

УДК 616-098:612.67.014.481.1

© Коллектив авторов, 2012.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ОДНОКРАТНЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ В РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ

Е.Н. Горбань, Н.В. Топольникова, Е.В. Подъяченко, Н.А. Утко

ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарёва НАМН Украины», лаборатория радиобиологии (зав. – ст. науч. сотр. Е.Н. Горбань), г. Киев.

### AGE PECULIARITIES OF SOME SIGNS OF METABOLIC SYNDROME CAUSED BY IRRADIATION IN VARIOUS DOSES

E.M. Gorban, N.V. Topolnikova, O.V. Podjachenko, N.A. Utko

#### SUMMARY

Single x-ray exposure at doses of 3 or 5 Gy resulted in a more pronounced disturbances of lipid peroxidation in liver, increase in HbA<sub>1c</sub> in the blood and reducing the level of stable NO metabolites in blood and in the aorta of adult rats compared with old ones. In some cases, the dose of 3 Gy has more negative effects on the organism compared with a dose of 5 Gy.

### ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ДЕЯКИХ ПРОЯВІВ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ, ЗУМОВЛЕНИХ ОДНОРАЗОВИМ ОПРОМІНЕННЯМ В РІЗНИХ ДОЗАХ

Є.М. Горбань, Н.В. Топольнікова, О.В. Под'яченко, Н.О. Утко

#### РЕЗЮМЕ

Одноразове рентгенівське опромінення в дозах 3 або 5 Гр призводило до більш виражених порушень системи ПОЛ в тканині печінки, підвищення рівня HbA<sub>1c</sub> в крові та зниження рівня стабільних метаболітів NO в крові і тканині аорти дорослих щурів у порівнянні зі старими. В деяких випадках доза 3 Гр спричиняла більш негативний вплив на організм у порівнянні з дозою 5 Гр.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, ионизирующее излучение, старение.

Медицинские последствия аварии на Чернобыльской АЭС, обнаруженные у ее ликвидаторов и среди населения, проживающего на загрязненной радионуклидами территории, приводят к повышению риска возникновения метаболического синдрома (МС), среди признаков которого ведущими являются: 1) инсулинорезистентность (ИР), 2) дислиппротеинемия, 3) патология сердечно-сосудистой системы [1]. В современных схемах патогенеза радиационного воздействия активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) отводится роль ключевого звена, фактора, непосредственно обуславливающего повреждение мембранных клеточных структур, развитие поражений сосудов и других органов [1, 2]. Одним из последствий развития ИР являются нарушения жирового обмена, что в конечном итоге может способствовать увеличению массы тела. Из всех факторов, синтезируемых эндотелием, наиболее существенная роль в регуляции его основных функций принадлежит оксиду азота (NO). И именно NO-продуцирующая функция эндотелия оказывается наиболее уязвимой, особенно в условиях воздействия ионизирующего излучения (ИИ) [3]. Поэтому целью нашего исследования являлось изучить влияние ИИ на некоторые показатели МС: уровень гликозилированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) в крови, массу тела, уровни стабильных метаболитов NO в крови и ткани аорты, а

также показатели ПОЛ в ткани печени взрослых и старых крыс.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования, проведенные на 18 взрослых (7-8 мес) и 18 старых (23-24 мес) крысах-самцах линии Вистар. 1 группа – контрольная. 2 группа - крысы подвергнутые воздействию однократного рентгеновского облучения (R-облучения) в сублетальной дозе 3 Гр. Облучение животных производили с помощью рентген установки «РУМ-17». Параметры облучения: напряжение на трубке - 170 кВ; сила тока – 12 мА; фильтр - 0,5 мм Cu и 1,0 мм Al; фокусное расстояние - 45 см ; мощность дозы – 0,5 сГр/с; время облучения - 10 мин. 3 группа - животные, облученные в дозе 5 Гр (мощность дозы – 0,833 сГр/с). Животных брали в опыт через 30 сут после облучения.

Интенсивность свободно- радикального окисления в крови и гомогенатах ткани печени оценивали по уровням малонового диальдегида (МДА) [4], супероксиддисмутазной (СОД) [5], каталазной (Кат) [6] и глутатионпероксидазной (ГП) [7] активностей.

Уровень гликозилированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) в крови определяли колориметрическим методом с использованием 0,05 М тиобарбитуровой, 40 % трихлоруксусной и 0,3 Н щавелевой кислот с помощью набора «Диабет-тест» (Украина).

В плазме крови и стенке аорты определяли уровни стабильных метаболитов оксида азота ( $\text{NO}$ : нитрит-анионов  $\text{NO}_2^-$  и нитрат-анионов  $\text{NO}_3^-$ ) спектрофотометрическим методом. Уровни  $\text{NO}_2^-$  определили с использованием реактива Грисса (ООО «Химлаборреактив», г. Киев) по методу Грина [8], уровни  $\text{NO}_3^-$  – после их восстановления до нитритов с использованием «цинковой пыли» [9].

Статистическая обработка полученных результатов выполнена по методу Стюдента для непарных измерений [10].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 1 мес после однократного R-облучения в дозе 3 Гр уровень МДА в ткани печени взрослых крыс достоверно возрос (табл. 1). При этом СОД-активность в указанном органе достоверно повысилась. У старых крыс, облученных в указанной дозе, не выявлено достоверных изменений уровня МДА в ткани печени по сравнению с необлученными. Выявлено достоверное повышение ГП-активности в ткани печени указанной группы животных по сравнению с контролем. Можно предположить, что

Таблица 1

**Показатели ПОЛ в ткани печени взрослых и старых крыс через 1 мес после рентгеновского облучения в дозе 3 или 5 Гр**

Показатели	Контроль		Облучение в дозе 3 Гр		Облучение в дозе 5 Гр	
	Взрослые	Старые	Взрослые	Старые	Взрослые	Старые
МДА, мкмоль/л	1,42 ± 0,09	1,56 ± 0,01	2,40 ± 0,32*	1,64 ± 0,38	1,59 ± 0,20#	0,97 ± 0,28*
СОД, ед/(мг белка · мин)	71,8 ± 9,0	75,4 ± 5,4	141,9 ± 9,8*	80,6 ± 10,3	75,4 ± 5,4#	73,4 ± 11,5
Каталаза, мкмоль/(мг белка · мин)	206,9 ± 18,0	159,2 ± 23,1	215,7 ± 24,8	184,8 ± 28,3	185,1 ± 13,1	233,3 ± 32,0*
ГП, нмоль/(мг белка · мин)	38,76 ± 8,76	29,73 ± 4,10	47,59 ± 6,35	64,90 ± 6,04*	29,97 ± 3,40#	31,85 ± 4,00#

Примечание. \* -  $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста; # -  $P < 0,05$  по сравнению с группой животных, облученных в дозе 3 Гр, соответствующего возраста.

отсутствие изменений интенсивности процессов ПОЛ в печени старых крыс в отдаленные сроки после R-облучения в дозе 3 Гр может являться следствием активации ГП-активности.

Через 1 мес после R-облучения в дозе 5 Гр уровень МДА в ткани печени взрослых крыс достоверно не изменился, при этом ГП-активность была снижена. Таким образом, R-облучение в дозе 3 Гр оказало более негативное влияние на процессы ПОЛ в ткани печени взрослых крыс, чем облучение в дозе 5 Гр. Это может быть связано с тем, что облучение в дозе 3 Гр приводило к усиленной активации системы антиоксидантной защиты (АОЗ) в ранние сроки после воздействия [11]. Тогда как доза 3 Гр, возможно, была недостаточной для запуска системы АОЗ в ткани печени взрослых крыс в ранние сроки после облучения. Уровень МДА в ткани печени старых крыс, облученных в дозе 5 Гр достоверно снизился по сравнению с контролем, а Кат-активность – повысилась. Таким образом, через 1 мес после облучения в дозах 3 и 5 Гр активация процессов ПОЛ в ткани печени взрослых крыс была более выражена, чем у старых, то-есть печень взрослых животных оказалась менее радиорезистентна по сравнению со старыми.

Уровень  $\text{HbA}_{1c}$  отражает среднюю концентрацию глюкозы в организме за последние 2-3 мес, поскольку

образовавшийся  $\text{HbA}_{1c}$  аккумулируется внутри эритроцитов и сохраняется в течение всего срока их жизни. Через 1 мес после облучения в дозах 3 и 5 Гр выявлено повышение уровня  $\text{HbA}_{1c}$  в крови взрослых крыс, что свидетельствует о высоком уровне гипергликемии на протяжении 1 мес после облучения (табл. 2). У старых животных не было выявлено достоверных изменений указанного показателя по сравнению с контролем.

Облучение в дозе 3 или 5 Гр приводило к тенденции к повышению массы тела у взрослых крыс (табл. 3). При облучении в дозе 3 Гр наблюдалось достоверное повышение массы тела у старых крыс. Поскольку у старых крыс, облученных в дозе 5 Гр, масса тела не изменялась, можно предположить, что доза 3 Гр оказывает более существенное воздействие на развитие метаболического синдрома у старых крыс, чем доза 5 Гр.

Через 1 мес после R-облучения в дозе 3 Гр в плазме взрослых крыс происходило достоверное снижение суммарного уровня стабильных метаболитов  $\text{NO}$  ( $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$ ) по сравнению с контролем за счет снижения части  $\text{NO}_3^-$ -аниона (табл. 3). А при облучении в дозе 5 Гр снижение суммарного уровня стабильных метаболитов  $\text{NO}$  ( $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$ ) в плазме крови взрослых крыс происходило как за счет уровня  $\text{NO}_2^-$ -аниона, так и

Таблица 2

Уровень гликозилированного гемоглобина в крови и масса тела взрослых и старых крыс через 1 мес после рентгеновского облучения в дозе 3 или 5 Гр

Показатели	Контроль		Облучение в дозе 3 Гр		Облучение в дозе 5 Гр	
	Взрослые	Старые	Взрослые	Старые	Взрослые	Старые
HbA <sub>1c</sub> , мкмоль/л	7,06 ± 0,24	6,96 ± 0,28	8,07 ± 0,01*	7,67 ± 0,17#	7,88 ± 0,18*	7,76 ± 0,27
Масса тела, г	258 ± 20	287 ± 10	269 ± 16	331 ± 16#	264 ± 27	305 ± 21

Примечание. \* - P < 0,05 по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста; # - P < 0,05 по сравнению с соответствующей группой взрослых крыс.

Таблица 3

Уровни стабильных метаболитов оксида азота в крови и стенке аорты взрослых и старых крыс через 1 мес после рентгеновского облучения в дозе 3 или 5 Гр, нмоль/мг белка

Показатели		Контроль		Облучение в дозе 3 Гр		Облучение в дозе 5 Гр	
		Взрослые	Старые	Взрослые	Старые	Взрослые	Старые
Кровь	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	2,08 ± 0,58	1,60 ± 0,14	2,68 ± 0,88	2,76 ± 0,78	0,70 ± 0,18*	1,78 ± 0,68
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	15,54 ± 0,99	4,16 ± 1,70#	4,50 ± 1,28*	4,04 ± 0,56	10,50 ± 1,28*	5,50 ± 0,98#
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	17,62 ± 0,98	5,76 ± 1,23#	6,26 ± 0,92*	7,00 ± 0,71	11,20 ± 1,12*	7,28 ± 0,92#
Аорта	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1,78 ± 0,43	0,60 ± 0,06#	1,83 ± 0,20	1,42 ± 0,22*	0,78 ± 0,08*	0,38 ± 0,07#
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1,19 ± 0,37	0,63 ± 0,03	1,48 ± 0,19	0,94 ± 0,14#	0,30 ± 0,03*	0,70 ± 0,28
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2,97 ± 0,11	1,16 ± 0,15#	3,31 ± 0,50	2,36 ± 0,32*	1,08 ± 0,42*	1,18 ± 0,22

Примечание. \* - P < 0,05 по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста; # - P < 0,05 по сравнению с соответствующей группой взрослых крыс.

за счет NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-аниона. Известно, что дефицит NO играет особую роль в возникновении и патогенезе многих заболеваний сердечно-сосудистой системы.

У старых крыс, облученных в дозах 3 или 5 Гр уровни стабильных метаболитов NO достоверно не изменялись по сравнению с контролем. Через 1 мес после R-облучения в дозе 3 Гр в стенке аорты взрослых крыс не наблюдалось достоверных изменений уровней стабильных метаболитов NO по сравнению с контролем, а при облучении в дозе 5 Гр выявлено снижение уровней стабильных метаболитов NO (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-анионов). В стенке аорты старых животных, облученных в дозе 3 Гр, выявлено повышение суммарного уровня стабильных метаболитов NO (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) по сравнению с контролем, а при облучении в дозе 5 Гр указанные показатели достоверно не изменялись.

Таким образом, воздействие ИИ в дозе 5 Гр оказывало более негативное воздействие на уровни стабильных метаболитов NO в плазме крови и ткани аорты у взрослых крыс по сравнению со старыми. Облучение в дозе 3 Гр негативно влияло только на уровень стабильных метаболитов NO в плазме крови взрослых крыс.

#### ВЫВОДЫ

1. Взрослые животные менее радиорезистентны по сравнению со старыми, что проявилось в более выраженных радиационно-индуцированных

нарушениях системы ПОЛ в ткани печени, повышении уровня HbA<sub>1c</sub> в крови и снижении стабильных метаболитов NO в плазме крови и ткани аорты.

2. Выявлено более существенное повышение массы тела старых крыс, по сравнению со взрослыми в сравнительно отдаленные сроки после облучения.

3. Доза 3 Гр оказывала более выраженное негативное воздействие на показатели ПОЛ в ткани печени, и массу тела, по сравнению с дозой 5 Гр. Доза 5 Гр приводила к более существенному дефициту NO в плазме крови и ткани аорты у взрослых крыс, по сравнению с более низкой дозой – 3 Гр.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зуева Н.А., Коваленко А.Н., Ефимов А.С., Тронько Н.Д. Ионизирующая радиация и инсулинорезистентность. – Киев: Здоров'я, 2004. – 198 с.

2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наукова думка, 1991. – 256 с.

3. Ивашкин В.Т. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В.Т. Ивашкин, О.М. Драпкина - [2-е изд.] - М.: Гэотар-Медиа, 2011. – 376 с.

4. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в

биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

5. Кузьминская У.А., Кокаровцева М.Г., Овсянникова Л.М. И др. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте. – Киев, 1989. – 184 с.

6. Королюк М.А., Иванова Л.И. Определение активности каталазы в сыворотке крови // Лаб. Дело. – 1988. - № 1. – С.19-21.

7. Paglia D.E., Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // J. Clin. Med. - 1967.-V.70. -P.158-169.

8. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological

fluids // Analyt. Biochem. – 1982.- V.126.- P.131-138.

9. Орлова Е.А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности // Укр. журн. екстремальн. мед. – 2002. – Т.3, №1.- С.79-82.

10. Минцер А.П. Угаров Б.Н., Власов В.В. Методы обработки медицинской информации. – Киев: Вища школа, 1991. – 271 с.

11. Горбань Є.М., Топольнікова Н.В., Осипов М.В. Вікові особливості радіаційних змін інсулінорезистентності організму за умов гіпоксичного впливу // Український радіологічний журнал. – 2010. - Т.18, Вип. 4. - С.446–452.