

УДК 612.26:591.144.14]:577.16+614.876

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ АНТИОКСИДАНТНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНОВ И ПИЩИ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ РАДИОНУКЛИДАМИ $^{137}\text{Cs}$

Коваль А. Н., Сергеенко С. М., Грицук А. И.

Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь

Кислород, необходимый для жизнедеятельности аэробных организмов, расходуется на митохондриальные, микросомальные и пероксидные процессы. Доминирует при этом митохондриальное окисление (до 85 %), играющее важную роль в энергообразовании. Этот процесс является высокорегулируемым, так как избыточное потребление нутриентов и, соответственно, увеличение интенсивности митохондриального дыхания может сопровождаться усилением образования активных форм кислорода в качестве побочного продукта. Таким регулятором является эффект разобщения окислительного фосфорилирования при увеличении доли жирных кислот в рационе, предотвращающим генерацию свободных радикалов митохондриями и реализующимся через разобщающие белки (uncoupling proteins, UCP). Разобщение окислительного фосфорилирования сопровождается увеличением потребления кислорода тканями [0], что можно зарегистрировать на уровне макроорганизма, исследуя газообмен. Добавление антиоксидантных витаминов уменьшает долю пероксидного окисления.

Селезенка является гомеостатическим органом, регулирующим иммунитет и кроветворение. Учитывая, что ионизирующие излучения влияют на указанные функции, представляет интерес исследовать изменения тканевого дыхания этого органа при воздействии инкорпорированного  $^{137}\text{Cs}$ , а также роль антиоксидантных витаминов.

### *Цель исследования*

Изучение изменения показателей газообмена, а также митохондриального дыхания селезенки при добавлении в рацион белых крыс растительного масла, антиоксидантного комплекса витаминов и пищи, загрязненной радионуклидами  $^{137}\text{Cs}$ .

### *Материалы и методы исследования*

В работе использовались беспородные белые крысы массой 220–250 г. В эксперименте учтены рекомендации Рабочей группы Федерации европейского сообщества по науке о лабораторных животных [2]. Животные были распределены на контрольную и четыре экспериментальные группы, в рацион которых добавляли следующие компоненты (таблица 1).

Таблица 1 — Формирование групп животных

Группы животных	Условия заорма животных
Контроль	Стандартный рацион вивария
Группа «АОК»	Витамины (разовая доза): С – 0,2; А – 0,002; Е – 0,08 мг/г веса крысы
Группа «Масло»	Растительное подсолнечное масло (0,002 мл/г веса крысы)
Группа 1	1,3 г мяса кабана/сут; на 5, 7, 9, сутки АОК (АСs = 56256 Бк/кг, D = 9600 мкГр)
Группа 2	0,1 г мяса кабана/сут; на 5, 7, 9, сутки АОК (АСs = 1256 Бк/кг, D = 21 мкГр)

*Примечание:* АСs — конечная удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в тушках крыс; D — рассчитанная поглощенная доза от  $\beta$ -излучения инкорпорированного  $^{137}\text{C}$

График введения витаминов, масла и  $^{137}\text{Cs}$  показан в таблице 2. При этом жирораство римые витамины вводились в виде раствора в растительном масле, витамин С — в виде водного раствора [3]. Животные 1 и 2-й групп получали мясо дикого кабана с удельной активностью по  $^{137}\text{Cs}$  600 Бк/г. Антиоксидантный комплекс витаминов вводился перорально с помощью пищеводного металлического зонда. Забой животных путем декапитации производили на 10-е сут эксперимента.

Таблица 2 — График закорма экспериментальных животных

Группы животных	Дни эксперимента									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
«АОК» и «Масло»	АОК (масло)	—	АОК (масло)	-	АОК (масло)	—	АОК (масло)	—	АОК (масло)	
1 и 2	137Cs	137Cs	137Cs	137Cs	137Cs + АОК	137Cs	137Cs + АОК	137Cs	137Cs + АОК	Забой

Для оценки митохондриального окисления после декапитации животных, извлеченную селезенку немедленно освобождали от соединительнотканых элементов, промывали в охлажденном физиологическом растворе и пропускали через плунжер с диаметром отверстий 0,5 мм. Полученные тканевые препараты помещались в среду Хенкса, затем в термостатируемую полярографическую ячейку объемом 2 мл при +25 °С, где с помощью закрытого электрода Кларка, подключенного к полярографу ПУ-1 (Беларусь), фиксировали потребление кислорода тканевым препаратом в нмоль O<sub>2</sub>×мин/мг белка. С момента забоя животного до начала записи полярограммы проходило не более 3–5 минут. Исследовали следующие показатели митохондриального окисления: скорости дыхания, выраженные в нмоль O<sub>2</sub>/(мин×мг белка): V<sub>энд</sub> — на эндогенных субстратах, V<sub>як</sub> — при добавлении сукцината (янтарной кислоты) и V<sub>днф</sub> — при внесении 2,4-ДНФ, а также рассчитывали показатели CД<sub>як</sub> = V<sub>як</sub>/V<sub>энд</sub> и CД<sub>днф</sub> = V<sub>днф</sub>/V<sub>як</sub>. Содержание белка в тканевых препаратах определяли биуретовым методом.

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью программы GraphPad Prism v. 5.00, с использованием параметрических (однофакторный дисперсионный анализ [ANOVA] и тесты множественных сравнений Бонферрони и Даннета) и непараметрических (Манна-Уитни) критериев в зависимости от результатов теста на нормальное распределение экспериментальных данных (тесты Колмогорова-Смирнова, Д'Агостино и Пирсона, Шапиро-Уилка) [5].

Методы прижизненного изучения газообмена и полученные результаты были опубликованы ранее [4]. При этом в экспериментальных группах отмечался рост потребления кислорода и выделения углекислого газа в группе «Масло» по сравнению с контрольной группой.

#### **Результаты и их обсуждение**

Результаты полярографических исследований приведены в таблицах 3–4. Нормальное распределение данных было характерно для V<sub>днф</sub>, данные приведены в виде «среднее ± ошибка среднего», применялись параметрические критерии оценки значимости различий. Остальные данные, распределение которых отличается от нормального, представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25–75 %).

Таблица 3 — Скорость потребления кислорода селезенкой белых крыс на эндогенных субстратах

Показатели	Контроль	Масло	АОК	Группа 1	Группа 2
V <sub>энд</sub> n= 16÷32	4,71 (4,27-6,56)	5,50 (4,39-7,09)	5,32 (4,94-6,49)*	6,31 (5,20-7,17)*	5,85 (5,27-7,53)*
V <sub>як</sub> n= 4÷8	5,82 (5,52-10,6)	8,37 (5,55-12,1)	8,10 (6,37-9,22)	9,93 (7,86-10,6)	6,58 (5,71-9,19)
CД <sub>як</sub> n= 4÷8	1,43 (1,30-1,54)	1,56 (1,40-1,91)	1,54 (1,35-1,71)	1,60 (1,55-1,66)*	1,18 (1,11-1,33)*
CД <sub>днф</sub> n= 12÷16	1,10 (0,93-1,25)	1,13 (1,05-1,23)	1,21 (1,12-1,24)	1,26 (1,13-1,28)*	1,06 (1,01-1,16)

Примечание: уровень значимости различий по отношению к контрольной группе: \* p < 0,05, \*\* p < 0,01.

Таблица 4 — Скорость потребления кислорода селезенкой белых крыс на эндогенных субстратах при внесении 2,4-ДНФ (n= 8÷16)

Показатели	Контроль	Масло	АОК	Группа 1	Группа 2
V <sub>днф</sub>	6,47 ± 0,47	7,60 ± 0,65	8,07 ± 0,33	9,16 ± 0,42**	7,19 ± 0,38

В результате проведенных исследований параметров митохондриального окисления селезенки белых крыс были установлены следующие факты:

1. Увеличение скорости потребления кислорода на эндогенных субстратах отмечено во всех группах, при этом имеются статистически значимые различия в группах АОК, 1 и 2.

2. Увеличение скорости потребления кислорода после внесения янтарной кислоты статистически незначимо.

3. Повышение скорости потребления кислорода после внесения 2,4-ДНФ статистически значимо только в группе 1.

4. Отмечены статистически значимые рост показателя  $СД_{як}$  для группы 1 и снижение его для группы 2, в то время как в других экспериментальных группах наблюдалась тенденция к увеличению этого показателя.

5. Показатель  $СД_{днф}$  статистически значимо повышался только в группе 1.

### **Выводы**

1. При введении в рацион животных растительного масла и антиоксидантного комплекса отмечено возрастание скорости дыхания на эндогенных субстратах во всех экспериментальных группах животных, статистически значимое — в группах «АОК», 1 и 2.

2. В группе 1 наблюдается истощение пула сукцината, регистрируемое по снижению показателя  $СД_{як}$ , что можно объяснить повреждающим действием ионизирующих излучений от инкорпорированного  $^{137}Cs$  на митохондрии селезенки. Другое объяснение — уменьшение количества предшественника сукцината — сукцинил-КоА или  $\alpha$ -кетоглутарата, используемого для образования глутамата, идущего на синтез глутатиона либо на шунтирование цикла Кребса по типу цикла Робертса-Стольникова. Возможно, это механизм антиоксидантной защиты селезенки при инкорпорации  $^{137}Cs$  и одновременном приеме антиоксидантных витаминов.

3. Статистически значимое повышение показателя  $СД_{днф}$  для группы 1 укладывается в рамки предположения о коррекции антиоксидантного статуса селезенки. В остальных группах наблюдаемая тенденция к снижению этого показателя может указывать на возможное разобщение дыхания и фосфорилирования вследствие повышенного поступления с пищей жирных кислот в виде растительного масла и действия разобщающих белков УСР в митохондриальной дыхательной цепи.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Мрочек, А.Г. Цезий, митохондрии и проблемы кардиологии / А. Г. Мрочек, А. И. Грицук // Весці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. Сер. медыцынскіх навук. — 2008, № 4. — С. 63–75.
2. Копаладзе, Р. А. Методы эвтаназии экспериментальных животных – этика, эстетика, безопасность персонала // Успехи физиол. наук. — 2000. — Т. 31, № 3. — С. 79–90.
3. Влияние витаминов А, Е, С на дыхательную активность лимфоцитов селезенки / А.И. Грицук [и др.] // Вопросы питания. — Т. 77, № 1. — 2008. — С. 26–29.
4. Коваль, А.Н. Потребление кислорода и показатели тканевого дыхания миокарда белых крыс при поступлении антиоксидантного комплекса витаминов / А. Н. Коваль, С. М. Сергеенко, А. И. Грицук // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Республиканской науч.-практ. конф. и 20-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, Гомель, 24-25 февраля 2011 г.: в 4 т. / сост. А. Н. Лызинов [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2011. — Т. 2. — С. 84–87.
5. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. — М., 2002. — 312 с.

**УДК 615.8**

## **САЛЕРНСКАЯ ШКОЛА И «САЛЕРНСКИЙ КОДЕКС ЗДОРОВЬЯ»**

**Ковальчук П. Н., Ковальчук Л. П.**

**Учреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**Гомель, Республика Беларусь**

### **Введение**

Первое упоминание о Салерно в хрониках относится к 197 г. до нашей эры. Салерно долгое время был римской колонией и находился на пересечении многих торговых путей Востока. В эпоху ранней империи он был известен как место отдыха и, возмож-