

**ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД ЛУЧИНЕЦКОГО
МЕСТОРОЖДЕНИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ
МЕТАБОЛИЗМ ОРГАНИЗМА**

**Н.А. Дружина¹, В.М. Шестопапов², А.Ю. Моисеев²,
Н.К. Родионова¹, Е.Б. Ганжа¹, Л.И. Маковецкая¹,
Н.П. Моисеева²**

¹ Институт экспериментальной патологии, онкологии
и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины, г. Киев;

² Институт геологических наук НАН Украины, г. Киев

Поступила 12.01.2011 г.

Исследовано влияние минеральных вод Лучинецкого месторождения из скважин 1-Л и 729 на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в периферической крови мышей, облученных при дозе 5,0 Гр. Установлено, что данные минеральные воды имеют выраженное биологическое действие; их курсовое применение является эффективным средством коррекции окислительного метаболизма.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, минеральные воды, окислительный гомеостаз, периферическая кровь.

Введение. В настоящее время установлено, что действие многих повреждающих факторов на организм (гипертермия, ионизирующая радиация, электрический ток, токсические вещества и др.) объединяется общим патогенетическим фактором – повышенной генерацией высокотоксических продуктов неполной утилизации кислорода в органах и тканях. Эти химически активные интермедиаты, включаясь в метаболизм, нарушают оксидантно-антиоксидантное равновесие в организме, что впоследствии приводит к развитию окислительного стресса, на фоне которого формируются структурно-функциональные повреждения с соответствующими клиническими проявлениями. Интенсивность протекания свободнорадикальных процессов (СРП) поддерживается на определенном уровне ферментативными антиоксидантными системами, а также эндогенными и экзогенными антиоксидантами. В качестве экзогенных ан-

тиоксидантов могут использоваться как искусственно синтезированные препараты, так и вещества природного происхождения. В этом плане значительный интерес представляют природные минеральные воды, которые в последнее время все чаще начали применять для профилактики и коррекции нарушений окислительного метаболизма [1 – 3]. К преимуществам использования минеральных вод можно отнести их полифункциональное действие на различных этапах развития свободнорадикальных патологий, детоксикационные свойства, наличие разработанных схем курсового применения.

Цель данной работы – изучение возможности коррекции окислительного метаболизма, нарушенного вследствие воздействия на организм ионизирующей радиации, с помощью минеральных вод Лучинецкого месторождения.

Методика эксперимента. Исследования проводили на лабораторных мышах-самках (возраст – три месяца, масса – $20,19 \pm 1,35$ г) разведения вивария Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины. Экспериментальные животные были распределены на 6 групп (по 10 мышей в каждой): первая группа – необлученные животные, содержащиеся на обычном водном рационе (контроль, К); вторая – необлученные животные, которых выпаивали минеральной водой из скв. 1-Л Лучинецкого месторождения (МВ1); третья – необлученные животные, которых выпаивали минеральной водой из скв. 729 того же месторождения (МВ729); четвертая – животные, облученные при дозе 5,0 Гр, содержащиеся на обычном водном рационе (R); пятая – животные, облученные при дозе 5,0 Гр, которых выпаивали минеральной водой из скв. 1-Л Лучинецкого месторождения (R+МВ1); шестая – животные, облученные при дозе 5,0 Гр, которых выпаивали минеральной водой из скв. 729 того же месторождения (R+МВ729).

Животные четвертой, пятой и шестой групп были однократно облучены на аппарате РУМ-17 при следующих условиях: напряжение – 180 кВ, величина тока – 10 мА, фильтр – 0,5 мм Си и 1,0 мм Аl, кожно-фокусное расстояние – 30 см, мощность экспозиционной дозы – 0,89 Гр/мин, поглощенная доза – 5,0 Гр. Выбранная модель облучения для данного вида животных относится к диапазону сублетальных доз и предопределяет развитие острой лучевой болезни с ведущим в клинической картине гемопоэтическим синдромом.

Мышей второй, третьей, пятой и шестой групп в течение 21 сут с момента облучения выпаивали минеральной водой из скв. 1-Л (вторая и пятая группы) и скв. 729 (третья, четвертая группы) Лучинецкого месторождения.

Анализ содержания макрокомпонентов и оценку качества воды проводили по стандартизированным методикам согласно ДСТУ 878-93 [4]. Полученные результаты соответствуют III категории точности согласно ОСТу 41-08-212-82 [5]. Содержание микроэлементов в минеральных водах определяли с помощью масс-спектрометра Thermo Finnigan Element-2; погрешность измерений составляла 3 %.

Забор крови у животных для лабораторных исследований проводили на 3-и, 13-е и 22-е сут после облучения, которые являются ключевыми в динамике формирования лучевого костно-мозгового синдрома. Интенсивность СРП в крови животных изучали с помощью метода кинетических хемилюминесцентных характеристик [6]. Кинетику свечения проб фиксировали в виде хемилюминограмм на приборе ХЛМ1Ц-01, эмиссию света регистрировали с помощью счетчика фотонов. Светосумму свечения образцов (Σ_{300}) в течение 300 с для удобства представления полученных результатов отображали в условных единицах (1 у.е. = 10000 имп/с). Каталазную активность (КА) крови определяли по [7], резистентность эритроцитов – по их сохранению после инкубации в гипертоническом растворе NaCl в течение одного часа.

Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики; расчеты проводили с использованием программных средств Microsoft Excel [8].

Результаты и их обсуждение. Лучинецкое месторождение расположено около г. Рогатина (Ивано-Франковская обл.) в пределах Вольно-Подольского и Прикарпатского бассейна. Водоносный горизонт приурочен к трещиноватым мергелям верхнего мела (табл. 1, 2).

Дебит основной скважины 1-Л – 80 м³/сут. Вода является сульфатно-гидрокарбонатной натриевой с минерализацией 2,64 мг/дм³. Скважины 1-С (глубина – 30 м) и 729 (глубина – 80 м), пробуренные в районе с. Бабухов, также приурочены к меловым отложениям. Основные водовместительные породы – известняки и песчаники. Воды – гидрокарбонатно-сульфатные и кальциево-магниевые с минерализацией ~ 1 г/дм³.

Все воды Лучинецкого месторождения имеют повышенное содержание соединений кремния (30 – 40 мг/дм³) в пересчете на метакремниевую кислоту. Очевидно, значительное содержание сульфатов обуславливает повышенное содержание селена в данных водах (от 4 до 7 мкг/дм³). Согласно данным сезонных наблюдений в воде скв. 729 содержание селена может приближаться к бальнеологически активной норме – 10 мкг/дм³ [9].

В результате проведенных исследований установлено, что на третьи сутки эксперимента прооксидантно-антиоксидантное соотношение в периферической крови животных контрольной группы составляло 36,0 ± 2,1 у.е. (рис. 1). Для мышей, которых в течение трех суток выпаивали

водой из скв. 1-Л и скв. 729 (гр. MB1 и MB729), зарегистрированы достоверно меньшие показатели интенсивности СРП в крови. Σ_{300} составляла соответственно $32,6 \pm 0,8$ и $32,3 \pm 0,5$ у.е.

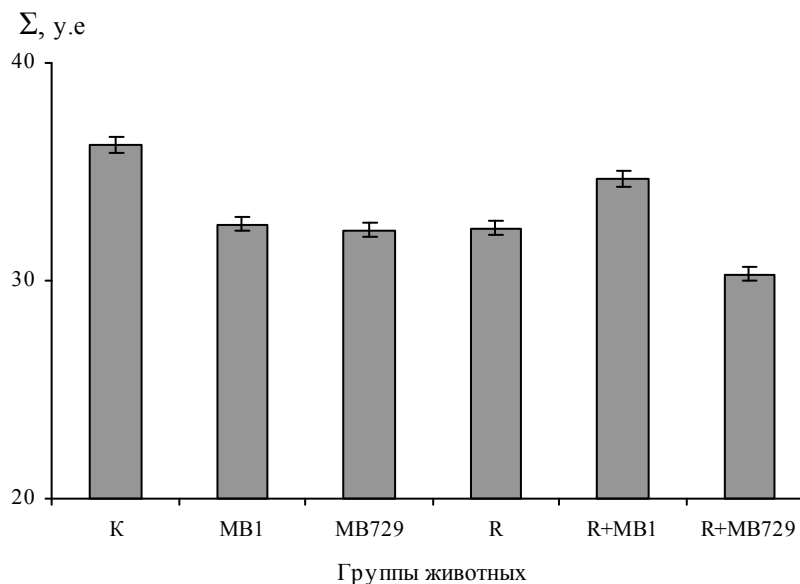


Рис. 1. Прооксидантно-антиоксидантное соотношение (у.е.) в периферической крови мышей опытных групп на третьи сутки после облучения.

У облученных мышей, которые употребляли воду из системы питьевого водоснабжения (четвертая группа), зафиксировано снижение Σ_{300} до $32,4 \pm 0,5$ у.е., а при употреблении воды из скв. 729 – до $30,3 \pm 0,4$ у.е. Вместе с тем при аналогичных условиях вода из скв. 1-Л способствовала нормализации СРП ($\Sigma_{300} = 34,7 \pm 0,7$ у.е.).

Известно, что интенсивность СРП в крови после облучения животных в сублетальных и летальных дозах характеризуется фазными изменениями [9]. Стимуляция СРП в результате радиолитиза воды первоначально вызывает мобилизацию ресурсов антиоксидантной защиты организма, которая в течение непродолжительного времени – в зависимости от дозы облучения и резерва антиоксидантов – сменяется их инактивацией.

Такая закономерность наблюдалась на третьи сутки в крови облученных мышей как при употреблении ими воды из системы питьевого водоснабжения, так и минеральной воды из скв. 729. Полученные данные свидетельствуют об антиоксидантном потенциале воды из скв. 729: светосумма гемолизата крови облученных животных, которые употребляли данную воду, была наименьшей среди всех облученных групп.

Таблица 1. Макрокомпонентный состав минеральных вод Лучинского месторождения

Место отбора пробы	Глубина скважины, м	pH	Минерализация г/дм ³	Содержание, мг/дм ³										Жесткость, мг-экв	Другие компоненты, мг/дм ³	ПО, мг/дм ³	
				Na	K	Ca	Mg	Не обн.	Cl	SO ₄	HCO ₃	NO ₃	NO ₂				общая
Скважина 1-Л	80,0	7,30	2,634	775,00	8,00	20,50	8,20	2,00	78,00	1080,6	659,00	0,60	2,50	1,69	1,69	H ₂ SiO ₃ – 32,89	1,80
Скважина 729	80,0	6,55	1,020	22,00	1,00	224,40	27,90	Не обн.	92,20	271,60	378,30	3,10	0,20	13,50	6,20	Fe ²⁺ – 0,65 H ₂ SiO ₃ – 25,87	1,00

Таблица 2. Микрокомпонентный состав минеральных вод Лучинского месторождения

Место отбора пробы	Содержание, мг/дм ³															
	Cu	Zn	Mn	Co	Ni	Cr	Hg	Ag	Pb	Fe	Sr	As	Al	Li	Se	
Скважина 1-Л	0,0016	0,0018	0,0006	<0,0001	0,0002	0,0008	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0797	3,1689	<0,0001	0,0005	0,1789	0,0041	
Скважина 729	0,0035	0,0319	0,1601	0,0004	0,0017	0,0008	0,0002	<0,0001	0,0003	1,5874	3,1946	0,0003	0,0025	0,0135	0,0069	

Существенные изменения в окислительном метаболизме системы крови отмечены и при исследовании ее каталазной активности (рис. 2).

В [11] установлено, что показатели интенсивности СРП и КА крови изменяются антибатно. С одной стороны, светосумма свечения гемолизата отображает интегральную активность свободнорадикальных процессов, с другой – активность каталазы как ключевого фермента антиоксидантной защиты, что свидетельствует о компенсаторных возможностях системы.

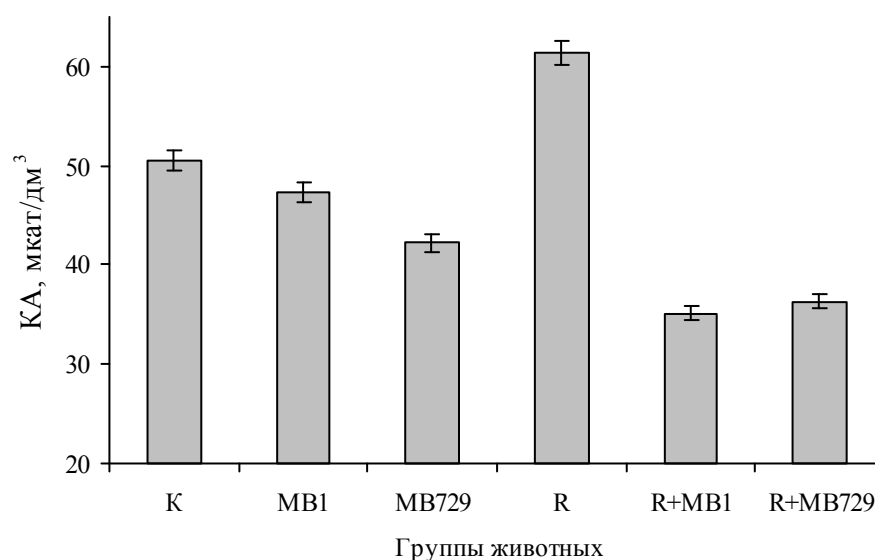


Рис. 2. Каталазная активность (КА) периферической крови мышей экспериментальных групп на третьи сутки после облучения.

Каталаза является индуцибельным ферментом; интенсификация генерации в тканях свободных радикалов запускает процесс наработки каталазы, что со временем уравнивает комплекс противоположно направленных реакций. Последующее снижение КА системы крови является основной причиной развития в облученном организме окислительного стресса [12].

У облученных животных, которые находились на обычном водном рационе, нарушается соотношение интенсивности СРП и КА крови. Последняя возрастает на 25% по отношению к контролю. В результате через трое суток после облучения уровень СРП в крови существенно снижается. Но такая компенсация долго поддерживаться не может, поскольку активация каталазной системы впоследствии приводит к ее быстрому истощению.

Выпаивание животных водой из скв. 1-Л и скв. 729 в течение трех суток приводит к снижению как светосуммы свечения крови, так и ее каталазной активности. Наблюдается сбалансированность этих процессов и стабилизация окислительного метаболизма.

Таким образом, можно предположить, что при выпаивании животных минеральной водой из скв. 1-Л в течение трех суток после облучения происходит незначительное уменьшение (на 6 – 7 %) прооксидантно-антиоксидантного соотношения в результате действия минеральных веществ, поступающих в организм с водой. Еще более существенное модифицирующее влияние минеральной воды на протекание свободно-радикальных процессов в крови наблюдается при выпаивании облученных животных водой из скв. 729. Так, через трое суток для этой группы активность каталазы снизилась на 70 % по сравнению с контролем, а интенсивность СРП – на 83 %.

В последующие сроки эксперимента (13-е, 22-е сут после облучения) происходила постепенная интенсификация СРП в крови, что обусловлено развитием и формированием радиационных эффектов, и соответствующее снижение КА с минимумом на 22-е сут (табл. 3).

Таблица 3. Прооксидантно-антиоксидантное соотношение (Σ_{300}) и каталазная активность в периферической крови мышей опытных групп после их облучения ($\Sigma_c \pm \delta_p$; $P = 95\%$)

Группа животных	13-е сут		22-е сут	
	Σ_{300} , у.е.	КА, мкат/дм ³	Σ_{300} , у.е.	КА, мкат/дм ³
К	32,93 ± 0,51	53,25 ± 7,16	37,25 ± 3,71	50,28 ± 7,73
МВ1	35,66 ± 0,87	84,25 ± 23,29	42,71 ± 3,15	24,00 ± 2,74
МВ729	36,66 ± 1,12	58,00 ± 13,00	40,46 ± 10,15	46,75 ± 11,39
Р	34,50 ± 1,04	38,25 ± 3,09	38,32 ± 0,88	27,75 ± 2,56
Р + МВ1	33,18 ± 0,37	43,50 ± 3,97	36,77 ± 1,86	25,50 ± 0,87
Р + МВ729	32,93 ± 0,59	39,75 ± 4,64	38,86 ± 0,78	35,25 ± 3,75

Вместе с тем на 13-е сут наблюдалось повышение каталазной активности в крови необлученных мышей, которые употребляли минеральную воду из скв. 1-Л и скв. 729, соответственно на 58 и 10 %.

Установлено, что в этот период минеральные воды не могут существенно влиять на манифестацию радиационных поражений на уровне целостного организма. Причина истощения антиоксидантных ресурсов

крови, очевидно, заключается в снижении содержания эритроцитов в кровяном русле, поскольку в этих клетках в основном дислоцируется каталаза. Об этом свидетельствуют и данные относительно резистентности эритроцитов (рис. 3).

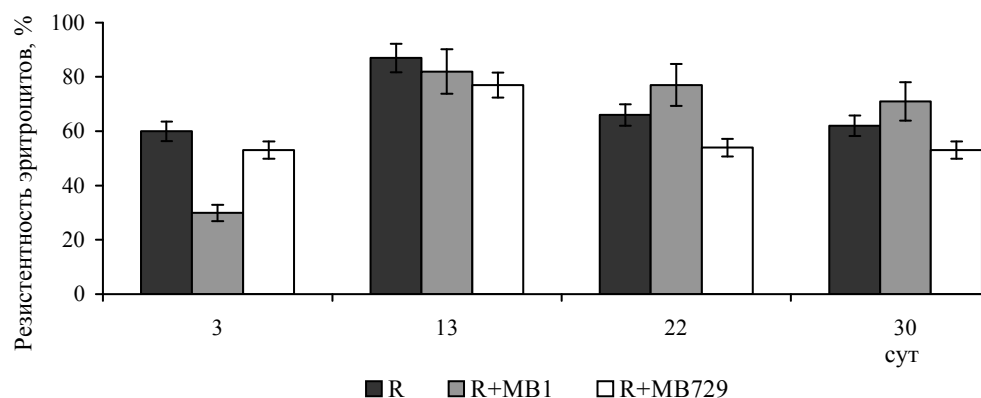


Рис. 3. Изменение резистентности эритроцитов мышей, облученных при дозе 5,0 гр, в процессе курсового применения минеральных вод Лучинецкого месторождения (количество эритроцитов до инкубации – 100 %).

Минеральные воды (особенно из скв. 1-Л) уже через трое суток после облучения снижают резистентность мембран эритроцитов, что значительно увеличивает риск их гибели и элиминации из крови. В результате в русле сохраняются лишь эритроциты, мембраны которых под действием токсических метаболитов (постлучевая интоксикация) и поступающих минеральных веществ испытывают перестройки, особенно липидных компонентов внешней оболочки. Таким образом, они становятся более ригидными и резистентными относительно действия агрессивных факторов. Но при этом подавляется их функциональная активность, в частности эффективность трансмембранного транспорта кислорода и углекислого газа. Поэтому такое состояние мембран не может долго поддерживаться.

Резистентность мембран эритроцитов на 13-е, 22-е и 30-е сут после облучения имеет волнообразную динамику, которая зависит от ряда факторов: гибель клеток органов и выхода их составляющих в русло крови; активация пероксидного окисления липидов мембран эритроцитов, что увеличивает их проницаемость и приводит к перестройке (замене ненасыщенных липидов насыщенными и др.); изменение осмотического давления в периферическом русле благодаря поступлению с минеральной водой ионов, различающихся по составу и концентрации.

Действие последнего фактора продемонстрировано на рис. 4. Длительное употребление необлученными животными минеральных вод сначала вызывает увеличение резистентности мембран эритроцитов, которое впоследствии (на 15 – 20-е сут) сменяется нарушением их проницаемости.

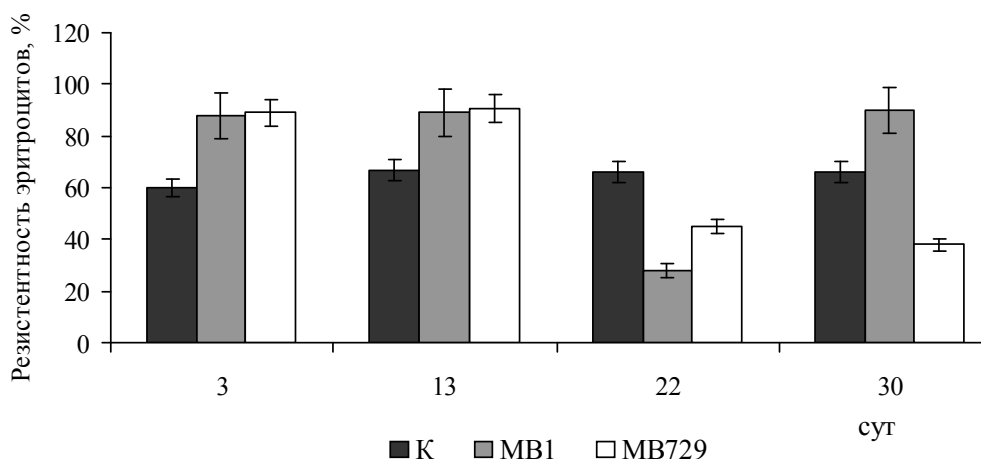


Рис. 4. Изменение резистентности эритроцитов необлученных мышей в процессе курсового применения минеральных вод Лучинецкого месторождения (количество эритроцитов до инкубации – 100 %).

Необходимо отметить, что значительные изменения отмечены при употреблении животными минеральной воды из скв. 1-Л. Вода из скв. 729 действует на эритроциты более толерантно, особенно это заметно в первый период наблюдения после облучения (см. рис. 3).

Таким образом, минеральные воды Лучинецкого месторождения при курсовом применении оказывают существенное влияние на окислительный гомеостаз. Это влияние выражается как прямо (на прооксидантно-антиоксидантное соотношение благодаря наличию в них селена и других антиоксидантов), так и опосредовано (через изменение КА и электролитного состава крови). Модификация лучевых эффектов и их вектор зависят от характеристик воды – макро- и микрокомпонентного состава, минерализации, жесткости, величин pH и Eh.

Длительное поступление минеральных вод в организм способствует изменению электролитного состава крови, приводя к нарушению гомеостаза. Краткосрочные курсы минеральных вод можно рекомендовать как эффективный фактор, который поддерживает СРП на стабильном уровне.

Таким образом, природные лечебные минеральные воды являются эффективным средством влияния на метаболические процессы в орга-

низме, но в то же время использование их для лечения и профилактики без медицинского обследования и рекомендаций врача может привести к нежелательным последствиям. Употребление минеральных вод при разных патологических состояниях требует разработки оптимального дозирования на основе индивидуального подхода. Поэтому курсовая профилактика с применением исследованных минеральных вод должна сопровождаться мониторингом прооксидантно-антиоксидантного соотношения в системе крови.

Резюме. Досліджено вплив природних мінеральних вод Лучинецького родовища із свердловин 1-Л і 729 на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в периферичній крові мишей, опромінених у дозі 5,0 Гр. Встановлено, що дані мінеральні води мають виражену біологічну дію, їх курсове застосування є ефективним засобом корекції окисного метаболізму.

*N.A. Druzhyna, V.M. Shestopalov, A.J. Moiseev, N.K. Rodionova,
E.B. Ganzha, L.I. Makovetskaya, N.P. Moiseeva*

INFLUENCE OF NATURAL MINERAL WATERS OF LUCHINETCH'S DEPOSIT ON OXIDIZING METABOLISM AFTER THE IRRADIATION IN THE SUBLEATAL DOSE

Summary

Investigational influence of natural mineral waters of Luchinetch's deposit from the mining holes of 1-Л and 729 on a prooksidantn-antioksidant equilibrium in peripheral blood of mice, radiation-exposed in a dose 5,0 Gr. It is set that the mineral water have the expressed biological action, them course application is the effective mean of correction of oxidizing metabolism.

Список использованной литературы

- [1] *Никулина Л.А., Зубкова С.М.* // *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физкультуры.* – 1988. – №4. – С. 59 – 61.
- [2] *Зубкова С.М., Любимова Н.Н., Никулина Л.А. и др.* // *Радиац. биология. Радиозкология.* – 1995. – 35, Вып.6. – С. 884 – 888.
- [3] *Кнышова В.В.* // *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физкультуры.* – 2002. – № 2. – С. 34 – 36.
- [4] *ДСТУ 878–93.* Води питні мінеральні. – [Перевидання, травень 1996]. – К., 1996. – 88 с.

- [5] *ОСТ 41-08-212-82. Управление качеством аналитической работы. Классификация методов анализа минерального сырья по точности результатов.* – М.: Изд-во стандартов, 1982. – 86 с.
- [6] *Серкіз Я.І., Чеботарев Є.Ю., Федорова З.П. та ін. // Фізіол. журн.* – 1977. – **23**, №2. – С. 274 – 276.
- [7] *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // Лаб. дело.* – 1988. – №1. – С. 16 – 19.
- [8] *Ланач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.* – Киев: Морион, 2001. – 407 с.
- [9] *Классификация минеральных вод Украины / Под ред. В.М. Шестопалова.* – Киев: Маком, 2003. – 121 с.
- [10] *Серкіз Я.І., Дружина Н.А., Хриенко А.П. и др. Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии.* – Киев: Наук. думка, 1989. – 176 с.
- [11] *Моїсєєв А.Ю., Дружина М.О., Моїсєєва Н.П., Шестопалов В.М. Біологічні аспекти застосування природних мінеральних вод.* – Київ: Кім, 2010. – 123 с.
- [12] *Дружина М.О., Бурлака А.П., Моїсєєва Н.П. та ін. // Чорнобиль. Зона відчуження.* – Киев: Наук. думка, 2001. – С. 521–525.