

Є.М. Горбань,
Н.В. Топольнікова

Інститут геронтології
АМН України,
м. Київ

Вплив препарату спіруліни на ендокринний статус та систему перекисного окиснення ліпідів опроміненних щурів

Influence of Spirulina on the endocrine status and lipid peroxidation processes in irradiated rats

Цель работы: Исследовать влияние препарата сине-зелёной водоросли спирулины на эндокринный статус и процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ряде органов крыс через 1 месяц после однократного рентгеновского облучения (R-облучения) в сублетальной дозе.

Материалы и методы: Эксперименты проведены на 30 взрослых (8 мес.) крысах-самцах линии Вистар: I группа животных — контроль; II — животные, взятые в острый опыт через 1 месяц после однократного облучения в дозе 2 Гр; III — крысы, которым скармливали в течение 1 месяца препарат спирулины из расчета 500 мг на 1 кг массы тела ежедневно; IV — которым после однократного R-облучения в дозе 2 Гр в течение 1 месяца скармливали препарат спирулины. Определяли интенсивность базальной и АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС изолированными надпочечниками (НП). Концентрацию 11-ОКС в инкубационной среде определяли флюорометрическим методом. Уровни тироксина (T_4) и инсулина (Инс) в крови определяли радиоиммунными методами. Исследовали показатели ПОЛ в печени, сердце и почках: уровень малонового диальдегида (МДА), активность каталазы (Кат) и супероксиддисмутазы (СОД).

Результаты: Через 1 месяц после однократного облучения не изменялись базальная секреция 11-ОКС изолированными НП и уровень Инс в крови; повышался уровень T_4 в крови и уровень МДА в печени и почках, снижались АКТГ-стимулированная секреция 11-ОКС изолированными НП, активность Кат в почках, сердце и активность СОД в почках по сравнению с контролем. Скармливание спирулины в течение 1 месяца после облучения приводило к восстановлению АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС изолированными НП до уровня в контроле, предотвращало повышение уровня T_4 и МДА в крови и активности СОД в почках, по сравнению с контролем. Скармливание спирулины необлученным животным не вызывало изменений исследованных показателей.

Выводы: Результаты свидетельствуют об эффективности использования препарата сине-зеленой водоросли спирулины для коррекции радиационных повреждений глюкокортикоидной функции НП, предотвращения повышения уровня T_4 и активации процессов ПОЛ, а также для снижения активности ферментов антиоксидантной защиты в ряде органов и тканей в условиях воздействия ионизирующего излучения.

Ключевые слова: спирулина, эндокринный статус, ПОЛ, радиация, крысы.

Objective: To study the influence of blue-green seaweed *Spirulina platensis* (SP) on the endocrine status and lipid peroxidation (LP) in the liver, kidneys and heart of rats one month later single x-ray exposure.

Material and Methods: The experiments were conducted on Wistar male rats aged 8 mo. Group 1 – controls; group 2 – animals taken into experiment 1 month after single irradiation at a dose of 2 Gy; group 3 – the rats fed for 1 month with SP at a dose of 500 mg/kg of body mass daily; group 4 – animals after single irradiation fed for 1 month with SP. Intensity of 11-oxycorticosteroids (11-OCS) basal secretion by isolated adrenal glands (AG), reactivity of isolated AG on ACTH, levels of insulin and thyroxin (T_4) in the blood were determined. To study LP, the levels of malonic dialdehyde (MDA), catalase (Cat) and superoxide dismutase (SOD) activity was measured in the liver, kidneys and heart.

Results: X-ray exposure did not change basal secretion of 11-OCS by isolated AG and blood insulin level; the level of T_4 in the blood and that of MDA in the liver and kidneys was increased; reactivity of AG on ACTH, Cat activity in the kidneys and heart as well as SOD activity in kidneys were decreased. Feeding with SP did not change the investigated parameters. In the group of irradiated animals fed with SP, reactivity of isolated AG on ACTH, levels of T_4 and MDA in the blood and SOD activity in the kidneys was not different from the control levels.

Conclusion: The findings of the research demonstrate the efficacy of SP in correction of radiation impairment of AG glucocorticoid function, radiation increase of thyroxin and MDA levels and prevention of inhibition of organism antioxidant protection in rats exposed to ionizing radiation.

Key words: Spirulina platensis, endocrine status, lipid peroxidation, radiation, rats.

У сучасних схемах патогенезу радіаційного впливу на організм активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) відводиться роль провідної ланки, як чинника, що безпосередньо зумовлює пошкодження клітинних мембранних структур, зокрема підвищення проникності мембран лізосом та вихід лізосомальних ферментів, розвиток ушкоджень серця, судин, слизової оболонки травної системи, головного мозку та інших органів і тканин [1–3]. Реакція організму на дію іонізуючого

випромінення значною мірою зумовлена змінами, які спостерігаються в ендокринній системі [4–6].

До складу синьо-зеленої водорості спіруліни (*Spirulina platensis*) входить набір біологічно активних компонентів, що обґрунтовує її використання як продукту харчування та лікувального засобу [7–9]. Препарат спіруліни містить речовини антиоксидантного ряду (бета-каротин, глутатіон, глутамінову кислоту, селен, супероксиддисмутазу) та завдяки опти-

мальному співвідношенню ненасичених і насичених жирних кислот забезпечує високу антиоксидантну й мембранопротекторну активність на рівні плазматичної мембрани, мембран ендоплазматичного ретикулуму та ядра клітини [10–12]. Препарат спіруліни справляє нормалізуючий вплив на процеси адаптації за умов прискореного старіння, зокрема, пов'язаного із впливом іонізуючого опромінення [8, 13–15].

Метою нашого дослідження було вивчення можливості корекції препаратом спіруліни радіаційних ушкоджень деяких адаптаційних систем організму — глюкокортикоїдної функції надниркових залоз (НЗ), функціональної активності щитоподібної залози (ЩЗ) та системи перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Методика дослідження

Досліди проведено на 30 дорослих (8 міс.) щурах-самцях лінії Вістар. Вивчали вплив одноразового рентгєнівського опромінення (ікс-опромінення) (поглинута доза 2 Гр). Було обрано сублетальну дозу, що, з одного боку, не приводила до загибелі тварин через 1 місяць після опромінення, а з іншого — змінювала показники ендокринного статусу: глюкокортикоїдної функції кори надниркових залоз, рівнів тироксину (T_4) та інсуліну в крові у зазначені терміни після опромінення. Параметри опромінення: напруга на трубці — 180 кВ; сила струму — 15 мА; фільтр — 0,5 мм $Cu + 1,0$ мм Al ; фокусна відстань — 50 см; потужність дози — 0,5 Гр за хв; тривалість опромінення — 4 хв.

Для корекції змін показників ендокринного статусу та системи ПОЛ через 3 дні після ікс-опромінення щурам починали додавати в їжу препарат спіруліни (виробництва заводу «Червона зірка», м. Харків) із розрахунку 500 мг на 1 кг маси тіла на добу. Тривалість зодовування препарату — 30 діб.

Дослідження глюкокортикоїдної функції ізольованих НЗ проведено з використанням методу непрямої інкубації. Останню виконували при температурі 37 °С, використовуючи розчин Кребса-Хенселейта, збалансований для НЗ (в ммоль \cdot л⁻¹): $NaCl$ — 118,0; KCl — 4,7; $CaCl_2$ — 2,56; $MgCl_2$ — 1,13; $NaHCO_3$ — 25,0; NaH_2PO_4 — 1,15; глюкоза — 5,55; $pH = 7,3 - 7,4$ [16]. Розчин аерували карбогеном (5 % CO_2 і 95 % O_2) протягом — 2 год. Середовище (об'єм — 5,0 мл) замінювали через кожні 20 хв. Обидві НЗ однієї тварини інкубували роздільно — одну в розчині, що не містив АКТГ (базальна секреція), а другу — в середовищі інкубації, куди на 2-й годині експерименту додавали приготований *ex tempore* розчин АКТГ, створюючи кінцеву концентрацію тропного гормону в середовищі 10 нмоль/л (АКТГ-стимульована секреція) [16].

Концентрацію 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС) у крові та інкубаційному середовищі визначали флюориметричним методом [17], як стандарт використовували кристалічний кортикостерон фірми «Serva» (Німеччина). Рівні інсуліну та T_4 у крові визначали радіоімунологічними методами [17].

Інтенсивність вільнорадикального окиснення в гомогенатах печінки, нирок та серця оцінювали за рівнями малонового діальдегіду (МДА) [18], каталазної (Кат) [19] та супероксидазної (СОД) [20] активностей.

Результати та їх обговорення

Через 1 місяць після одноразового опромінення в дозі 2 Гр спостерігалась активація процесів ПОЛ у тканинах печінки та нирок, про що свідчить підвищення рівня МДА в тканинах печінки на 96,3 % ($p < 0,05$) та нирок на 35,3 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем (табл.1). Рівень МДА в тканині серця не змінювався. Опромінювання також призводило до зниження активності Кат у тканинах серця на 42,9 % ($p < 0,05$) та нирок на 48,8 % ($p < 0,05$) і активності СОД у тканинах нирок на 28,1 % ($p < 0,05$) (табл.2).

Згідно з концепцією фізико-хімічної регуляції системи ПОЛ, активація процесів вільнорадикального окиснення може викликати адаптивну перебудову ліпідного бішару мембран. Підвищується вміст холестерину та знижується рівень загальних фосфоліпідів, а в їх складі зростає частка важкоокиснюваних фосфоліпідів з високим вмістом насичених жирнокислотних залишків, що веде до зменшення окисності мембранних фосфоліпідів у цілому, зниження в'язкості мембранних ліпідів та порушення клітинного гомеостазу [21, 22]. Подібні зміни ліпідної фази клітинної мембрани негативно впливають на показники її

Таблиця 1 — Рівень малонового діальдегіду в печінці, нирках та серці опромінених щурів при введенні до харчового раціону препарату спіруліни, нмоль/мг білка

Table 1 – The level of malonic dialdehyde in the liver, kidneys and heart of the exposed rats at Spirulina addition to the food (nmol/mg of protein)

Група тварин	Орган		
	печінка	нирки	серце
Контроль (n = 8)	0,27 ± 0,07	0,51 ± 0,05	0,13 ± 0,03
Ікс-опромінення (n = 7)	0,53 ± 0,06 $p_1 < 0,05$	0,69 ± 0,04 $p_1 < 0,05$	0,12 ± 0,02 $p_1 > 0,05$
Ікс-опромінення + спіруліна (n = 8)	0,25 ± 0,04 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,43 ± 0,03 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,13 ± 0,04 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Спіруліна (n = 7)	0,32 ± 0,02 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$	0,53 ± 0,04 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 > 0,05$	0,12 ± 0,01 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

Примітки (тут і далі):

p_1 — відмінність, порівняно з контролем, вірогідна при $p < 0,05$;

p_2 — відмінність, порівняно з групою опромінених тварин, вірогідна при $p < 0,05$;

p_3 — відмінність, порівняно з групою ікс-опромінення + спіруліна, вірогідна при $p < 0,05$.

Таблиця 2 — Активність каталази та супероксиддисмутази в печінці, нирках та серці опромінених щурів при введенні до харчового раціону препарату спіруліни

Table 2 – Catalase and superoxide dismutase activity in the liver, kidneys and heart of the exposed rats at Spirulina addition to the food

Група тварин	Активність каталази, мкмоль (мг білка · хв)			Активність СОД, ум.од./мг білка		
	печінка	нирки	серце	печінка	нирки	серце
Контроль (n = 8)	2,94 ± 0,64	1,25 ± 0,23	2,17 ± 0,31	0,17 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,47 ± 0,09
Ікс-опромінення (n = 7)	2,08 ± 0,41 p ₁ > 0,05	0,64 ± 0,09 p ₁ < 0,05	1,24 ± 0,21 p ₁ < 0,05	0,16 ± 0,02 p ₁ > 0,05	0,23 ± 0,02 p ₁ < 0,05	0,44 ± 0,08 p ₁ > 0,05
Ікс-опромінення + спіруліна (n = 8)	3,58 ± 0,86 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	0,94 ± 0,06 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	1,67 ± 0,49 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	0,19 ± 0,09 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	0,24 ± 0,01 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,05	0,41 ± 0,04 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Спіруліна (n = 7)	3,61 ± 0,73 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	1,02 ± 0,22 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	1,87 ± 0,34 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	0,19 ± 0,06 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	0,28 ± 0,02 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	0,39 ± 0,08 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05

функціонального стану (рецепцію, активний трансмембранний іонний транспорт, функціонування йонних каналів, виконання бар'єрних функцій тощо) та свідчать про виснаження компенсаторних механізмів, які обмежують інтенсивність пероксидації. Таким чином, ікс-опромінювання призводило до зниження активності досліджуваних антиоксидантних ферментів, що може бути пов'язаним із адаптивними змінами структури мембран досліджуваних органів.

Через 1 місяць після одноразового опромінення в зазначеній дозі не виявлено змін інтенсивності базальної секреції 11-ОКС ізольованими НЗ (табл.3). Разом з тим встановлено вірогідне зниження на 39,4 %, порівняно з контролем (p < 0,05), реактивності кори НЗ на дію АКТГ in vitro, що свідчить про зниження функціональної активності кори НЗ та її

адаптаційних можливостей у цей термін після впливу йонізуючого випромінювання. Концентрація інсуліну в крові зазначеної групи тварин не відрізнялася від рівня в контролі. Встановлено підвищення в 2,3 разу, порівняно з контрольною групою, рівня T₄ у крові через 1 місяць після опромінювання.

Тироїдні гормони відіграють важливу роль у регуляції енергетичних процесів (тканинне дихання, окисне фосфорилування), які є основними джерелами вільних радикалів у організмі за фізіологічних умов. При підвищенні активності щитоподібної залози інтенсифікуються процеси основного обміну, зростає споживання кисню та утворення супероксидних радикалів як у самій залозі, так і в інших органах [1–3]. Таким чином, надлишок тироїдних гормонів може посилювати вплив йонізуючого випромінювання на організм [23].

Таблиця 3 — Показники ендокринного статусу опромінених щурів при введенні до харчового раціону препарату спіруліни

Table 3 – The indices of the endocrine state in the exposed rats at Spirulina addition to the food

Група тварин	Базальна секреція 11-ОКС, мкмоль/кг тканини · год		АКТГ-стимульована секреція 11-ОКС, мкмоль/кг ткан.	Рівень інсуліну в крові, пкмоль/л	Рівень тироксину в крові, нмоль/л
	на першій год інкубац.	на другій год інкубац.			
Контроль (n = 8)	178,0 ± 16,3	70,2 ± 8,7	252,2 ± 43,0	73,5 ± 3,8	27,4 ± 4,7
Ікс-опромінення (n = 7)	171,1 ± 18,2 p ₁ > 0,05	85,3 ± 12,5 p ₁ > 0,05	152,9 ± 11,6 p ₁ < 0,05	71,9 ± 4,6 p ₁ > 0,05	62,1 ± 7,2 p ₁ < 0,05
Ікс-опромінення + спіруліна (n = 8)	153,8 ± 16,3 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	70,1 ± 11,2 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	240,1 ± 36,9 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,05	67,0 ± 3,7 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	48,5 ± 11,3 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05
Спіруліна (n = 7)	160,6 ± 21,0 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	89,8 ± 18,3 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	235,0 ± 33,0 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,05 p ₃ > 0,05	70,4 ± 2,4 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05	42,0 ± 6,6 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05 p ₃ > 0,05

Література

Згодовування препарату спіруліни щурам протягом 1 місяця після одноразового опромінювання запобігало активації процесів ПОЛ та зниженню активності ферментів антиоксидантного захисту в ряді органів. Так, рівень МДА в печінці та нирках і активність Кат у нирках та серці не змінилися порівняно з контролем, а рівень МДА в тканинах печінки та нирок вірогідно знизився порівняно з групою опромінених щурів на 52,8 % ($p < 0,05$) та на 37,7 % ($p < 0,05$) відповідно (див. табл. 1, 2). Активність СОД у тканинах нирок опромінених тварин, які отримували спіруліну, залишалася зниженою порівняно з контролем (див. табл. 2).

Таким чином, згодовування препарату спіруліни опроміненим щурам призвело до підвищення АКТГ-стимульованої секреції 11-ОКС ізольованими НЗ (до рівня в контролі), яка була на 57 % вище порівняно з групою опромінених тварин ($p < 0,05$). Рівень T_4 у крові опромінених щурів, які споживали спіруліну, вірогідно не відрізнявся від рівня в контролі ($p > 0,05$). Тобто згодовування препарату спіруліни опроміненим тваринам приводило до відновлення реактивності ізольованих НЗ на дію АКТГ до рівня в контролі, що запобігало підвищенню рівня T_4 у крові у відповідь на вплив іонізуючого випромінювання (див. табл. 3).

У групі неопромінених тварин, яким додавали до корму препарат спіруліни, показники ПОЛ вірогідно не змінювалися порівняно з контролем (див. табл. 1, 2). Згодовування препарату спіруліни таким щурам не приводило до вірогідних змін базальної та АКТГ-стимульованої секреції 11-ОКС ізольованими НЗ, а також рівнів інсуліну та T_4 в крові порівняно з контролем (див. табл. 3).

Висновки

1. Згодовування препарату синьо-зеленої водорості спіруліни щурам запобігає активації процесів ПОЛ та зниженню активності ферментів антиоксидантного захисту в ряді органів і тканин у віддалені терміни після одноразового опромінення в сублетальній дозі 2 Гр.

2. Згодовування препарату спіруліни опроміненим щурам забезпечує корекцію радіаційних порушень глюкостероїдної функції кори НЗ — відновлення їх реактивності на дію АКТГ та запобігає розвитку пострадіаційного гіпертирозу.

1. Kellog E.W.I., Fridovich I. // *J. Biol. Chem.* — 1975. — Vol. 250. — P. 8812–8817.
2. Nishiki K., Erecinska M., Wilson D.F. et al. // *Am. J. Physiol.* — 1978. — Vol. 235. — P. 212–219.
3. Turrens J.F., Alexandre A., Leninger A.L. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1985. — Vol. 237. — P. 408–414.
4. Дедов В.И., Дедов И.И. Степаненко В.Ф. Радиационная эндокринология. — М.: Медицина, 1993. — 208 с.
5. Горбань Є.М. // УРЖ. — 1996. — Т. IV, вип. 1. — С. 96–103.
6. Горбань Е.Н., Барабой В.А. // *Арх. клин. exper. мед.* — 1999. — Т. 8, № 2. — С. 210–215.
7. Картиш А.П., Горбань Є.М., Чекман І.С. та ін. // *Фарм. журн.* — 2000. — № 2. — С. 105–109.
8. Купраш Л.П., Чекман И.С., Горчакова Н.А. Спирулина и здоровье. — Николаев, 2000. — 76 с.
9. Горбань Е.Н., Купраш Л.П. // *Зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. П.Л. Шупика.* — К., 2002. — Кн. 3, вип. 11. — С. 201–210.
10. Manjit K., Dua S., Ahluwalia A.S. Biochemical studies on Spirulina proteins // *Spirulina ETGA Nat. symp. MCRC.* — Madras, India, 1992. — P. 78–84.
11. Шнюкова Е.И., Мушак П.А., Тупик Н.Д. // *Альгол.* — 1994. — Т. 4, № 4. — С. 17–24.
12. Горбань Е.Н., Юрженко Н.Н., Брюзгина Т.С. и др. // *Вестн. гиг. и эпидемиол.* — 2002. — Т. 6, № 1. — С. 25–27.
13. Купраш Л.П., Пантелеймонова Т.Н., Шарабура Л.Б. и др. Использование спирулины в гериатрической фармакологии // *Матер. междунар. конф. по вопр. мед. и соц. обслуж. лиц пожил. и старч. возр.: Сб. стат. и тез. докл.* — Ульяновск, 1997. — С. 194–195.
14. Литошенко А.Я., Мозжухина Т.Г., Чабанный В.Н. и др. Влияние спирулины на структурно-функциональные показатели хроматина печени крыс в радиационной модели ускоренного старения // *Матер. укр. наук.-практ. конф. «Перспективи спіруліни в біотехнологіях харчування і фармакології».* — Вінниця, 1997. — С. 28–29.
15. Горбань Е.Н., Купраш Л.П., Юрженко Н.Н. и др. К вопросу о применении спирулины при ускоренном старении // *Матер. II наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Прискорене старіння та шляхи його профілактики» (Одеса, 18–19 жовтня 2001 р.).* — Одеса, 2001. — С. 138.
16. Matthews E.K., Saffran M. // *J. Physiol. (London).* — 1967. — Vol. 189, № 1. — P. 149–161.
17. Резников А.Г. Методы определения гормонов. — К.: Наук. думка, 1980. — 400 с.
18. Стальная И.Д., Гаршивили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68.
19. Королюк М.А., Иванова Л.И. // *Лаб. дело.* — 1988. — № 1. — С. 19–21.
20. Кузьминская У.А., Кокаровцева М.Г., Овсянникова Л.М. и др. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте. — К., 1989. — 184 с.
21. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. // *Успехи химии.* — 1985. — Т. 54, № 9. — С. 1540–1558.
22. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. — К.: Наук. думка, 1997. — 420 с.
23. Srebro Z., Slebodzinski A., Szirmai E. // *Agressology.* — 1970. — Vol. 11, № 4. — P. 343–356.

Дата надходження: 14.11.2002.

Адреса для листування:
Горбань Євген Миколайович,
відділ науки МОЗ України,
вул. Грушевського, 7, Київ, 01021, Україна