

УДК 619:612.2:619:615.9:636.2

Слівінська Л.Г., канд.вет.наук, доцент ©

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

СТАН СИСТЕМИ ЕРИТРОНУ ТА ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ КОРІВ ЗА ДІЇ РАДІАЦІЇ

У 61,1 % корів за дії радіації анемія гіпохромна, 66,7 % – макроцитарна. Популяційний склад еритроцитів характеризувався зменшенням “зрілих” та збільшенням “молодих” і “старих” фракцій. Виявлено посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів, що характеризується підвищеним умістом проміжних та кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнових кон’югатів, гідроперексидів ліпідів, малонового діальдегіду). В процесі дослідження встановлено, що у корів за дії радіації в еритроцитах підвищується активність ферментів антиоксидантної системи СОД та ГПО.

Ключові слова: корови, кров, популяційний склад еритроцитів, кислотна резистентність еритроцитів, пероксидне окиснення ліпідів, дієнові кон’югати, гідроперексиди, малоновий діальдегід, глутатіонпероксидаза еритроцитів, супероксиддисмутаза.

Вступ. Одним із тяжких наслідків аварії на Чорнобильській АЕС стало радіоактивне забруднення значної території України, у тому числі сільськогосподарських угідь. Масштаби радіоактивного зараження дуже великі – 46 відсотків території України мають забрудненість вищу від 37 кБк/м² (1 Кі/км²) [1,2]. За цей час внаслідок зміни напрямку вітру утворилося кілька радіоактивних слідів, що покривали великі території, зокрема Рівненську область, яка зазнала радіаційного впливу і належить до західної біогеохімічної зони України. Згідно постанови Кабінету Міністрів України № 106 від 23 липня 1991 року 5 населених пунктів Дубровицького району Рівненської області належить до третьої зони радіоактивного забруднення.

Необхідно відмітити, що в умовах зони радіоактивного забруднення проведено ряд досліджень по вивченню впливу мікроелементів Со, І, Си, Мп, Zn та інших на продуктивність, резистентність, мінеральний обмін і забрудненість продуктів тваринництва радіонуклідами [3–6]. Питання вивчення впливу окремих мікроелементів, зокрема Со, Си і Fe, на еритроцитопоез корів у конкретних умовах забрудненої зони вивчені недостатньо.

Вартим уваги з точки зору дослідження функцій кісткового мозку є вивчення віку еритроцитів. З віком клітин настає збіднення їх ліпопротеїнами, знижується сульфгідрильна й пероксидазна активність протоплазми, частково змінюється вміст гістидину та ліпідів. У таких клітинах зростає інтенсивність пероксидації ліпідів, що призводить до розвитку деструктивних процесів у плазматичних мембранах і порушення транспорту катіонів та амінокислот [7].

Мета роботи – вивчити стан системи еритроноу та пер оксидного окиснення ліпідів у крові корів за дії радіації.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводились на сухостійних коровах, які народились та постійно утримувались у ПСП “Промінь” Дубровицького району Рівненської області. Показники порівнювали з такими у корів ПСП “Башарівське” с. Башарівка Радивилівського району Рівненської області, яке знаходиться в південній частині Рівненської області.

Корів досліджували клінічно та проводили лабораторний аналіз крові. У крові підраховували кількість еритроцитів, величину гематокриту та вміст гемоглобіну [8]. На основі цих даних розраховували середній об’єм еритроцита, вміст гемоглобіну в одному еритроциті (ВГЕ). Кислотну резистентність еритроцитів з наступною побудовою еритрограм вивчали за І.І.Гітельзоном та І.А.Терськовим [9], у модифікації В.П. Москаленка [10], популяційний склад еритроцитів у градієнті густини сахарози – за І.Сизовою зі співав. [11].

У плазмі крові визначали концентрацію малонового діальдегіду, гідропероксидів ліпідів, дієнових кон’югатів [12], активність СОД [13] та ГПО [14].

Результати дослідження. Грунти області характеризуються низьким вмістом рухомих форм йоду, купруму, цинку, кобальту [15]. Наші дослідження свідчать, що в ґрунтах району мало купруму і кобальту: їх вміст становив 1,96 та 1,40 мг/кг відповідно.

При проведенні аналізу раціону нами встановлено, що вміст сухої речовини та клітковини перевищував потреби тільних корів на 23,9 і 64,2 % відповідно. Вміст перетравного протеїну в раціоні корів становив 1035 г, за потреби 1090, співвідношення цукор: перетравний протеїн – 0,82:1 (0,9:1 за нормами), проте забезпечення ними у раціоні було лише на 86,4 та 95,04 % до потреби відповідно.

Аналізуючи раціон корів ПСП “Промінь” Дубровицького району Рівненської області у зимовий період, встановлено дефіцит мікроелементів, зокрема купруму і кобальту, забезпеченість якими становила 82,3 і 49,9 %, а концентрація їх 1 кг сухої речовини – 5,7 і 0,24 мг (за нормами 8–10 і 0,55–0,80 мг) відповідно.

Таким чином, тварини, які народилися і утримувалися в господарстві, зазнавали постійного як зовнішнього, так і внутрішнього радіаційного опромінення, яке доповнювалося негативним впливом дефіциту Со, Си, цинку, йоду, перетравного протеїну, крохмалю, цукру за значного надлишку феруму (291 мг/кг сухої речовини).

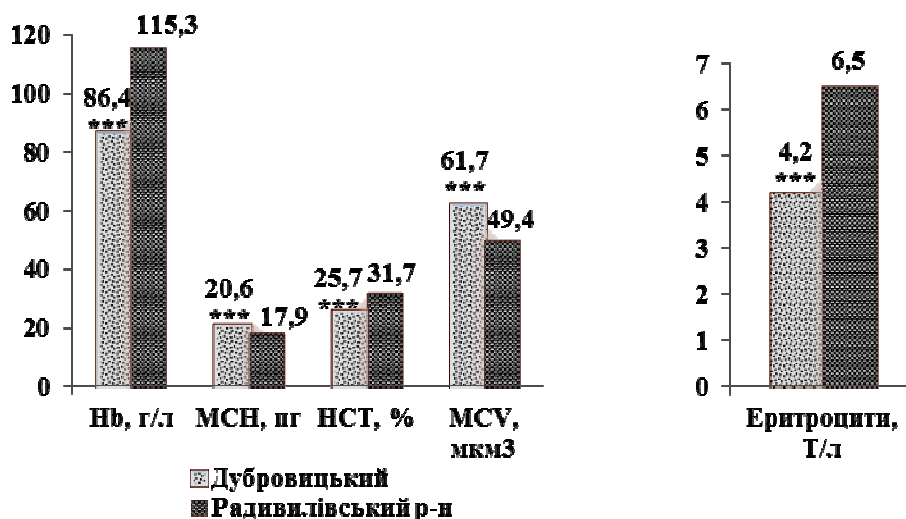


Рис. 1. Показники гемопоезу корів, вирощених на території забрудненій радіонуклідами

Примітка. Порівняно з коровами умовно чистої зони *** – $p < 0,001$.

Аналізуючи отримані результати дослідження крові, необхідно відмітити, що у корів зони радіаційного забруднення простежується негативний вплив низьких доз іонізуючого випромінювання на організм, оскільки спостерігається зменшення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, гематокритної величини. Олігохромемія встановлена у 65 % корів, олігоцитемія – у 90 %, поєднання олігохромемії та олігоцитемії – у 65%. Анемія у 66,1 % корів гіперхромна, у 66,7 % – макроцитарна, у решти – нормохромна і нормоцитарна.

Важливою причиною розвитку макроцитарної гіперхромної анемії у корів є не тільки вплив низьких доз іонізуючого випромінювання на гемопоетичну систему, а й, очевидно, дефіцит кобальту, що характерно для гіпопластичної анемії.

У корів, що знаходилися в зоні радіоактивного забруднення, частка “молодих” еритроцитів коливалася в межах 42,7–53,6 і становила в середньому $48,1 \pm 1,15$ %, тоді як у корів контрольної групи – $44,1 \pm 0,35$ % ($p < 0,01$), коливаючись від 42,6 до 45,8 % (рис. 2).

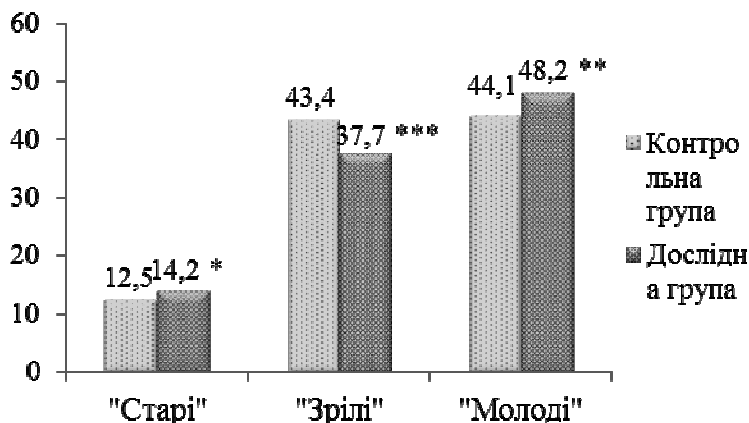


Рис.2. Показники популяційного складу еритроцитів у крові корів, вирощених на території забрудненій радіонуклідами, %

Примітка. Порівняно з коровами умовно чистої зони * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Очевидно, що за тривалої дії радіації відбувається подразнення кісткового мозку, яке спричиняє надходження в кров “молодих” клітин, що спрямовано на ліквідацію кисневого голодування.

Частка “старих” еритроцитів становила в середньому $14,2 \pm 0,51$ % і була вірогідно ($p < 0,05$) більшою від корів умовно чистої зони ($12,5 \pm 0,33$ %). Оскільки “старі” форми еритроцитів беруть активну участь у процесах оксигенації, то, ймовірно, що організм намагається компенсувати стан гіпоксії, залишаючи ці клітини в кров’яному руслі.

Фракція “зрілих” еритроцитів у корів ПСП “Промінь” становила в середньому $37,7 \pm 0,76$ % і була вірогідно ($p < 0,001$) менша, ніж у корів контрольної групи ($43,4 \pm 0,40$ %). Популяція “зрілих” еритроцитів є функціонально найактивнішою, проте тривала дія малих доз радіації призводить до їх старіння. Вихід піку на еритрограмі (рис.3) дослідних тварин починається з 4-ї хвилини, що на 0,5 хв пізніше порівняно з контролем. Висота піку (гемолізованих клітин) була на 11,2 % меншою, ніж у корів контрольної групи (17,0 % проти 28,2 %).

Максимального гемолізу еритроцити дослідних корів зазнали на 5,5 хв, тоді як у контрольних – на 4,5 хв. Повне руйнування еритроцитів відмічали відповідно на 9- та 7-й хвилинах. Отже, крива кислотної резистентності характеризується більш тривалою лівою частиною, що є показником більшої частки “старих” еритроцитів у крові корів, розтягнутою (тривалішою) правою частиною, що характеризує збільшення частки більш стійких до гемолізу “молодих” еритроцитів.

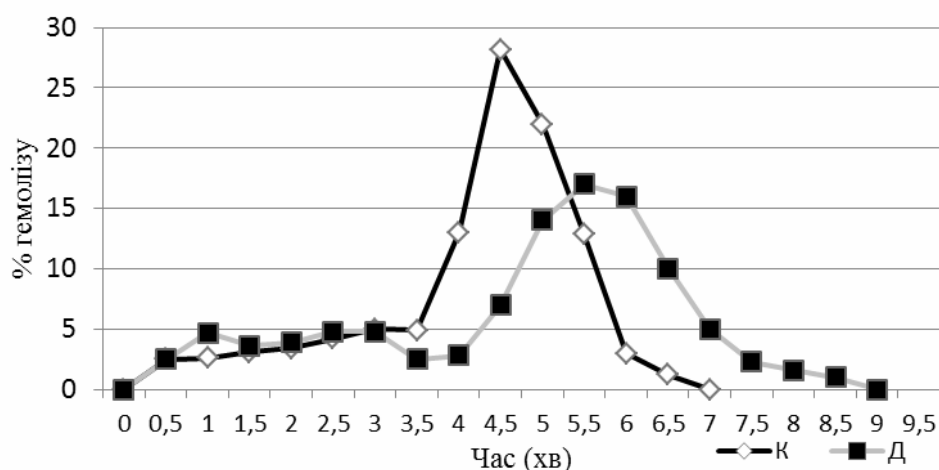


Рис. 3. Кислотна резистентність еритроцитів корів у зоні радіоактивного забруднення

Отже, на організм корів, що вирощені та утримуються в ПСП “Промінь” Дубровицького району Рівненської області, землі якого забруднені радіонуклідами, постійно впливають фактори, які погіршують функціональний стан систем, чутливих до негативної дії малих доз радіації, зокрема гемопоетичної. Радіаційне забруднення спричиняє порушення гемопоезу і розвиток анемії у корів, яка характеризується олігоцитемією, олігохромемією. В основному анемія гіперхромна (61,1 %) або нормохромна (38,9 %) та макроцитарна (66,7 %). У корів Дубровицького району еритрограма проявляється більш тривалою лівою частиною, що вказує на значну кількість “старих” еритроцитів, і тривалішою правою, що характеризує підвищену кількість “молодих” еритроцитів.

Порівняння індивідуальних показників еритроцитопоезу у корів дослідного господарства підтверджує загальну закономірність: гіперхромія у переважній більшості корів поєднується з макроцитозом.

Вплив нестачі біотичних мікроелементів на кровотворення та інші біологічні реакції зумовлюється не лише їх абсолютними кількостями, а й їхньою концентрацією в 1 кг сухої речовини раціону та надлишком антагоністів. За нестачі купруму повинна була б розвиватися переважно гіпохромна анемія, проте в даному господарстві – анемія гіперхромна. Вона розвивається на фоні переважаючої олігоцитемії, основною причиною якої є, очевидно, виражений дефіцит кобальту в раціоні, забезпеченість яким становить 49,9 %. За нестачі кобальту знижується синтез ДНК у кровотворних клітинах, зокрема в еритро- та нормобластах, затримується їх ділення і дозрівання, тобто розвивається макроцитарна анемія [16,17].

Отже, нами встановлено, що причиною розвитку анемії у корів за дії радіації був не тільки вплив низьких доз іонізуючого випромінювання на

гемопоетичну систему, а й недостатній уміст кобальту і купруму в раціоні та низька концентрація їх в 1 кг сухої речовини.

В основі механізму дії радіонуклідів на живі організми лежить явище диспропорції між кількістю поглиненої енергії іонізуючого випромінювання і величиною викликаного нею біологічного ефекту. Ця диспропорція спричиняє утворення вільних радикалів, які негативно впливають на живі організми [7, 18, 19].

Одне з провідних місць у забезпеченні процесів функціонування живого організму належить системі антиоксидантного захисту, що здійснює контроль над рівнем вільних радикалів, які утворюються за участі активних форм кисню. Вільнорадикальні процеси відіграють значну роль у функціонуванні біологічних систем за норми. Так, пероксид гідрогену бере участь у складному комплексі реакцій регулювання клітинного метаболізму, а незначне збільшення концентрації O_2 , H_2O_2 може стимулювати проліферацію клітин та інші клітинні функції. Активація пероксидних процесів відіграє провідну роль в ушкодженні клітин, а накопичення їх продуктів і високотоксичних супероксидних аніонів призводить до значних біохімічних та біофізичних порушень в організмі, що посилює негативний перебіг патологічного процесу [20–23].

Запобігання негативної дії вільних радикалів і пероксидних сполук забезпечує складна багатоступенева система антиоксидантного захисту (АОЗ). АОЗ – це комплекс не ферментативних антиоксидантів і спеціалізованих ферментів-антиоксидантів [24, 25]. Особливе значення серед ферментних антиоксидантів має супероксиддисмутаза (СОД) та глутатіонпероксидаза (ГПО). СОД є однією з перших ланок у механізмах захисту клітини від шкідливої дії активних форм кисню, знешкоджуючи супероксидний радикал, який є стартовим у ряді вільно радикальних перетворень. ГПО відновлюють пероксид гідрогену та гідропероксида ліпідів [26, 28].

Враховуючи вище викладене, вивчення радіоекології сільськогосподарських тварин являється необхідним. На сьогодні остаточно доведено, що за умов дії радіації відбувається активізація процесу взаємодії O_2 з H_2O_2 з утворенням високореактивного гідроксильного радикалу OH , який є потужним активатором пероксидного окиснення ліпідів у клітинах [29].

Відомо, що зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів у тварин є важливим механізмом за радіаційного ураження. Більше того, одним із пускових механізмів біологічної дії іонізуючого випромінювання є активація системи окиснення ліпідів, яка відіграє істотну роль у подальших проявах променевого ураження. За дії радіації в низьких дозах можливі порушення у збалансованості АОС, що призводить до неконтрольованого перебігу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ).

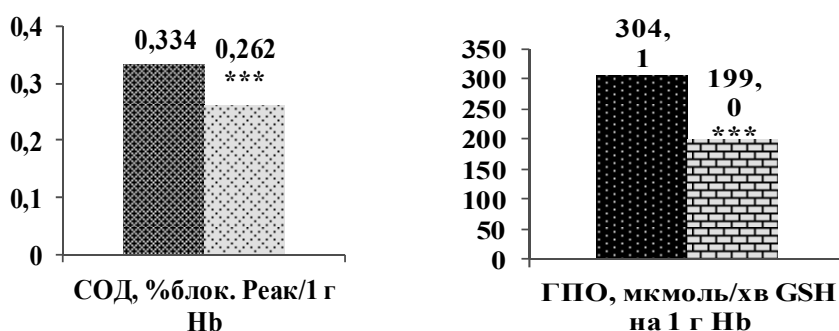
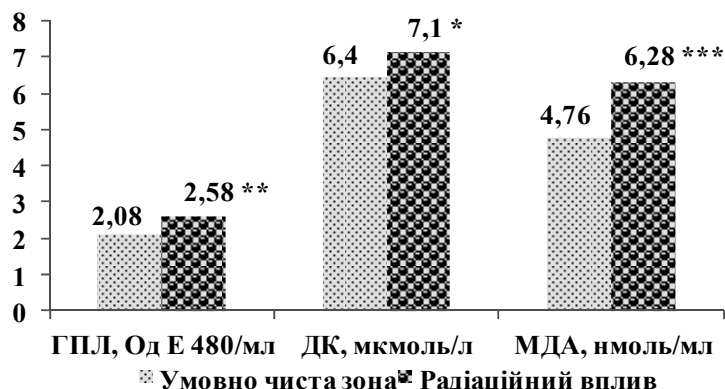


Рис.4. Перебіг ПОЛ та стан системи АОЗ у корів рівненської області за дії радіації та умовно чистої зони

Примітка. Порівняно з коровами умовно чистої зони * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Нами встановлено, що уміст ГПЛ у сироватці крові корів умовно чистої зони становив у середньому $2,08 \pm 0,084$ ОД E_{480} /мл, а в корів за радіаційного впливу – на 24,0 % ($p < 0,01$) більший і був у межах 1,56 – 3,90 ОД E_{480} /мл (рис. 4).

Уміст ДК у корів за радіаційного впливу становив $7,10 \pm 0,166$ мкмоль/л (lim 5,15–8,90), що на 10,9 % ($p < 0,05$) більше, порівняно з коровами умовно чистої зони, в яких середнє значення показника становило $6,40 \pm 0,202$ мкмоль/л.

Концентрація МДА в сироватці крові корів становила $4,76 \pm 0,238$ нмоль/мл (2,43–6,42), а за дії радіації – $6,28 \pm 0,169$ нмоль/мл – на 31,9 % більше ($p < 0,001$).

Концентрація вільних радикалів у клітинах організму залежить від кооперативного функціонування деяких ферментів, а саме супероксиддисмутази (СОД), яка каталізує дисмутацію супероксидних аніон радикалів у пероксид водню, та глутатіонпероксидази (ГПО).

Нами встановлено низьку активність СОД у корів за радіаційного впливу $0,262 \pm 0,010$ % блок. реак. на 1 г Нв (лім 0,178 – 0,382), що на 21,6 % ($p < 0,001$) менше, ніж у корів умовно чистої зони ($0,334 \pm 0,016$ % блок. реак. на 1 г Нв). Така реакція СОД на дію низьких доз радіації може бути пов'язана з ушкодженням молекули ферменту активними продуктами ПОЛ.

Суттєва роль у забезпеченні антиоксидантного захисту належить ГПО – селеновмісному білку, що каталізує реакцію відновлення гідропероксидів за допомогою відновленого глутатіону. Середнє значення активності ГПО в корів умовно чистої зони становило $304,1 \pm 15,97$ мкмоль/хв GSH на 1 г Нв, що було на 52,8 % ($p < 0,001$) більшим, порівняно з коровами, які знаходилися в зоні радіаційного впливу. Активність ферменту в них коливалася в межах від 152,2 до 258,6, а середнє значення показника становило $199,0 \pm 4,10$ мкмоль/хв GSH на 1 г Нв.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що тривала дія малих доз радіації на організм корів призводить до суттєвих відхилень системи АОЗ, що має негативний вплив на функції цілісного організму, який постійно зазнає тривалого іонізуючого впливу.

Висновки. У 35,7 % корів відмічали анемічність кон'юнктиви, у 65 – олігохромемію і 90 % – олігоцитемію. Анемія у 61,1 % корів гіперхромна, 66,7 % – макроцитарна.

Причиною розвитку анемії у корів за дії радіації був не тільки вплив низьких доз іонізуючого випромінювання на гемопоетичну систему, а й недостатній уміст кобальту і купруму в раціоні та низька концентрація їх в 1 кг сухої речовини.

Популяційний склад еритроцитів характеризується зменшенням “зрілих” та збільшенням “молодих” і “старих” фракцій.

У корів за дії радіації стимулюються процеси ПОЛ, збільшується уміст їх продуктів (гідропероксидів, малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів), система АОЗ реагує зниженням ферментативної активності (СОД і ГПО).

Література

1. Пристер Б.С. Последствия аварии на Чернобыльской АЭС для сельского хозяйства Украины / Б.С. Пристер. – К.: Изд-во ЦПЕР АПК, 1999. – 104 с.
2. 20 років Чорнобильської катастрофи. Погляд у майбутнє: Національна доповідь України. – К.: Атіка, 2006. – 224 с.
3. Козенко О.В. Фізіологічний статус великої рогатої худоби за умов впливу абіотичних чинників середовища: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня д-ра с.-г. наук: спец. 03.00.13 “Фізіологія людини і тварини” 16.00.06 “Гігієна тварин та ветеринарна санітарія” / О.В.Козенко – Львів. – 2004. – 41 с.
4. Черный Н.В. Санитарно-гигиенические аспекты решения экологических проблем в животноводстве / Н.В. Черный, Н.И. Карташев // Проблемы сельскохозяйственной радиологии – десять лет спустя после аварии на Чернобыльской АЭС. – Житомир, 1996. – С.42–43.
5. Біденко В.М. Вплив різних рівнів мікроелементів кобальту, йоду, міді на продуктивність, якість продукції та деякі показники резистентності організму

корів в умовах радіоактивного забруднення угідь: автореф. дис.на здобуття наукового ступеня канд. с.-г. наук: 16.00.08 / Б.М. Біденко. – Житомир, 1996. – 19 с.

6.Соболев А.С. Використання мікроелементів у тваринництві Поліської зони України, потерпілої внаслідок аварії ЧАЕС: Методичний посібник [з організації проведення науково-дослідних робіт в галузі с.-г. радіології] / А.С. Соболев, Н.П. Асташева, Б.С. Пристер. – К.: Урожай, 1992. – 124 с.

7.Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация у животных / С.С. Абрамов, А.А. Белко, А.А. Мацинович [и др.] – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 208 с.

8.Методи лабораторної клінічної діагностики: хвороб тварин / [В.І.Левченко, В.І. Головаха, І.П. Кондрахін та ін.]; за ред. В.І.Левченка. – К.: Аграрнаосвіта, 2010. – 437 с.

9.Терсков И.А. Метод химических (кислотных) эритрограмм / И.А. Терсков, И.И. Гительзон // Биофизика. – 1960. – №2. – С. 259–263.

10.Москаленко В.П. Структурно-функціональні властивості еритроцитів у здорових і хворих на анемію телят та їх зміни при лікуванні: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.01 “Діагностика і терапія тварин” / В.П. Москаленко. – Біла Церква, 1999. – 18 с.

11.Сизова И.А. Безаппаратурный способ фракционирования красных клеток крови в градиенте плотности сахарозы / И.А. Сизова, В.В. Каменская, В.И. Феденков // Изв. Сиб. отд. АН СССР. – 1980. – Вып. 3, №15. – С. 119–122.

12.Корабейникова С.Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / С.Н. Корабейникова // Лаб.дело, 1989. – №7. – С.8–9.

13.Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В.В. Мирончик // Авторское свидетельство СССР №1084681А.

14.Стальная И.Д. В кн.. “Современные методы в биохии”. Под ред. В.И.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С.63–64.

15.Мікроелементози сільськогосподарських тварин / М.О. Судаков, В.І. Береза, І.Г. Погурський [та ін.]; За ред. М.О. Судакова. – 2-е вид. – К.: Урожай, 1991. – 144 с.

16.Jaskowski J.M. Diagnosis of deficiencies of copper, selenium, cobalt and Manganese in cattle and sheep / J.M. Jaskowski, A. Lachowski, M. Gehrke // Medycyna Weterynaryjna. – 1993. – Vol. 49, №7. – P. 306–308.

17.Судаков М. Гіпокобальтоз: діагностика і профілактика в біогеохімічних провінціях України / М. Судаков, В. Береза, І. Погурський // Вет. медицина України. – 2000. – №8. – С. 36–37.

18.Кармолиев Р.Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных / Р.Х. Кармолиев // Ветеринария. – 2006. – №7. – С. 36 – 40.

19.Борисевич В. Вільні радикали і перекисне окиснення ліпідів у патогенезі хвороб тварин / В. Борисевич, Б. Борисевич, В.Борисевич (молодший) // Вет. медицина України. – 2006. – №1. – С. 15–17.

20. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL / H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jurgens // *Free Radic. Biol. Med.* – 1992. – Vol. 13, №4. – P. 341–390.

21. Антоняк Г.Л. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г.Л. Антоняк, Н.О. Бабич, Л.І. Сологуб, В.В. Снітинський // *Біологія тварин.* – 2000. – Т.2, №2. – С. 34–43.

22. Beckman K. The free radical theory of aging matures / K. Beckman, B.N. Ames // *Physiol. Rev.* – 1998. – Vol. 78, № 2. – P. 547–581.

23. Pre J. La lipoperoxidation / J. Pre // *Patol. Biol.* – 1991. – Vol. 39. – №7. – P. 716 – 736.

24. Контрощикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии: Учеб. пособие. – Н.Новгород, 2000. – 24 с.

25. Слипанюк О.В. Перекисне окиснення ліпідів і антиоксидантний статус у крові корів у останній місяць тільності / О.В. Слипанюк, Г.Л. Антоняк, Л.І. Сологуб // *Біологія тварин.* – Львів, 2000. – Т.2, №2. – С. 83–86.

26. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function / W. Droge // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82, N 1. – P. 47–95.

27. Ferritin: a cytoprotective antioxidant strategy of endothelium / G. Balla, H.S. Jacob, J.M. Balla [et. al.] // *J. Biol. Chem.* – 1992. – V.25. – P. 18048–18053.

28. Andrzejak R. Free radical and their importance in medicine / R. Andrzejak, J.H. Goch, M. Jurga // *Post. Hig. Med. Dosw.* – 1995. – Vol. 49, №4. – P. 531–549.

29. Stocks J. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. / J. Stocks, T. Dormondy // *Br. J. Haematol.* – 1971. – V.20, N 1, – P. 95–111.

Summary

Slivinska L.G.

Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj

SYSTEM STATE OF ERYTHRON AND LIPID PEROXIDATION IN COW BLOOD UNDER THE INFLUENCE OF RADIATION

In 61,1 per cent of cows under the influence of radiation was observed anemia hypochromic, 66,7 per cent – macrocytoric. Population content of erythrocytes was characterized by the decrease of “adult” and increase of “young” and “old” fraction. The activation of lipid peroxidation was found out and was characterized by the rise of intermediate and final products content (act new conjugates, lipids, hydroperoxide, malonic dialdehyde). The research revealed that under the influence of radiation the activity of antioxidant system enzymes (superoxid dismutase, glutation peroxidase) in erythrocytes of cows increases

Key words: cows, covering, population, content of erythrocytes, oxidic resistance, active conjugates, hydroperoxidates, malonic dialdehyde, glutation peroxidase of erythrocytes, superoxid dismutase.

Стаття надійшла до редакції 13.04.2011