного введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну за 30 хв перед сеансом кожного опромінення, засвідчують радіопротекторний ефект цього метаболіту, однак ефекти впливу значно залежать від субстрату окиснення. Зокрема, у початкові терміни експерименту (досягнення сумарної дози опромінення 2,59 мКл/кг) за умов окиснення СК встановлено вірогідне зниження процесів мітохондріального функціонування (дихального коефіцієнта за Чансом на 37,3 % ( $P < 0,01$ ), ефективності окиснювального фосфорилування на 30,1% та швидкості фосфорилування). Для КГЛ, навпаки, незначне зниження швидкості поглинання кисню в активному фосфорилуючому стані МХ супроводжується зростанням величин спряженості дихання й фосфорилування, ефективності ОФ та його швидкості.

При досягненні сумарних доз опромінення 5,18 і 7,77 мКл/кг зазначені ефекти інгібування окиснення СК під впливом L-аргініну поглиблюються, а ефективність окиснення КГЛ за цих умов вірогідно зростає. Зокрема, при досягненні сумарної дози опромінення 7,77 мКл/кг досліджено найнижчий рівень функціонування мітохондріальних процесів при окисненні СК. Ці зміни виражаються у зниженні дихання у стані  $V_3$  на 60,6% ( $P < 0,01$ ), дихального коефіцієнта на 56% ( $P < 0,01$ ), величини АДФ/О на 30,93% ( $P < 0,05$ ) та швидкості фосфорилування на 23% ( $P < 0,05$ ) щодо величин в опроміненіх шурів.

У разі окиснення КГЛ за цих умов досліджено підвищення рівня функціонування МХ до вихідного рівня в інтактних тварин. Ці зміни стосуються зниження поглинання кисню в активному фосфорилуючому стані МХ на фоні одночасного підвищення величини спряженості, ефективності, швидкості процесу дихання й окиснювального фосфорилування. Ефек-

**Таблиця 1. Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів за умов досягнення сумарних доз опромінення 2,59, 5,18 та 7,77 мКл/кг під впливом L-аргініну або L-NNA. Субстрат окиснення – 0,35 мМ сукцинат**

(M±m, n = 6)

Умови досліджу		V <sub>3</sub> , нгат О/хв на 1 мг білка	Дихальний контроль, V <sub>3</sub> /V <sub>4</sub>	АДФ/О, мкМ АДФ/ нгат О	АДФ/Δt, мкмоль АДФ/с на 1 мг білка
Дослідна група 1	Контроль	59,01±3,76	4,55±0,21	1,44±0,11	1,42±0,08
	Опромінення (2,59 мКл/кг)	39,95±3,45*	2,76±0,21*	1,66±0,23	1,11±0,08*
	L-аргініні опромінення (2,59 мКл/кг)	29,09±3,66	1,73±0,11**	1,16±0,23	0,56±0,06**
	L-NNA і опромінення (2,59 мКл/кг)	76,12±8,23**	4,63±0,56**	1,12±0,09	1,42±0,10**
Дослідна група 2	Контроль	69,09±8,24	3,63±0,36	1,74±0,11	2,29±0,11
	Опромінення (5,18 мКл/кг)	54,72±3,45	2,21±0,21*	0,99±0,11*	0,89±0,10*
	L-аргініні опромінення (5,18 мКл/кг)	36,92±3,66**	2,38±0,25	1,54±0,23	0,94±0,10
	L-NNA і опромінення (5,18 мКл/кг)	62,01±6,87	3,71±0,33**	1,35±0,07**	1,40±0,13**
Дослідна група 3	Контроль	77,85±8,01	3,21±0,41	1,44±0,10	1,86±0,15
	Опромінення (7,77 мКл/кг)	119,2±10,8*	4,55±0,32*	1,39±0,24	2,76±0,17*
	L-аргініні опромінення (7,77 мКл/кг)	46,98±3,66**	2,0±0,25**	0,96±0,23	0,75±0,08**
	L-NNA і опромінення (7,77 мКл/кг)	53,25±5,35**	1,93±0,24**	1,17±0,07	1,04±0,14**

\* Вірогідні зміни щодо опромінення і контролю (P<0,05).

\*\* Те ж за умов введення препаратів і опромінення.

ти дії інгібітора синтази оксиду азоту L-NNA у зазначені терміни експерименту повністю або частково нівелюють ефекти впливу екзогенного L-аргініну на процеси функціонування МХ, пов'язані з окисненням інтермедіатів ЦТК.

Отже, дослідження показників функціонування МХ і системи NO, яка реалізує свій вплив через холінергічну ланку регуляції, підтверджує нашу концепцію про синергічну дію АХ і КГЛ. Опосередкування ефектів екзогенного NO за участю КГЛ дозволяє пролонгувати реакцію холінергічних механізмів та може відігравати важливу роль у корекції метаболічних процесів організму у ранні терміни пострадіаційного періоду [5, 12]. Усі ці ефекти впливу екзогенного L-аргініну спрямовані на обмеження наслідків дії сильних негативних чинників на окисно-відновні процеси у МХ, що призводять до роз'єднання процесів дихання та ОФ з погіршенням енергетичного забезпечення функцій клітини. Таким чином, використання природного низькотоксичного метаболіту енергетичного обміну – L-аргініну може бути перспективним шляхом корекції радіаційного ушкодження організму.

**Таблиця 2. Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів за умов опромінення організму у дозах 2,59, 5,18 та 7,77 мКл/кг під впливом L-аргініну або L-NNA. Субстрат окиснення – 1 мМ  $\alpha$ -кетоглутарат**

(M $\pm$ m, n = 6)

Умови досліджу		V <sub>3</sub> , нгатО/хв на 1 мг білка	Дихальний контроль, V <sub>3</sub> /V <sub>4</sub>	АДФ/О, мкМ АДФ/ нгатО	АДФ/ $\Delta$ t, мкмоль АДФ/с на 1 мг білка
Дослідна група 1	Контроль	46,69 $\pm$ 5,87	4,01 $\pm$ 0,35	2,79 $\pm$ 0,23	2,17 $\pm$ 0,16
	Опромінення (2,59 мКл/кг)	39,98 $\pm$ 6,03	2,68 $\pm$ 0,47*	2,92 $\pm$ 0,06*	1,28 $\pm$ 0,09*
	L-аргінін і опромінення (2,59 мКл/кг)	18,75 $\pm$ 4,08	2,86 $\pm$ 0,07	2,68 $\pm$ 0,14**	2,11 $\pm$ 0,11**
	L-NNA і опромінення (2,59 мКл/кг)	96,1 $\pm$ 9,87**	3,62 $\pm$ 0,65	1,32 $\pm$ 0,12	2,11 $\pm$ 0,09**
Дослідна група 2	Контроль	39,02 $\pm$ 5,24	3,63 $\pm$ 0,46	2,65 $\pm$ 0,09	1,72 $\pm$ 0,15
	Опромінення (5,18 мКл/кг)	37,82 $\pm$ 3,45	3,70 $\pm$ 0,21	1,41 $\pm$ 0,04*	0,89 $\pm$ 0,09*
	L-аргінін і опромінення (5,18 мКл/кг)	25,2 $\pm$ 3,66*	2,62 $\pm$ 0,14**	1,94 $\pm$ 0,23**	0,82 $\pm$ 0,08
	L-NNA і опромінення (5,18 мКл/кг)	24,54 $\pm$ 6,87	2,18 $\pm$ 0,33**	1,24 $\pm$ 0,07	0,51 $\pm$ 0,01*
Дослідна група 3	Контроль	45,08 $\pm$ 4,56	3,22 $\pm$ 0,33	2,55 $\pm$ 0,10	1,92 $\pm$ 0,15
	Опромінення (7,77 мКл/кг)	60,8 $\pm$ 10,87	2,24 $\pm$ 0,07*	1,46 $\pm$ 0,24*	1,46 $\pm$ 0,10
	L-аргінін і опромінення (7,77 мКл/кг)	41,52 $\pm$ 3,66	3,73 $\pm$ 0,25**	2,32 $\pm$ 0,23**	1,60 $\pm$ 0,15
	L-NNA і опромінення (7,77 мКл/кг)	36,77 $\pm$ 5,08	3,75 $\pm$ 0,24**	1,27 $\pm$ 0,07	0,77 $\pm$ 0,05**

\* Вірогідні зміни щодо опромінення і контролю (P&lt;0,05).

\*\* Те ж за умов введення препаратів і опромінення.

Для більш повної оцінки функціонального стану МХ печінки опромінених низькими дозами щурів проводили дослідження парентерального введення L-аргініну і L-NNA одразу ж після сеансу опромінення (час дії 30 хв). Такий підхід, на нашу думку, є виправданим, оскільки, як показано в наших ранніх роботах, важливе значення мають також дослідження не тільки радіомодифікуючих ефектів впливу, як показано для сукцинату, а й прогнозованої терапевтичної дії. Відомо, що активація симпато-адреналової системи, викликана сеансами опромінення, змінюється фазою посилення парасимпатичної ланки регуляції й вираженим нагромадженням ацетилхоліну на фоні зниження активності ферменту його гідролізу – холінестерази. Така дія супроводжується посиленням ефективності кисневого забезпечення та пролонгує ефекти екзогенного ацетилхоліну [4, 5]. Результати досліджень цієї серії експериментів наведено в табл. 3 і 4.

Введення L-аргініну одразу ж після опромінення модифікує аеробну компоненту енергозабезпечення при переважному окисненні КГЛ порівняно з ефектами окиснення сукцинату. Зокрема, це стосується зниження швидкості фосфорилуючого дихання, інтенсивності процесів фосфорилування на 19 % (P<0,05), оцінюваних за величиною V<sub>3</sub>/V<sub>4</sub> та швидкістю фосфорилування порівняно з опроміненням за умов окиснення СК. Ефекти

окиснення КГЛ за цих умов супроводжується підвищенням швидкості як фосфорилуючого дихання на 79 % ( $P < 0,01$ ), так і дихання у контрольованому стані ( $V_4$ ) на 45,5 % ( $P < 0,05$ ), що викликає зростання швидкості фосфорилування доданої АДФ на 46,7 % ( $P < 0,05$ ).

**Таблиця 3. Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів після рентгенівського опромінення та введення L-аргініну або L-NNA. Субстрат окиснення 0,35 мМ сукцинат**

(M±m, n = 6)

Умови досліджу	$V_3$	$V_4$	Дихальний контроль, $V_3/V_4$	АДФ/О, мкМ АДФ/ нг ат О	АДФ/Δt, мкмоль АДФ/с на 1 мг білка
	нг ат О/хв на 1 мг білка				
Контроль	73,98±6,33	25,33±2,14	2,63±0,21	2,00±0,06	2,26±0,16
Опромінення (2,59 мКл/кг)	73,57±7,22	16,91±1,96*	4,35±0,16*	1,76±0,12	2,16±0,11
Опромінення і L-аргінін	58,78±5,11	16,65±1,39	3,53±0,12**	1,82±0,03	1,78±0,15
Опромінення і L-NNA	34,36±9,58**	8,16±1,01**	4,43±0,06	2,53±0,14**	1,52±0,12**
Контроль	69,09±6,79	26,18±2,32	2,64±0,24	1,74±0,15	2,01±0,12
Опромінення (5,18 мКл/кг)	54,78±5,20	21,52±1,70	2,55±0,21	0,79±0,06*	0,72±0,10*
Опромінення і L-аргінін	65,07±6,34	13,73±1,02**	4,74±0,45**	1,15±0,06**	1,25±0,10**
Опромінення і L-NNA	93,22±9,33**	16,29±1,27**	5,76±0,50**	1,49±0,11**	2,33±0,22**
Контроль	77,85±7,65	24,29±2,83	3,21±0,28	2,00±0,13	2,65±0,18
Опромінення (7,77 мКл/кг)	119,2±10,5**	26,15±2,70	4,45±0,41*	1,39±0,12	2,76±0,25*
Опромінення і L-аргінін	58,78±5,21**	17,58±2,43	3,34±0,31**	1,53±0,08	1,49±0,09**
Опромінення і L-NNA	89,39±4,9**	29,3±3,40	3,05±0,16**	1,31±0,12**	1,95±0,24**

\* Вірогідні зміни між опроміненням і контролем ( $P < 0,05$ ).

\*\* Ті ж самі зміни між опроміненням і введенням L-аргініну і L-NNA.

Обмеження ролі NO-синтазних реакцій [13] при опроміненні, обумовлених введенням інгібітора синтази оксиду азоту L-NNA, пов'язується зі зниженням активного і контрольованого станів дихання, збереження на вихідному рівні процесів спряженості дихання і фосфорилування, швидкості фосфорилування на фоні зростання величини АДФ/О порівняно з опроміненням. У меншій мірі щодо ефектів окиснення СК і під впливом L-NNA за умов окиснення КГЛ досліджено підвищення порівняно з опроміненням швидкості фосфорилуючого дихання, його спряженості та інтенсивності. Отже, зниження ролі NO-синтазних систем у ранні терміни іонізуючого впливу пов'язано із зростанням процесів споживання кисню. Відомо, що ця реакція залежить від останнього як субстрату, тому дозволяє клітинам переходити на режим ощадливого використання кисню як за умов окиснення сукцинату, так і його попередника у циклі Кребса –  $\alpha$ -кетоглутарату. Відоме явище “кисневого ефекту” у радіобіології ряд дослідників пояснюють саме відомим ефектом зниження тканинного дихання і пов'язаного з цим зниження інтенсивності вільнорадикального окиснення.

**Таблиця 4. Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій печінки щурів після рентгенівського опромінення та введення L-аргініну або L-NNA. Субстрат окиснення – 1 мМ  $\alpha$ -кетоглутарат**

(M $\pm$ m, n = 6)

Умови досліджу	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	Дихальний контроль, V <sub>3</sub> /V <sub>4</sub>	АДФ/О, мкМ АДФ/ нг ат О	АДФ/ $\Delta$ t, мкмоль АДФ/с на 1 мг білка
	нг ат О/хв на 1 мг білка				
Контроль	48,99 $\pm$ 4,02	11,22 $\pm$ 0,18	4,0 $\pm$ 0,37	3,09 $\pm$ 0,16	2,40 $\pm$ 0,16
Опромінення (2,59 мКл/кг)	29,88 $\pm$ 2,92*	11,12 $\pm$ 0,92	2,68 $\pm$ 0,24*	1,92 $\pm$ 0,09*	0,96 $\pm$ 0,06*
Опромінення і L-аргінін	53,47 $\pm$ 5,43**	16,30 $\pm$ 1,06**	3,28 $\pm$ 0,31	1,07 $\pm$ 0,09	0,95 $\pm$ 0,07
Опромінення і L-NNA	44,41 $\pm$ 4,87**	10,86 $\pm$ 0,91	4,09 $\pm$ 0,37**	1,41 $\pm$ 0,13	1,41 $\pm$ 0,06**
Контроль	39,02 $\pm$ 3,48	17,03 $\pm$ 2,32	2,29 $\pm$ 0,20	3,05 $\pm$ 0,25	1,98 $\pm$ 0,18
Опромінення (5,18 мКл/кг)	37,82 $\pm$ 3,07	11,74 $\pm$ 1,07*	3,22 $\pm$ 0,27*	1,95 $\pm$ 0,08*	1,22 $\pm$ 0,05*
Опромінення і L-аргінін	27,21 $\pm$ 2,01**	10,05 $\pm$ 0,92	2,71 $\pm$ 0,25	1,27 $\pm$ 0,11**	0,57 $\pm$ 0,07**
Опромінення і L-NNA	67,40 $\pm$ 6,74**	14,19 $\pm$ 1,31	4,75 $\pm$ 0,42**	1,11 $\pm$ 0,09**	1,25 $\pm$ 0,09
Контроль	45,06 $\pm$ 3,11	10,92 $\pm$ 1,17	3,21 $\pm$ 0,28	3,12 $\pm$ 0,28	2,37 $\pm$ 0,11
Опромінення (7,77 мКл/кг)	60,81 $\pm$ 5,33*	27,10 $\pm$ 2,05**	2,24 $\pm$ 0,19*	1,79 $\pm$ 0,06	1,81 $\pm$ 0,26
Опромінення і L-аргінін	50,30 $\pm$ 4,50	9,09 $\pm$ 0,70**	5,53 $\pm$ 0,51**	1,27 $\pm$ 0,11*	1,06 $\pm$ 0,11**
Опромінення і L-NNA	45,02 $\pm$ 3,27**	10,33 $\pm$ 0,58**	3,39 $\pm$ 0,29**	1,26 $\pm$ 0,12**	0,95 $\pm$ 0,07**

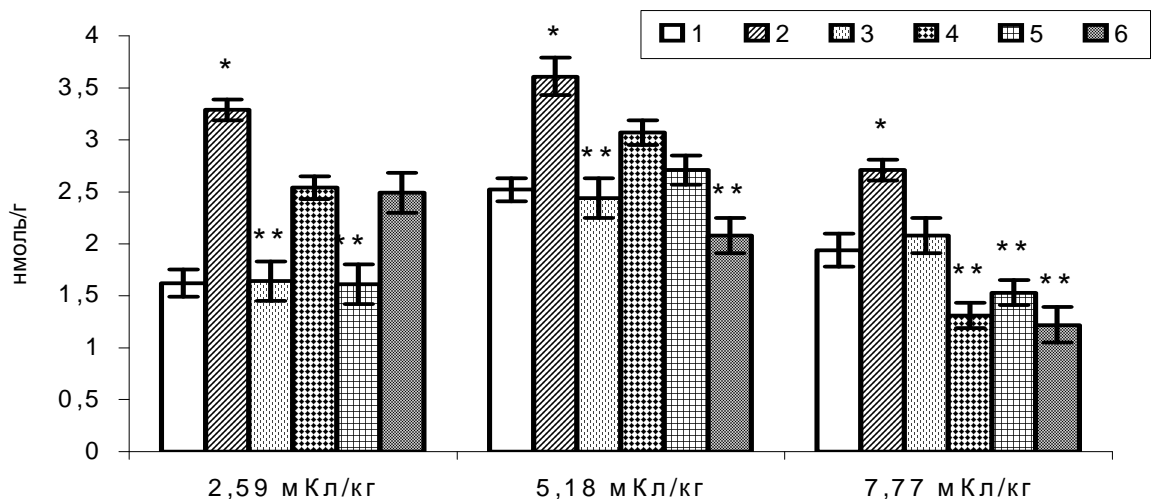
\* Вірогідні зміни між опроміненням і контролем (P&lt;0,05).

\*\* Ті ж самі зміни між опроміненням і введенням L-аргініну і L-NNA.

У середні терміни дії іонізуючої радіації, зокрема при досягненні сумарної дози опромінення 5,18 мКл/кг за умов окиснення СК і КГЛ, досліджено вірогідне зниження величини АДФ/О та швидкості фосфорилування. Отже, деструктивні процеси мітохондріального енергозабезпечення, оцінювані за змінами функціонального стану МХ печінки щурів, продовжували поглиблюватись, засвідчуючи зниження ролі кисневого енергозабезпечення. Введення L-аргініну впродовж 20 діб опромінення і досягнення сумарної дози 5,16 мКл/кг викликає підвищення спряженості на 86 % (P<0,05), ефективності ОФ на 45,5 % (P<0,05) та швидкості фосфорилування за умов окиснення СК порівняно з опроміненням. Вплив L-аргініну за зазначених умов супроводжується зниженням швидкості фосфорилуючого дихання на фоні підвищення АДФ/О.

У середні терміни опромінення при введенні L-NNA досліджено вірогідне підвищення дихання у стані V<sub>3</sub> на 70,1 % (P<0,01) та інших величин фосфорилуючого дихання (інтенсивності, ефективності та швидкості процесу фосфорилування) при окисненні СК. Аналогічні зміни активації фосфорилуючого дихання отримано нами також за умов окиснення КГЛ: фосфорилуючого дихання на 78,2 % (P<0,01), спряженості процесів дихання і фосфорилування на 47,5 % (P<0,01), їх ефективності та швидкості. Отже, інгібування ролі NO-синтаз у ранні терміни після іонізуючого впливу можливе через зниження кисень-залежних процесів, сприяє посиленню кисень-незалежних метаболічних шляхів, що виступає одним з можливих шляхів корекції мітохондріального енергозабезпечення за умов іонізуючого опромінення.

У віддалені терміни опромінення (сумарна доза 7,77 мКл/кг) порівняно з середніми, що вже зазначалось нами як ефект посилення репараційних процесів організму у попередніх роботах [12, 13], досліджено активацію окиснення СК і КГЛ. Однак негативна дія опромінення пов'язується нами зі зниженням спряженості ОФ у випадку окиснення КГЛ, зменшенням величини АДФ/О при збереженні високої швидкості фосфорилування. Зазначені процеси супроводжуються підвищенням інтенсивності процесів ліпопероксидації. Ефекти L-аргініну викликають зниження процесів мітохондріального дихання у двох випадках, проте за умов окиснення КГЛ зростає спряженість дихання і фосфорилування. Дія L-NNA впродовж 30 діб опромінення супроводжується зниженням процесів ОФ, їх спряженості і швидкості при окисненні СК і КГЛ. Особливо ефекти інгібуючого впливу L-NNA пов'язані з окисненням КГЛ порівняно з впливом на систему окиснення СК. Отже, упродовж тривалого терміну опромінення коригувальний ефект системи оксиду азоту [14] пов'язаний з роллю попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну, при введенні якого підвищується роль НАД-залежних субстратів окиснення і системи ацетилхоліну. Установлено, що в усі терміни експерименту (2,58, 5,18 та 7,77 мКл/кг) хронічне рентгенівське опромінення призводить до нагромадження в крові вмісту ТБК-активних продуктів (рисунок). Зокрема, уже найменша доза іонізуючого впливу обумовлює нагромадження в крові щурів вмісту ТБК-продуктів. Зокрема, їх рівень в опроміненіх тварин підвищується на 46 % ( $P < 0,05$ ) щодо рівня контролю. В інші терміни досліджень аналогічні показники також значно перевищують відповідні значення в неопроміненіх тварин.



Вміст ТБК-активних продуктів (нмоль/г) у печінці за умов щоденного іонізуючого опромінення і досягнення сумарних доз опромінення 2,59, 5,18 та 7,77 мКл/кг та введення L-аргініну і L-NNA: 1 - контроль; 2 - опромінення; 3 - L-аргінін і опромінення; 4 - L-NNA і опромінення; 5 - опромінення і L-аргінін; 6 - опромінення і L-NNA. \* Вірогідні зміни між опроміненням і контролем. \*\* Те ж між опроміненням і введенням препаратів.

Зростання вмісту ТБК-активних продуктів встановлено також у тканинах травних залоз, (печінка, тонка кишка). Це свідчить про інтенсифікацію процесів ліпопероксидації на 54 % ( $P < 0,01$ ) щодо величин контролю при досягненні сумарної дози опромінення 7,77 мКл/кг.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кузин А.М. Действие атомной радиации в малых дозах на биоту // Радиобиология. - 1991. - Т. 31, № 2. - С. 175 - 179.
2. Sun Y. Free radical antioxidant enzymes, and carcinogenesis // Free Radicals Biology & Medicine. - 1990. - Vol. 8. - P. 583 - 599.

3. *Костеша Н.Я.* Роль вегетативной нервной системы в регуляции секреторной функции желудка облученных собак // Радиобиология. - 1989. - Т. 24, № 4. - С. 569 - 571.
4. *Кургалюк Н.М., Горинь О.В.* Стан мітохондріального дихання та окислювального фосфорилування у печінці білих щурів за умов рентгенівського опромінення та введення альфа-кетоглутарату натрію // Фізіол. журн. - 2000. - Т. 46, № 5. - С. 63 - 70.
5. *Доліба М.М., Кургалюк Н.М., Музика Ф.В. та ін.* Синергізм дії  $\alpha$ -кетоглутарату і ацетилхоліну на енергетичний обмін в мітохондріях // Фізіол. журн. - 1993. - Т. 39, № 5-6. - С. 65 - 70.
6. *Кургалюк Н.* Стан мітохондріального дихання та окиснювального фосфорилування у печінці білих щурів за умов рентгенівського опромінення, введення L-аргініну та блокатора синтази оксиду азоту L-NNA // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. - 2002. - Вип. 31. - С. 233 - 240.
7. *Moncada S., Palmer R., Higgs E.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. - 1991. - Vol. 43. - P. 109 - 142.
8. *Szewczyk A., Wojtczak L.* Mitochondria as a pharmacological target // Pharmacol. Rev. - 2002. - Vol. 54. - P. 101 - 127.
9. *Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом.* - М.: Наука, 1973. - 221 с.
10. *Lowry O.H., Rosenbrough N.H., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with Folin protein reagent // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol. 193. - P. 265 - 275.
11. *Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. - 1981. - № 4. - С. 209 - 211.
12. *Горинь О.В., Кургалюк Н.М.* Вплив альфа-кетоглутарату на показники периферичної крові, перекисного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту опромінених щурів // Фізіол. журн. - 2000. - Т. 46, № 3. - С. 57 - 66.
13. *Кургалюк Н.М., Іккерт О.В., Ткаченко Г.М. та ін.* Радіотерапевтичні та радіопротекторні ефекти впливу екзогенного L-аргініну на мітохондріальне енергозабезпечення та інтенсивність процесів ліпопероксидації у щурів // Тези доп. III з'їзду Українського біофізичного товариства 8 - 11 жовт. 2002 р., м. Львів. - С. 200
14. *Palumbo A., Astarita G., Ischia M.* Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 6-nitrocatecholamines, putative reactions products of nitric oxide with catecholamines under oxidative stress conditions // Biochem. J. - 2001. - Vol. 356. - P. 105 - 110.

Надійшла до редакції 25.10.04,  
після доопрацювання - 04.04.05.



**5 NO-ЗАВИСИМАЯ КОРРЕКЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДИСФУНКЦИЙ  
ПРИ ИОНИЗИРУЮЩЕМ ОБЛУЧЕНИИ КРЫС В МАЛЫХ ДОЗАХ****Н. Н. Кургалюк, Г. М. Ткаченко**

В опытах на крысах исследованы эффекты парентерального введения предшественника биосинтеза оксида азота L-аргинина (600 мг/кг) и ингибитора синтазы оксида азота L-NNA (35 мг/кг) на величины АДФ-стимулированного дыхания митохондрий печени при использовании субстратов дыхания 0,35 мМ сукцината и 1 мМ  $\alpha$ -кетоглутарата. Показано корригирующее влияние L-аргинина, связанное с повышением сопряжения энергетических реакций с одновременным снижением интенсивности процессов свободнорадикального окисления.

**5 NO-DEPENDENT CORRECTION OF MITOCHONDRIAL DYSFUNCTIONS AT IONIZING  
IRRADIATION IN SMALL DOSES****N. N. Kurhalyuk, G.M. Tkachenko**

In experiences on rats effects of introductions of the predecessor of biosynthesis nitric oxide of L-arginine (600 mg/kg) and inhibitor biosynthesis nitric oxide L-NNA (35 mg/kg) on parametres of ADP-stimulation mitochondrial respiration in liver at use of substratates of respirates 0,35 mm succinate and 1 mm  $\alpha$ -ketoglutarate. It is shown correction influence of L-arginine connected to increase of interface energetic metabolism with simultaneous decrease of intensity processes of lipoperoxidation.