

УДК 616.831.8-009.17: 616-009.17: 616-08: 613.648.4

А. А. Чумак¹, В. В. Талько¹✉, Н. П. Агаманюк¹, Л. П. Дерев'янюк¹, Н. К. Родіонова¹,
Г. В. Косякова², О. Ф. Мегедь², Т. М. Горідько², А. Г. Бердишев², Н. М. Гула²

¹Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Мельникова, 53, Київ, 04050, Україна

²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01030, Україна

ТРАНСГЕНЕРАЦІЙНІ ЕФЕКТИ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ В ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

Мета: вивчити можливі трансгенераційні ефекти у нащадків першого покоління щурів в умовах комбінованого впливу N-стеароїлетаноламіну (NSE) та зовнішнього опромінення їх батьків.

Матеріали і методи. У нащадків першого покоління щурів обох статей від батьків, які зазнали комбінованої дії іонізуючого випромінювання в дозі 2,0 Гр та NSE в дозі 50,0 мг/кг, введеного до або після опромінення, визначали показники про- та антиоксидантної систем (концентрацію ТБК-реагуючих продуктів, активності каталази, глутатіонпероксидази в плазмі крові), досліджували концентрацію статевих гормонів тестостерону і естрадіолу, а також концентрацію нітрит-аніону.

Результати. Опромінення батьків спричиняло триразове зниження вмісту тестостерону в плазмі крові нащадків-самців та зростання активності каталази в плазмі крові нащадків-самиць, а також вірогідне збільшення концентрації протеїну в плазмі крові нащадків обох статей. Введення NSE батькам до опромінення викликало активацію процесів ПОЛ у плазмі крові нащадків обох статей на тлі вірогідного зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази та глутатіонпероксидази), однак запобігало різкому зниженню вмісту тестостерону в плазмі крові нащадків-самців, обумовленому дією опромінення на організм батьків. Введення NSE батькам після опромінення не спричиняло істотних порушень про/антиоксидантної рівноваги в організмі нащадків обох статей, проте не усувало негативного впливу опромінення батьків на рівень тестостерону у нащадків-самців.

Висновок. Трансгенераційний вплив NSE, проявляється радіосенсибілізуючими властивостями в нащадків першого покоління у випадку його застосування до опромінення батьків.

Ключові слова: іонізуюче випромінювання, N-стеароїлетаноламін, щури, нащадки, перше покоління.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2017. Вип. 22. С. 270–281.

✉ Талько Вікторія Василівна, e-mail: talko1950@gmail.com

A. A. Chumak¹, V. V. Talko¹✉, N. P. Atamanyuk¹, L. P. Derevyanko¹, N. K. Rodionova¹,
G. V. Kosyakova², A. F. Mehed², T. M. Gorid'ko², A. G. Berdyshev², N. M. Gula²

¹State Institution «National Research Center for Radiation Medicine NAMS of Ukraine», Melnykova str., 53, Kyiv 04050, Ukraine

²Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine, Leontovycha str., 9, Kyiv, 01030, Ukraine

Transgeneration effects of N-stearoylethanolamine in irradiated rats

Objective. to explore possible transgeneration effects in the rats offspring of the first generation of parents subjected to the combined effects of N-stearoylethanolamine (NSE) and external exposure.

Materials and methods. In the first generation rats of both sexes born to parents who have experienced the combined influence of ionizing radiation at a dose of 2.0 Gy and NSE a daily dose of 50.0 mg/kg, administered before or after exposure indicators of pro- and antioxidant systems (the concentration of TBA-reactive products, catalase and glutathione peroxidase activity in plasma) were defined, concentrations of sex hormones testosterone and estradiol and nitrite anion were studied.

Results. Irradiation of parents caused a three-fold reduction of testosterone in the blood plasma of males progeny, increased activity of catalase in plasma of female offsprings, as well as significantly increased the concentration of protein in the offsprings' blood plasma of both sexes. Introduction of NSE to parents before exposure caused the activation of lipid peroxidation in plasma of both sexes offsprings' against the background of a trustworthy decrease in activity of antioxidant enzymes (catalase and glutathione peroxidase), however, prevented a sharp reduction of testosterone content in the blood plasma of males offsprings, conditioned by the influence of radiation on the body of their parents. NSE introduction to parents after exposure caused no significant violations of pro/ antioxidant balance in the body of both sexes progeny, but did not eliminate the negative impact of parental exposure to testosterone levels in male offsprings.

Conclusion. The transgeneration impact of NSE is manifested by radio sensitizing properties in the first generation offsprings in case of application to parents before irradiation.

Key words: ionizing radiation, N-stearoylethanolamine, rats, offsprings of the first generation.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2017;22:270–281.

ВСТУП

У зв'язку з погіршенням стану навколишнього середовища і зростанням кількості захворювань, небезпечних для життя і здоров'я людини, наукова розробка нових методів і засобів, спрямованих на збереження здоров'я населення, є важливим завданням для спеціалістів у галузі медицини, біології, фармакології. Значна увага в цьому напрямку звернута до препаратів, діючою речовиною яких є канабіноїди. Встановлені канабіміметичні властивості малополярних біологічно активних ліпідів N-ацилетаноламінів (NAE) [1–3]. Отримані результати свідчать про антиоксидантну, пряму мембранотропну та мембранопротекторну дію досліджених сполук. Показано, що NAE з насиченими ланцюжками, зокрема, N-стеароїлетаноламін (NSE) може пригнічувати ріст пухлин, підвищувати активність ферментів антиоксидантної системи і гальмувати накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів [4–6], що стало основою для вивчення радіомодифікуючих властивостей NSE.

Робіт, які стосуються трансгенераційного впливу NSE на стан здоров'я нащадків першого покоління

INTRODUCTION

Due to deterioration of the environment and the growing number of diseases that are dangerous to human life and health, the scientific development of new methods and tools aimed at maintaining the health of the population is an important task for specialists in medicine, biology and pharmacology. Much attention is paid in this regard to drugs, which active ingredient are cannabinoids. Cannabimimetic properties were established in low-polar biologically active lipids N-acylethanolamines (NAE) [1–3]. Obtained results prove to antioxidant, direct membrane protective and membrane-acting effects of studied compounds. It was shown that NAE with saturated chains, in particular, N-stearoylethanolamine (NSE) can suppress tumor growth, increase enzyme activity of antioxidant system and inhibit the accumulation of lipid peroxidation products [4–6], that was the basis for studying of the radiomodifying properties of NSE.

Works related to transgeneration impact of NSE on the health of first generation offsprings

опромінених батьків з метою корекції в майбутньому відповідних змін, в доступній літературі ми не знайшли. Враховуючи попередньо отримані експериментальні дані відносно радіопротекторного впливу препарату NSE в опромінених щурів, ми вивчали його вплив на нащадків першого покоління (F1) щурів, народжених від опромінених в дозі 2,0 Гр батьків, яким вводили NSE з розрахунку 50,0 мг/кг маси тіла упродовж 7 діб до або після опромінення. В дослідженнях визначали комплекс показників, які характеризують пошкоджуючий вплив іонізуючого випромінювання.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчити можливі трансгенераційні ефекти у нащадків першого покоління щурів в умовах комбінованого впливу NSE та зовнішнього опромінення їх батьків.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені на 60 статевозрілих білих лабораторних щурах обох статей масою 180–200 г, нащадках першого покоління (F1), батьки яких були опромінені в дозі 2,0 Гр та перорально (через зонд) отримували NSE з розрахунку 50,0 мг/кг маси тіла упродовж 7 діб до або після опромінення.

Щурів F1 отримували шляхом спарювання батьків відповідної групи (табл. 1). За початок відліку приймали термін опромінення батьків. Після народження F1 розсаджували відповідно групі й утримували в стандартних умовах віварію. Після досягнення статевої зрілості тварин виводили з експерименту шляхом миттєвої декапітації гільйотиною.

of exposed parents to correct relevant changes in the future were not found in the available literature. Taking into account previous experimental data on the radioprotective impact of NSE in irradiated rats, we studied its effect on the offsprings of the first generation (F1) born to parents exposed at a dose of 2.0 Gy consuming daily 50.0 mg/kg of NSE within 7 days before or after irradiation. A set of parameters that characterize the damaging effects of ionizing radiation was determined.

OBJECTIVE

To explore a possible transgeneration effects in rats offsprings of the first generation born to parents subjected to the combined effects of irradiation and NSE.

MATERIALS AND METHODS

Research were conducted at 60 mature white laboratory rats of both sexes weighting 180–200 g, the first generation progeny (F1) whose parents had been exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and orally (through a tube) injected with 50.0 mg/kg of NSE within 7 days before or after irradiation.

F1 rats were obtained by mating parents in respective groups (Table 1). The term of parents irradiation was considered as origin. After the birth F1 were caged according to groups and kept under standard vivarium conditions. After attaining the puberty animals were removed of the experiment via instant decapitation by guillotine.

Таблиця 1

Розподіл щурів F1 по групах у відповідності до умов експерименту

Table 1

The F1 rats grouping according to experimental conditions

№ групи* Group #	Стать нащадків Gender of offsprings	Вплив, здійснений на батьків / parents treatment	
		опромінення всього тіла 2Гр irradiation 2.0 Gy whole body	введення NSE 50,0 мг/кг протягом 7 днів NSE feeding 50.0 mg/kg within 7 days
1	♂	Hi / No	Hi / No
2	♂	Hi / No	Так / Yes
3	♂	Так / Yes	Hi / No
4	♂	Так / Yes	До опромінення / Before exposure
5	♂	Так / Yes	Після опромінення / After exposure
6	♀	Hi / No	Hi / No
7	♀	Hi / No	Так / Yes
8	♀	Так / Yes	Hi / No
9	♀	Так / Yes	До опромінення / Before exposure
10	♀	Так / Yes	Після опромінення / After exposure

Примітка. *В кожній групі N=6.
Note. *In each group n=6.

Для досліджень використовували плазму цитратної крові (у співвідношенні кров : цитрат 5 : 1) після центрифугування 10 хв при 500 g.

Комплекс показників, які визначали в даних дослідженнях, обраний з урахуванням пошкоджуючої дії іонізуючої радіації на організм. Її вплив викликає утворення в тканинах великої кількості вільнорадикальних сполук, призводить до активації процесів перекисного окиснення ліпідів, зниження активності антиоксидантної системи (АОС), внаслідок чого порушується синтез ДНК, руйнується структура мембран [7]. Кінцеві продукти перекисного окиснення ліпідів (ТБК-активні продукти) формуються при деструкції поліненасичених жирних кислот з утворенням великої кількості карбонільних сполук, в тому числі малонового діальдегіду (МДА), який є біомаркером вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Шкідливому ефекту вільних радикалів протидіє АОС, сполуки якої здатні нейтралізувати вільні радикали. В зв'язку з цим важливим є визначення активності основних ферментів АОС: каталази, супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП). Характеристика про- та антиоксидантної систем є загальноприйнятою у радіобіологічних дослідженнях [8]. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за накопиченням ТБК-активних продуктів за методом Ю. А. Владимірова і А. І. Арчакова [9] з деякою модифікацією [10]. Екстинкцію супернатанту вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 в кюветі товщиною 1 см при довжині хвилі 532 нм проти контрольної проби, що замість біологічного матеріалу містила 0,2 мл води. Концентрацію ТБК-активних продуктів розраховували, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції МДА $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Активність каталази визначали за швидкістю розпаду пероксиду водню у мікромоль (мкмоль) пероксиду водню, що був розкладений в ензиматичній реакції [11].

Активність ГП визначали за накопиченням у середовищі інкубації окисленого глутатіону [12]. Активність ензиму виражали у наномоль (нмоль) окисленого глутатіону, що утворився за 1 хв з розрахунку на 1 мг білка.

Показником функціонального стану статевої системи в умовах тотального опромінення є концентрація статевих гормонів. Опромінення головного мозку здатне призвести до зміни концентрації статевих гормонів, затримки росту, прогресуючих ментальних розладів та інших неврологічних порушень.

Для оцінки функціональних змін у гонадній системі досліджували концентрацію тестостерону і ест-

For research citrate plasma of blood (in the blood : citrate ratio of 5 : 1) was used after centrifugation for 10 minutes at 500 g.

A set of indicators used in these studies was chosen considering the damaging effects of ionizing radiation on the body. Its impact causes the production in tissues of large amounts of free radical compounds leading to activation of lipid peroxidation, decreased activity of antioxidant system (AOS), so that DNA synthesis is disturbed, the structure of membranes destroyed [7]. The end products of lipid peroxidation (TBA-active products) are formed by the degradation of fatty acids with appearance of a lot of carbonyl compounds including malondialdehyde (MDA), a biomarker of free radical lipid peroxidation (LPO). Harmful effects of free radicals counteracts the AOS, which compounds are able to neutralize free radicals. In this regard, it is important to determine the activity of the main AOS enzymes: catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP). Characteristics of pro- and antioxidant systems are generally accepted in radiobiological studies [8]. LPO intensity was determined by the accumulation of TBA-active products according to [9] with some modifications [10]. Extinction of the supernatant was measured on a spectrophotometer SF-46 in a cavity thickness of 1 cm at a wavelength of 532 nm against a control sample, containing 0.2 ml of water instead of biological material. The concentration of TBA-active products was calculated using a molar extinction coefficient of MDA $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Catalase activity was determined by the rate of hydrogen peroxide decay method [11] in micromoles of hydrogen peroxide, which was broken down in enzymatic reaction.

GP activity was determined by the accumulation of oxidized glutathione in the incubation medium [12]. The activity of enzyme was expressed in nmol of oxidized glutathione, formed by 1 minute per 1 mg of protein.

The concentration of sex hormones is an indicator of the functional state of the reproductive system in conditions of whole body exposure. Irradiation of the brain can lead to changes in the concentration of sex hormones, growth retardation, progressive mental disorders and other neurological disturbances.

To evaluate the functional changes in the gonadal system testosterone and estradiol concen-

радіолу в плазмі крові з використанням наборів реактивів для твердофазного імуноензимного аналізу (ELISA) фірми «Гранум» (Україна). Вимірювання проводили на планшетному аналізаторі STATFAX 2100.

Накопичення вільних радикалів призводить до розвитку порушень у системі синтезу оксиду азоту (NO) – сполуки, яка відіграє в організмі регуляторну та захисну роль [13, 14].

Для визначення концентрації нітрит-аніону використовували реакцію Гріса, яка полягає в колориметрії забарвленого комплексу рожевого кольору солі діазонію, що утворюється при взаємодії NO_2^- з сульфаніламідом та N(1-нафтил)-етилендіаміном у кислому середовищі – метод Грін [15].

Вміст протеїну визначали загальноживаним методом Бредфорд [16].

Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для перевірки статистичного значення отриманих даних використовували параметричний t-критерій Стьюдента за допомогою пакету прикладних програм Statistica 5,0 [17].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

З даних, представлених у табл. 2 видно, що опромінення батьків не спричиняло вірогідних змін вмісту ТБК-активних продуктів в плазмі крові нащадків-самців (група 3).

Застосування NSE батькам до опромінення зумовлювало вірогідне зростання вмісту ТБК-активних продуктів в плазмі крові їх потомків чоловічої статі (група 4). Введення NSE батькам після опромінення (група 5) суттєво не впливало на вміст досліджуваних продуктів ПОЛ в плазмі крові самців-нащадків.

Таблиця 2

Вміст ТБК-активних продуктів в плазмі крові самців F_1 , народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 2

The blood plasma of TBA-active products content in the F_1 males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	ВмістТБК-активних продуктів (мкмоль МДА /мл плазми, $M \pm m$)	$p < 0,05$ між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	MDA concentration ($\mu\text{mol/ml}$ of plasma, $M \pm m$)	$p < 0.05$ between compared groups
1	1,47 \pm 0,17	
2	1,70 \pm 0,26	
3	1,41 \pm 0,23	
4	1,97 \pm 0,13	1–4, 3–4
5	1,50 \pm 0,09	4–5

tration were investigated in plasma using sets of reagents for solid phase enzyme linked immunosorbent analysis, supplied by «Granum» (Ukraine). Measurements were performed on flat-bed analyzer STATFAX 2100.

The accumulation of free radicals leads to disturbances in the system of the nitric oxide (NO) synthesis – compound, which plays in the body regulatory and protective role [13, 14].

To determine the concentration of nitrite anion Gris reaction was used, which consists in colorimetry of pink colored complex of diazonium salts formed by the interaction of NO_2^- with sulfonamide and N(1-naphthyl)-etylendiamine in an acidic environment – Green method [15].

The protein content was measured by commonly used method of Bradford [16].

Experimental data were processed by conventional methods of variation statistics. To test the statistical significance of the data parametric t-Student test was used for the applied software Statistica 5.0 [17].

RESULTS AND DISCUSSION

According to the data in table 2, the exposure of parents did not cause any significant alteration in the content of TBA-active products in the blood plasma of male offsprings (group 3).

Application of NSE to parents before exposure resulted in significant increase of the TBA-active products content in the blood plasma of male offsprings (group 4). Introduction of NSE to parents after irradiation (group 5) did not significantly affect the contents of studied products of lipid peroxidation in plasma of male offsprings.

Таблиця 3

Вміст ТБК-активних продуктів в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 3

The blood plasma of TBA-active products content in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	ВмістТБК-активних продуктів (мкмоль МДА /мл плазми, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	MDA concentration (μmol/ml of plasma, M ± m)	p<0.05 between compared groups
6	1,92 ± 0,10	
7	1,38 ± 0,05	6-7
8	1,90 ± 0,22	7-8
9	2,38 ± 0,09	6-9, 7-9, 8-9
10	1,81 ± 0,09	7-10, 9-10

Аналогічні зміни вмісту продуктів ПОЛ були виявлені у плазмі крові нащадків жіночої статі (табл. 3, групи 9, 10).

Дані, щодо активності каталази в плазмі крові нащадків першого покоління від батьків, які зазнали комбінованої дії одноразового зовнішнього іонізуючого випромінювання в дозі 2,0 Гр та NSE в дозі 50,0 мг/кг, введеного до або після опромінення, представлені в табл. 4 та 5.

Опромінення батьків не спричиняло вірогідних змін активності каталази в плазмі крові нащадків чоловічої статі (група 3). У самців F₁, батьки яких отримували NSE до опромінення (група 4), виявлено статистично достовірне зниження активності каталази. Проте, якщо батькам NSE вводили після опромінення (група 5), активність каталази у нащадків-самців, навпаки, була вищою за її значення у тварин як у групі 3, так і 4.

Деякі інші зміни активності каталази були виявлені в плазмі крові нащадків-самиць (табл. 5). Опро-

Similar changes in the content of lipid peroxidation products were detected in plasma of female offsprings (Table 3, groups 9, 10).

Information about the activity of catalase in plasma of the F₁ descendants of parents who have been subjected to the combined action of a single external ionizing irradiation at a dose of 2.0 Gy and NSE at a dose of 50.0 mg/kg, administered before or after exposure are presented in Tables 4 and 5.

Parental irradiation caused no significant changes of plasma catalase activity in male offsprings (group 3). In F₁ males, whose parents had received NSE before exposure (group 4), statistically significant decrease in catalase activity was registered. However, if NSE was applied to parents after irradiation (group 5), catalase activity in male offsprings, by contrast, was higher than value of the animals in group 3, and 4.

Some other changes of catalase activity were detected in plasma of female offsprings (Table 5).

Таблиця 4

Активність каталази в плазмі крові самців F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 4

The blood plasma catalase activity in the F₁ males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The activity of catalase (μmol/min/mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
1	0,74 ± 0,002	
2	0,51 ± 0,06	1-2
3	0,77 ± 0,06	2-3
4	0,61 ± 0,03	3-4
5	0,80 ± 0,04	2-5, 4-5

Таблиця 5

Активність каталази в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 5

The blood plasma catalase activity in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The activity of catalase (μmol/min/mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
6	0,65 ± 0,02	
7	0,64 ± 0,06	
8	0,89 ± 0,1	6–8
9	0,57 ± 0,03	6–9, 8–9
10	0,62 ± 0,06	7–10, 8–10

мінення батьків викликало вірогідне зростання активності ферменту в плазмі крові нащадків жіночої статі (група 8); введення батькам NSE до опромінення призводило до вірогідного зменшення активності каталази в плазмі крові самиць-нащадків (група 9); а застосування NSE батькам після опромінення, запобігало змінам активності досліджуваного ферменту в плазмі крові нащадків жіночої статі (група 10).

Отже, отримані дані, щодо активності каталази добре узгоджуються з результатами щодо вмісту продуктів ПОЛ, а саме: зростання вмісту продуктів ПОЛ супроводжується зниженням активності каталази в плазмі крові нащадків як чоловічої, так і жіночої статі.

У табл. 6 наведено дані щодо активності ще одного ферменту антиоксидантного захисту – ГП, який має спільний субстрат з каталазою – пероксид водню.

Irradiation of parents caused significant increase of enzyme activity in plasma of female offsprings (group 8); application of NSE to parents before irradiation led to significant reduction of catalase activity in plasma of female offsprings (group 9), and use of NSE for parents after exposure prevented changes of investigated enzyme activity in plasma of female offsprings (group 10).

Thus, the data on the activity of catalase are in a good agreement with the results about content of lipid peroxidation products, namely an increase of lipid peroxidation products content is accompanied by decreased activity of catalase in plasma of both male and female descendants.

Table 6 presents data on the activity of another enzyme of antioxidant defense – GP which shares with catalase a common substrate – hydrogen peroxide.

Таблиця 6

Активність глутатіонпероксидази в плазмі крові самців F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 6

The blood plasma glutathione peroxidase activity in the F₁ males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Активність глутатіонпероксидази (нмоль/хв на 1 мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The activity of glutathione peroxidase (nmol/min per 1 mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
1	63,02 ± 3,23	
2	50,09 ± 2,72	1–2
3	60,88 ± 4,77	
4	51,00 ± 2,58	1–4
5	61,16 ± 5,10	

Таблиця 7

Активність глутатіонпероксидази в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 7

The blood plasma glutathione peroxidase activity in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Активність глутатіонпероксидази (нмоль/хв на 1 мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The activity of glutathione peroxidase (nmol/min per 1 mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
6	56,22 ± 1,61	
7	45,19 ± 1,33	6-7
8	58,04 ± 3,94	7-8
9	47,58 ± 2,57	6-9, 8-9
10	58,35 ± 4,05	7-10, 9-10

Як видно з даних табл. 6, опромінення батьків не спричиняло змін активності ферменту в плазмі крові самців F₁ (група 3). Введення батькам NSE перед опроміненням призводило до вірогідного зменшення активності ГП в плазмі крові нащадків чоловічої статі (група 4), але застосування NSE батькам після опромінення не викликало істотних змін активності досліджуваного ферменту (група 5).

Аналогічні зміни активності ГП були виявлені і в плазмі крові щурів-самиць першого покоління (табл. 7, групи 9, 10).

Ні опромінення, ні дія NSE на батьків не впливали на вміст естрадіолу в плазмі крові нащадків першого покоління обох статей (дані не наводяться).

Результати дослідження вмісту тестостерону в плазмі крові нащадків F₁ подані в табл. 8-9.

Як видно з табл. 8, вплив опромінення на батьківський організм приводив до істотного знижен-

As it can be seen from Table 6, irradiation of parents did not cause changes in GP activity in plasma of male F₁ (group 3). Introduction NSE to parents before irradiation resulted in a reliable decrease of GP activity in plasma of male offsprings (group 4), but the use of NSE after exposure of parents did not cause significant changes in the studied enzyme activity (group 5).

Similar changes of GP activity were found in plasma of first generation female rats (Table 7, groups 9, 10).

Neither irradiation, nor NSE influence to parents affected the content of estradiol in plasma of both sexes descendants of the first generation (data not shown).

Values of testosterone content in the blood plasma of F₁ offsprings are presented in Tables 8-9.

As shown in the Table 8, the effect of parent's body exposure to radiation led to significant

Таблиця 8

Вміст тестостерону в плазмі крові самців F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 8

The blood plasma testosterone content in the F₁ males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Вміст тестостерону (нмоль/л, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The content of testosterone (nmol/L, M±m)	p<0.05 between compared groups
1	22,37 ± 2,04	
2	19,94 ± 3,69	
3	7,4 ± 2,27	1-3, 2-3
4	14,98 ± 1,17	1-4
5	8,27 ± 0,58	1-5, 3-5

Таблиця 9

Вміст тестостерону в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 9

The blood plasma testosterone content in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Вміст тестостерону (нмоль/л, M ± m)
Groups of animals (see Table 1)	The content of testosterone (nmol/L, M±m)
6	1,87 ± 0,32
7	2,57 ± 0,35
8	2,40 ± 0,30
9	2,63 ± 0,35
10	1,73 ± 0,18

ня концентрації тестостерону у нащадків чоловічої статі (група 3). За умов введення NSE батькам до опромінення (група 4), вміст тестостерону у нащадків був у два рази вищий, порівняно з групою щурів, батьки яких зазнали тільки опромінення, хоча все ж достовірно нижчий, ніж у нащадків інтактних батьків (група 1). Введення NSE батькам після опромінення (група 5), не запобігало зниженню вмісту тестостерону у їх потомства.

Не було виявлено статистично вірогідних відмінностей між групами щодо вмісту тестостерону в плазмі крові самиць-нащадків (табл. 9).

Результати дослідження рівнів нітрит-аніону в плазмі крові нащадків F₁ наведено в табл. 10–11.

Як видно з даних табл. 10, опромінення батьків не спричиняло змін вмісту нітрит-аніону в плазмі крові нащадків-самців (група 3). Застосування NSE батькам до (група 4) та після (група 5) оп-

reduction of testosterone concentration in male offsprings (group 3). In the group of animals whose parents received NSE before irradiation (group 4), testosterone content was two times higher compared to the group of rats whose parents were subjected to only exposure, but still significantly lower than in descendants of intact parents (group 1). Introduction of NSE to parents after irradiation did not prevent the reduction of testosterone content in their offsprings (group 5).

There were no statistically significant differences between groups regarding the content of testosterone in the blood plasma of female offspring (Table 9).

Results of nitrite anion levels research in plasma of F₁ descendants are presented in Tables 10–11.

As can be seen from Table 10, irradiation of parents did not cause changes in the content of nitrite anion in plasma of male offsprings (group 3). NSE application to the parents before (group 4) or after

Таблиця 10

Вміст нітрит-аніону в плазмі крові самців F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 10

The blood plasma testosterone content in the F₁ males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Вміст нітрит-аніону (пмоль/мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The content of nitrite anion (pmol/mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
1	87,61 ± 3,14	
2	67,09 ± 5,67	1–2
3	96,54 ± 9,75	
4	83,76 ± 3,61	2–4
5	86,68 ± 6,11	2–5

Таблиця 11

Вміст нітрит-аніону в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 11

The blood plasma of nitrite anion content in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Вміст нітрит-аніону (пмоль/мг протеїну, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The content of nitrite anion (pmol/mg of protein, M ± m)	p<0.05 between compared groups
6	84,16 ± 6,01	
7	64,36 ± 1,88	6-7
8	88,63 ± 4,79	7-8
9	79,58 ± 2,65	7-9
10	77,47 ± 6,03	7-10

ромінення також не викликало істотних змін досліджуваного показника у самців F₁ порівняно з групою 3.

Аналогічні результати були отримані й щодо вмісту нітрит-аніону в плазмі крові щурів-самиць першого покоління (табл. 11, групи 9, 10).

Як видно з даних табл. 12, вплив опромінення на батьківський організм призводив до зростання концентрації протеїну в плазмі крові самців F₁ (група 3). Застосування NSE батькам до опромінення (група 4) попереджало істотне зростання досліджуваного показника, але не нормалізувало його рівні. Концентрація протеїну в плазмі крові самців, батьки яких отримували NSE після опромінення (група 5), залишалась на рівні значень щурів інтактної, першої групи.

Аналогічні зміни концентрації протеїну в плазмі крові були отримані у самиць F₁ (табл. 13).

(group 5) exposure also caused no significant changes of the studied parameters in males F₁ comparing to group 3.

Similar results were obtained about the content of nitrite anion in the blood plasma of first generation females rats (Table 11, groups 9, 10).

As can be seen from Table 12, the effects of exposure to the parent body led to an increase in the concentration of protein in the blood plasma of male F₁ (group 3). Application of NSE to parents before exposure (group 4) prevented significant growth rate of protein, but not normalized in progeny its level. The concentration of protein in the blood plasma of males whose parents received NSE after exposure (group 5) remained at the level of values of intact rats (group 1).

Similar changes in the concentration of protein in blood plasma were obtained from females F₁ (Table 13).

Таблиця 12

Концентрація протеїну в плазмі крові самців F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 12

The blood plasma protein concentration in the F₁ males born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Концентрація протеїну (мг/мл плазми, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The concentration of protein (mg/ml of plasma, M±m)	p<0.05 between compared groups
1	45,18 ± 1,09	
2	47,56 ± 3,27	
3	63,14 ± 4,12	1-3
4	57,72 ± 1,28	1-4, 2-4
5	46,09 ± 2,00	3-5, 4-5

Таблиця 13

Концентрація протеїну в плазмі крові самиць F₁, народжених батьками, які зазнали одноразового опромінення всього тіла в дозі 2,0 Гр, та отримували NSE в дозі 50,0 мг/кг протягом 7 днів до або після опромінення

Table 13

The blood plasma protein concentration in the F₁ females born to parents exposed to 2.0 Gy of single total body irradiation and fed by 50.0 mg/kg of NSE for 7 days before or after exposure

Групи тварин (див. табл. 1)	Концентрація протеїну (мг/мл плазми, M ± m)	p<0,05 між групами, що порівнюються
Groups of animals (see Table 1)	The concentration of protein (mg/ml of plasma, M±m)	p<0.05 between compared groups
6	53,45 ± 1,58	
7	49,55 ± 2,57	
8	65,37 ± 1,92	6-8
9	61,80 ± 2,85	6-9, 7-9
10	55,68 ± 4,01	

ВИСНОВКИ

1. Опромінення батьків спричиняло триразове зниження вмісту тестостерону в плазмі крові нащадків-самців, зростання активності каталази в плазмі крові нащадків-самиць, а також вірогідне збільшення концентрації протеїну в плазмі крові нащадків обох статей.
2. Введення NSE щурам до опромінення викликало активацію процесів ПОЛ в плазмі крові нащадків обох статей на тлі вірогідного зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази та глутатіонпероксидази), однак запобігало різкому зниженню вмісту тестостерону в плазмі крові нащадків-самців, обумовленому дією опромінення на організм батьків.
3. Введення NSE щурам після опромінення не спричиняло істотних порушень про/антиоксидантної рівноваги в організмі нащадків обох статей, проте не усувало негативного впливу опромінення батьків на рівень тестостерону у нащадків-самців.
4. Таким чином, результати, отримані в умовах експерименту, можуть свідчити про трансгенераційний вплив NSE, який проявляє радіосенсибілізуючі властивості у нащадків першого покоління у випадку його застосування до опромінення батьків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Жуков О. Д., Артамонов М. В., Клімашевський В. М. N-ацилетаноламіни - новий клас природних адренотропних модуляторів. Укр. біохім. журн. 2000. Т. 72, № 2. С. 24-27.
2. Костюченко Н., Пушкарев В., Кашеваров Г., Тронько М., Комисаренко И., Микоша О. Влияние N-ацилетаноламинов и различных антимитотических агентов на апоптотическую фрагментацию ДНК в условно-нормальной и опухолевой ткани надпочечников человека. Эксперим. онкология. 2005. Т. 27, № 3. С. 45-49.

CONCLUSIONS

1. Exposure of parents caused a three-fold reduction of testosterone in the blood plasma of male offsprings, increased activity of catalase in plasma of female offspring, as well as the reliable increase of the protein concentration in the blood plasma of offspring of both sexes.
2. Introduction of NSE to rats before exposure caused activation of lipid peroxidation in plasma of both male and female offsprings against the background of a possible decrease in activity of antioxidant enzymes (catalase and glutathione peroxidase), however, prevented a sharp reduction of testosterone in the blood plasma of male offsprings, caused by the action of radiation on the parents' body.
3. Introduction of NSE to rats after exposure caused no significant violations of pro/ antioxidant balance in the body of descendants of both sexes, but not eliminate the negative impact of parental exposure to testosterone levels in male offsprings.
4. Thus, the results obtained in the experiment may prove to transgeneration impact of NSE, which shows radiosensitizing properties in the first generation offsprings if applied to irradiated parents.

REFERENCES

1. Zhukov AD, Artamonov MV, Klimashevskiy VM, Govseeva NM, Margitych VM, Gula NM. [N-acylethanolamines - a new class of natural adrenotropnyh modulators]. Ukr Biochem J. 2000;72(2): 24-7. Ukrainian.
2. Kostyuchenko N, Pushkarev V, Kashevarov G, Tronko M, Komisarenko I, Mikosha O. [Effects of N-acylethanolamines and various antimittotic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals]. Exp Oncology. 2005;27(3):45-9. Russian.

3. Хаспеков Л. Г., Бобров М. Ю. Эндогенная каннабиноидная система и ее защитная роль при ишемическом и цитотоксическом повреждении нейронов головного мозга. *Нейрохимия*. 2006. Т. 23, № 2. С. 85-105.
4. Кіндрук Н. Л., Артамонов М. В., Гула Н. М., Чумак А. А. Імуномодулюючий вплив N-стеароїлетаноламіну в опромінених щурів. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2002. Вип. 2 (41). С. 33-39.
5. Артамонов М. В., Жуков О. Д., Горідько Т. М., Клімашевський В. М., Марценюк Щ.П., Гула Н. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на ліпідні компоненти мікросом печінки та серця за дії на щурів іонізуючого випромінювання. *Укр. біохім. журн.* 2003. Т. 75, № 4. С. 81-90.
6. Гула Н. М., Хмель Т. О., Клімашевський В. М., Кулик Г. І., Тодор І. М. N-стеароїлетаноламін гальмує ріст та метастазування карциноми Льюїс та модулює ліпідний склад легеневої тканини у мишей за канцерогенезу. *Укр. біохім. журн.* 2006. Т. 78, № 1. С. 135-142.
7. Барабой В. А., Орел В. Э., Карнаух И. М. Перекисное окисление и радиация. Київ : *Наук. думка*, 1991. 54 с.
8. Овсяннікова Л. М., Чумак А. А., Коваленко О. М., Носач О. В., Альохіна І. М., Боярська О. Я. Антиоксидантна система, окисна модифікація білків і ліпідів в розвитку порушень життєдіяльності у віддаленому періоді після Чорнобильської аварії. В кн.: *Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції*. За ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. Київ : ДІА, 2007. С. 422-436.
9. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М. : *Наука*, 1972. 252с.
10. Мельничук С. Д., Кузьменко А. И., Маргитич В. М., Говсеєва Н. Н., Горідько Т. Н., Гула Н. М. Влияние углекислоты на свободнорадикальные процессы в условиях искусственного гипобиоза у крыс. *Укр. биохим. журн.* 1998. Т. 70, № 1. С. 87-94.
11. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Б. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1983. № 1. С. 16-18.
12. Переслегина И. А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей. *Лаб. дело*. 1989. № 11. С. 20-23.
13. Ванін А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях. *Вестн. РАМН*. 2000. № 4. С. 3-5.
14. Мойбенко О. О., Сагач В. Ф., Ткаченко М. М., Коркушко О. В., Безруков В. В., Кульчицкий О. К., та ін. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування захворювань. *Фізіол. журн.* 2004. № 1. С. 11-30.
15. Bredt D. S., Snyder D. S. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu. Rev. Biochem.* 1994. Vol. 63. P. 175-195.
16. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248-254.
17. Бебешко В. Г., Дягіль І. С., Клименко С. В., Мінченко Ж. М., Білий Д. О., Крячок І. А. [та ін.] Гематологічні ефекти в ранньому та віддаленому періодах після аварії на Чорнобильській АЕС. В кн. : *Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції*. За ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. Київ : ДІА, 2007. С. 327-355.
18. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. 2-е изд. Киев : *МОРИОН*, 2001. 408 с.
3. Khaspekov LG, Bobrov M. [Endogenous Cannabinoid System and its Protective Role in Ischemic and Cytotoxic Damage of Brain Neurons]. *Neurochemical Journal (Moscow)*. 2006;23(2):85-105. Russian.
4. Kindruk NL, Artamonov MV, Gula NM, Chumak AA. [Immunomodulating effect of N-stearoylethanolamine in irradiated rats]. *Problems of ecological and medical genetics and clinical immunology*. 2002;2(41);33-9. Ukrainian.
5. Artamonov MV, Zhukov OD, Horidko TM, Klimashevskiy VM, Martseniuk OP, Gula NM. [Effect of N-stearoylethanolamine on lipid components of microsomal liver and heart in rats by action of ionizing radiation]. *Ukr Biochem Zh.* 2003;75(4):81-90. Ukrainian.
6. Hula NM, Khmel TO, Klimashevskiy VM, Kulik GI, Todor IM. [N-stearoylethanolamine inhibits the growth and metastasis of carcinoma Lewis and modulating the lipid composition of lung tissue in mice carcinogenesis]. *Ukr Biochem Zh.* 2006;78(1):135-42. Ukrainian.
7. Baraboy VA, Orel VE, Karnaukh IM. [Peroxidation and radiation]. Kyiv: *Naukova dumka*; 1991. 54 p. Russian.
8. Ovsyannikova LM, Chumak AA, Kovalenko OM, Nosach OV, Aliokhina SM, Boiarska OYa. [The antioxidant system, oxidative modification of proteins and lipids in disorders of life in the late period after the Chernobyl accident]. In: *Vozianov OF, Bebesko VG, Bazyka DA, editors. Health effects of the Chernobyl Nuclear Power Plant accident*. Kyiv: DIA; 2007. p. 422-36. Ukrainian.
9. Vladimirov YA, Archakov AI. [Lipid peroxidation in biological membranes]. Moscow: *Nauka*; 1972. 252 p. Russian.
10. Melnychuk SD, Kuzmenko AI, Marhytych V, Govseeva NN, Horidko TN, Gula NM. [Effect carbonic acid on free-radical processes in conditions of artificial hypobiosis in rats]. *Ukr Biochem J.* 1998. - V. 70, № 1. - P. 87-94. Russian.
11. Koroliuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VB. [The method for determining catalase activity]. *Lab Dielo*. 1983;(1):16-8. Russian.
12. Pereslegina IA. [Activity of antioxidative enzymes of healthy children saliva]. *Lab Dielo*. 1989;(11):23-30. Russian.
13. Vanin AF. [Nitric oxide in biomedical research]. *Vestnik RAMS*. 2000;(4):3-5. Russian.
14. Moybenko AA, Sagach VF, Tkachenko MM, Korkushko OV, Bezrukov VV, Kulchytskyi OK, et al. [Study into basic mechanisms of the effects of nitric oxide on cardiovascular system as a basis for pathogenetic treatment of related diseases]. *Journal of Physiology (Kyiv)*. 2004;(1):11-30. Ukrainian.
15. Bredt DS, Snyder DS. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:175-95.
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7;72:248-54.
17. Bebesko VG, Dyagil IS, Klymenko SV, Minchenko ZhM, Bilyi DO, Kriachok IA, et al. [Hematologic effects of early and late period after the Chernobyl accident]. In: *Vozianov OF, Bebesko VG, Bazyka DA, editors. [Health effects of the Chernobyl Nuclear Power Plant]*. Kyiv: DIA; 2007. p. 327-55. Ukrainian.
18. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. [Statistical Methods in Medical and Biology Research Used with Excel]. 2nd edn. Kyiv: *MORYON*; 2001. 408 p. Russian.