

21. McFarland R.—J. Comp. Psychol., 1937, 23, 191.
22. McFarland R.—J. Comp. Psychol., 1937, 24, 189.
23. McFarland R.—J. Comp. Psychol., 1937, 23, 22, 227.

Надійшла до редакції
1.III 1968 р.

ДО ПИТАННЯ ПРО ЗНАЧЕННЯ І МЕХАНІЗМ ПОСТРАДІАЦІЙНОГО ПРИГНІЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ХОЛІНЕСТЕРАЗИ КРОВІ

В. А. Барабой, В. Ю. Фіалек, Л. І. Загоруйко

*Відділ тканинної дозиметрії Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

Один з важливих проявів впливу на організм ссавців значних доз іонізуючої радіації полягає в розвитку характерних змін вмісту в крові і тканинах ряду гормонів, медіаторів та інших біологічно активних речовин. Спостерігається збудження симпатико-адrenalової (гіпер-адrenalінемія, гіперглікемія [8, 19]) і гіпофіз-адrenalової (підвищення в крові і сечі рівня вільних кортикостероїдів [17]) систем у перші години й доби після впливу летальних доз іонізуючої радіації. Друга хвиля гіперсекреції катехоламінів і кортикостероїдів розвивається звичайно на 7—14-у доби після впливу іонізуючої радіації, тобто в період розпалу клінічних проявів гострої променевої хвороби. Аналогічно змінюється в опроміненому організмі рівень й інших біогенних амінів [18], зокрема, ацетилхоліну [6, 13, 15], який є в більшості фізіологічних реакцій антагоністом катехоламінів.

Якщо взяти до уваги, що введення адrenalіну [7, 20], ацетилхоліну [12] і, особливо, їх комбінації [12], а також холіноміметичних [12] та антихолінестеразних [1, 4] засобів істотно підвищує стійкість організму до опромінення, що рівень глюкокортикоїдів у крові також відіграє важливу роль у забезпеченні високої радіорезистентності організму [17], то можна вважати, що принаймні перша хвиля описаних змін відбиває фізіологічну захисну реакцію організму на вплив ушкоджуючого агента.

Збільшення кількості ацетилхоліну в крові опромінених тварин може бути зумовлене зниженням активності холінестерази крові, відзначеним рядом дослідників [9, 22] у перші години й добу після впливу летальних доз радіації. Проте холінестераза, за даними Себіна [23], виявила *in vitro* та *in vivo* високу радіорезистентність: лише дози порядку 50—100 тис. *p* викликають незначну її інактивацію, а при опроміненні щурів дозою 60 000 *p* (6000 *p/xv*) через 30 *xv* не відзначено достовірного зниження активності холінестерази мозку і крові. Отже, ранні зрушення активності ферменту, як у бік зниження [5, 9, 22], так і збільшення [11] не можна пояснити безпосереднім впливом радіації на структуру ферменту, активних центрів його молекул.

Метою роботи було дослідження можливих шляхів опосередкованого впливу іонізуючої радіації на активність холінестерази крові ссавців.

Методика досліджень

Робота виконана на 156 лабораторних щурах вагою 120—180 г і восьми кроликах вагою 1800—2500 г. Опромінення тварин проводилось на апараті РУМ-11 при напрузі 180 кВ, накалі 15 ма, фільтрах 0,5 мм Cu, 1,0 мм Al. Щурів вагою 120—140 г опромінювали дозою 700 *p*, вагою 145—180 г — дозою 750 *p* (шкірно-фокусна відстань 40 см, 33 *p/xv*); кроликів опромінювали дозою 800 *p* (відстань 60 см, 19,7 *p/xv*).

Активність холінестерази цільної крові досліджували колориметрично за Хестриним [21]. 0,2 мл крові брали мікропіпеткою з хвостової вени щурів і крайової вени вуха кроликів. В експерименті на щурах холінестеразну активність крові досліджували до опромінення і через 1,5 год, одну, три і сім діб після впливу радіації. У кроликів проби крові брали до і через 15 хв, 1,5 год, одну, три, сім і 14 діб після опромінення.

Адреналін · НСІ вводили внутріочеревинно в дозах 200, 50 і 12,5 мг/кг, заздалегідь розводили в фізіологічному розчині до концентрацій 1:50 000, 1:200 000 і 1:800 тисяч відповідно. АКТГ вводили внутрим'язово в дозах 5; 7,5 і 10 од. на 100 г ваги. Активність холінестерази крові визначали до введення і через чотири години (максимум стимуляції кори надниркових залоз), одну, три і п'ять діб після нього. Аскорбінат натрію вводили внутріочеревинно в дозах 60 мг/кг. Натрійгалат — 60 і 300 мг/кг також внутріочеревинно.

Результати досліджень оброблені статистично з використанням критерію Стьюдента й обчисленням достовірності різниці.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень наведені в табл. 1 і 2. Опромінення щурів і кроликів викликає, як видно з табл. 1, закономірне і глибоке зниження активності холінестерази крові (на 75% у щурів і 40—50% у кроликів), яке, проте, нетривале: у щурів через добу, у кроликів через три доби воно замінюється відновленням до вихідного рівня і навіть деяким його підвищенням. На 7—14-у доби спостерігається нове глибоке зниження холінестеразної активності крові, що збігається з періодом максимуму клінічних проявів променевого ураження. Отже, на різних видах тварин показано, що вплив значних доз іонізуючої радіації викликає достовірні зрушення активності ферментів крові, які розщеплюють ацетилхолін, причому найглибші і найбільш закономірні зміни відзначені в перші години і на 7—14-у доби після впливу радіації, тобто в ті самі строки, коли значно підвищується вміст у крові біогенних амінів, глюкокортикоїдів та інших активних біосполук. Крива холінестеразної активності крові опромінених тварин становить ніби дзеркальне відбиття кривої цукру крові або рівня катехоламінів у тих самих щурів. Збіг у часі сам по собі ще не свідчить про наявність причинного зв'язку між цими явищами. Проте в літературі є окремі вказівки на те, що адреналін [3, 14, 16, 25] і кортикостероїди [10, 24] спричиняють певний вплив на активність холінестерази. Цікаво було тому з'ясувати питання, чи не є пострадіаційні зрушення активності цього ферменту наслідком циклічних змін рівня катехоламінів і глюкокортикоїдів у крові, які викликаються опроміненням. Результати відповідних досліджень наведені в табл. 2. Введення щурам адреналіну в усіх згаданих дозах викликало достовірне пригнічення активності холінестерази крові через півтори години, порівнюване з пострадіаційним. Із збільшенням дози адреналіну посилюється як глибина, так і, особливо, тривалість інгібіторного ефекту. Тенденція до відновлення активності ферменту спостерігається вже через добу після введення 12,5 мг/кг адреналіну; після 50 мг/кг відновлення розвивається повільніше, а введення 200 мг/кг викликає інгібіторний ефект, який через одну добу навіть поглиблюється, і через 12 діб повного відновлення ще не відбувається. Отже, роль адреналіну як ендогенного інгібітора активності холінестерази можна вважати доведеною.

Введення АКТГ спричиняло менш однозначний вплив. АКТГ (п'ять одиниць на 100 г ваги щурів) викликав невелике зниження активності холінестерази через добу. Із збільшенням дози АКТГ зниження активності ферменту стає виразнішим і виявляється у більш ранні строки. Слід особливо відзначити, що воно замінюється

Таблиця 1
Холінестеразна активність крові ($M \pm m$) щурів і кроликів при опроміненні і введенні натрійгалагу і аскорбінагу

Кількість тварин	Вихідний рівень	Варіанти дослідів	Доза препарату, мг/кг	Сроки дослідження після впливу					
				15 хв	1,5 год	1 доба	3 доби	7-8 діб	14 діб
26	980 ± 60	Опромінення, щури (700—750 р) <i>t, p</i>	—	—	240 ± 50 $9,4 \pm 0,05$	1070 ± 100 $0,9 > 0,05$	800 ± 110 $1,4 > 0,05$	300 ± 70 $7,4 < 0,05$	— —
8	880 ± 100	Опромінення, кролики (800 р) <i>t, p</i>	—	1190 ± 65 $2,6 < 0,05$	520 ± 120 $2,3 < 0,05$	440 ± 130 $2,7 < 0,05$	935 ± 90 $0,4 > 0,05$	635 ± 150 $1,4 > 0,05$	430 ± 110 $3 < 0,05$
20	860 ± 60	Натрійгалаг, щури <i>t, p</i>	60	—	420 ± 60 $5,2 < 0,05$	750 ± 100 $0,9 > 0,05$	—	—	—
10	1270 ± 200	Натрійгалаг, щури <i>t, p</i>	330	—	480 ± 100 $3,5 < 0,05$	720 ± 20 $2,8 < 0,05$	770 ± 185 $1,8 > 0,05$	—	—
10	1270 ± 40	Аскорбінат натрію, щури <i>t, p</i>	60	—	1160 ± 85 $1,2 > 0,05$	—	—	—	—

Таблиця 2

Вплив адреналіну і АКТГ на холінестеразну активність крові ($M \pm m$) шурів

Кількість шурів	Вихідний рівень	Варіанти досліду	Строки дослідження після впливу					
			1,5 год	4 год	1 доба	2 доби	3 доби	5 дів
10	1070 $\pm$ 65	Адреналін (12,5 мкг/кг) <i>t, p</i>	560 $\pm$ 120 3,64 < 0,05	—	640 $\pm$ 70 4,56 < 0,05	—	—	—
10	1390 $\pm$ 100	Адреналін (50 мкг/кг) <i>t, p</i>	350 $\pm$ 110 7,0 < 0,05	—	595 $\pm$ 70 6,5 < 0,05	550 $\pm$ 100 6,0 < 0,05	—	—
10	980 $\pm$ 140	Адреналін (200 мкг/кг) <i>t, p</i>	360 $\pm$ 110 3,5 < 0,05	—	180 $\pm$ 80 5,0 < 0,05	640 $\pm$ 160 1,60 > 0,05	—	710 $\pm$ 35 1,9 > 0,05
20	1170 $\pm$ 65	АКТГ (5 од./100 г) <i>t, p</i>	—	1110 $\pm$ 140 0,4 > 0,05	710 $\pm$ 65 5,0 < 0,05	—	—	—
10	1100 $\pm$ 110	АКТГ (7,5 од./100 г) <i>t, p</i>	—	630 $\pm$ 150 2,0 > 0,05	1230 $\pm$ 145 1,1 > 0,05	—	—	—
10	1130 $\pm$ 100	АКТГ (10 од./100 г) <i>t, p</i>	—	290 $\pm$ 130 7,6 < 0,05	465 $\pm$ 80 5,2 < 0,05	—	2070 $\pm$ 210 4,1 < 0,05	1240 $\pm$ 130 0,7 > 0,05
10	1380 $\pm$ 130	Адреналін (12,5 мкг/кг) + АКТГ (5 од./100 г) <i>t, p</i>	1460 $\pm$ 200 0,3 > 0,05	—	470 $\pm$ 60 6,4 < 0,05	—	—	—
10	870 $\pm$ 100	Адреналін (200 мкг/кг) + АКТГ (7,5 од./100 г) <i>t, p</i>	410 $\pm$ 80 3,6 < 0,05	—	1490 $\pm$ 90 4,6 < 0,05	1410 $\pm$ 180 2,14 < 0,05	—	—

швидким і вираженим збільшенням холінестеразної активності, яка навіть перевищує вихідний рівень. Так, на третю добу після введення АКТГ (десять одиниць на 100 г ваги) активність ферменту перевищує вихідну майже вдвічі.

Оскільки відомо, що виведення адреналіну є найбільш ранньою із згаданих реакцій, які розвиваються після впливу летальних доз радіації, а стимуляція кори надниркових залоз спостерігається дещо пізніше [17], можна було гадати, що при одночасному введенні тваринам адреналіну і АКТГ (у відповідних дозах) вдасться штучно в модельних умовах відтворити динаміку зміни холінестеразної активності крові в перші години й доби після впливу летальних доз радіації. У табл. 2 наведені дані, які свідчать про те, що це нам, з певним наближенням, вдалося здійснити. Після комбінованого введення 200 мкг/кг адреналіну й 7,5 од. на 100 г АКТГ спостерігалось спочатку (через 1,5 год) зниження активності холінестерази крові більш ніж вдвоє аналогічно після опромінення, а через добу активність ферменту не тільки повернулась до вихідного рівня, але й істотно перевищила його. І тут відзначено повну аналогію (принаймні якісну) з тим, що ми спостерігали раніше у опромінених тварин.

Отже, виходячи з наших даних, можна гадати, що імовірним впливом іонізуючої радіації на активність холінестерази крові щурів є посередній вплив, опосередкований через стимуляцію симпатико-адреналової і гіпофізо-адреналової систем та виділення у кров відповідних активних сполук. Більш того, показано, що зміна кількості і співвідношення введенного адреналіну та АКТГ (модельюючи зміни розміру дози радіації) викликає іншого характеру реакцію ферменту: в перші години може спостерігатися не зниження, а підвищення активності холінестерази, яке змінюється зниженням через добу (див. введення 12,5 мкг/кг адреналіну та 5 од./100 г АКТГ). У світлі цих даних стає зрозумілою певна суперечливість результатів, одержаних різними авторами при вивченні активності холінестерази у опромінених тварин. Навіть невеликі відмінності в дозі опромінення і строках дослідження можуть привести до одержання діаметрально протилежних даних.

У нашій раніше проведеній роботі [2] було показано, що попереднє (60 мг/кг) або пострадіаційне (300 мг/кг) введення щурам протипроменевого препарату натрійгалату чітко подовжує тривалість першої хвили зниження активності холінестерази крові, що можна було тлумачити як прояв штучного посилення природної захисної реакції організму. Але вплив натрійгалату на холінестеразу крові міг бути й не прямим, а стати результатом загального пом'якшення важкості променевого ураження. В даній роботі було досліджено вплив обох доз натрійгалату на активність холінестерази крові неопромінених тварин (табл. 1) і встановлено, що цей препарат дійсно пригнічує активність цього ферменту і що, таким чином, не можна виключити деякого значення цього механізму в протипроменевій дії натрійгалату. Оскільки широко відомі антиокислювальні властивості галатів та інших поліфенолів, можна було припустити, що вплив на холінестеразу є наслідком стабілізуючої дії натрійгалату на адреналін крові. З метою перевірки цього припущення ми вивчали вплив іншого потужного антиоксиданта — аскорбінату (табл. 1). Відсутність його впливу на активність ферменту дозволяє вважати, що ефект натрійгалату не обумовлений захистом від окислення ендogenous адреналіну, а є, можливо, результатом власної інгібіторної його дії.

Тимчасова блокада активності холінестерази, викликана адреналіном, полегшує нагромадження ендogenous ацетилхоліну і збільшує

ефективність (зокрема, протипроменеву) ацетилхоліну, введеного іззовні. Очевидно, цим і пояснюється достовірне збільшення проти-променевої ефективності адреналіну й ацетилхоліну при їх комбінованому застосуванні [15, 16].

Висновки

1. Адреналін (12,5; 50 і 200 *мкг/кг*) викликає достовірне зниження активності холінестерази цільної крові щурів, глибина й тривалість якого залежить від дозування препарату.

2. АКТГ (5; 7,5 і 10 од. на 100 *г* ваги) викликає деяке зниження активності холінестерази крові, що змінюється вираженням його підвищенням.

3. Рентгенівське опромінення щурів (700—750 *p*) і кроликів (800 *p*) викликає глибоке зниження активності ферменту в перші години і на 7—14-у доби після опромінення; на першу — третю доби спостерігається відновлення активності й навіть перевищення вихідного рівня.

4. Комбіноване введення адреналіну (200 *мкг/кг*) і АКТГ (7,5 од. на 100 *г*) спричиняє на активність холінестерази вплив, подібний до ефекту радіації, що дозволяє зробити припущення про участь цих речовин як посередників у механізмі впливу іонізуючої радіації на активність холінестерази крові.

5. Натрійгалат (60 і 300 *мг/кг*) достовірно, але поворотно інгібує активність холінестерази крові, причому ця його дія не є наслідком захисту від окислення ендogenous адреналіну.

Література

1. Арбузов С. Я.—Вестник АМН СССР, 1962, 3, 58.
2. Барабой В. А., Фіалек В. Ю.—В сб.: Труды конфер. «Действие иониз. радиации на белки и нукл. кислоты», К., 1969.
3. Беленков Н. Ю.—Физиол. журнал СССР, 1948, 34, 2, 223.
4. Березовский Б. С., Заиконникова И. В.—Мед. радиол., 1964, 9, 12, 50.
5. Булацкий Н. П.—Радиобиол., 1966, 6, 1, 27.
6. Кузнецова Н. Е.—Радиобиол., 1963, 3, 6, 827.
7. Кулинский В. И.—Сб.: Вопр. exper. и клин. радиол., «Наукова думка», 1965, 91.
8. Маслова А. Ф.—Мед. радиол., 1959, 4, 4, 36.
9. Мозжухин А. С., Певзнер Д. Л.—Бюлл. exper. биол. мед., 1959, 48, 9, 34.
10. Науменко Е. В., Нестеренко Л. Н., Недбаева Н. Д., Ильченко Р. Ю.—Бюлл. exper. биол. мед., 1966, 61, 3, 64.
11. Пономаренко Н. Е.—Мед. радиол., 1956, 1, 5, 13.
12. Семенов Л. Ф.—Профилактика острой лучевой болезни в exper., Л., «Медицина», 1967, 216.
13. Смирнов К. В., Шатерников В. А.—Докл. АН СССР, 1960, 131, 4, 961.
14. Сперанская Е. Н.—Докл. АН СССР, 1950, 71, 2, 411.
15. Шастин Р. Н., Пономаренко Л. Н.—В сб.: Вопр. энзимопатол., М., «Медицина», 1964, 39.
16. Benson W. M.—Proc. soc. exp. biol. med., 1948, 68, 2, 528.
17. Бетц Э.—Материалы к изучению эндокринного синдрома, вызванного общим облучением организма, М., Медгиз, 1961, 312.
18. Franzen F., Gross H., Thielecke H.—Strahlentherapie, 1963, 120, 4, 598; 1964, 124, 2, 270.
19. Goodgal Mc. C., Long H.—Amer. J. Physiol., 1959, 197, 6, 1265.
20. Gray J., Moulden E., Tew J., Jensen H.—Proc. soc. exp. biol. med., 1952, 79, 3, 384.
21. Hestrin J.—J. Biol. Chem., 1949, 180, 249.
22. Sabine J.—Amer. J. Physiol., 1956, 187, 2, 275.