

4. Райкис Б. Н., Казиев А. Х. Настоящее и будущее лечебных аллергенов. — М.: Триада-Х, 2001. — 247 с.

5. Mucosal tolerance as therapy of type allergy: intranasal application of recombinated Bet v 1, the major birch-pollen allergen, leads to the suppression of allergic immune responses and airway inflammation in sensitized mice / B. Winkler, B. Baier, S. Wagner et al. // Allergy. — 2002. — Vol. 32. — P. 30-36.

6. Якубке Х. Д. Аминокислоты, пептиды, белки. — М.: Наука, 1985. — С. 335-356.

7. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. — М.: Наука, 1983. — 358 с.

8. Романовская И. И., Давиденко Т. И., Пухлик С. М. Диагностичес-

кие полимерные пленки с новокаином и метиленовым синим // Вісн. ОНУ. — 2004. — Т. 9, № 3. — С. 108-113.

9. Иванов Ю. И., Погорелюк О. Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. — М.: Медицина, 1990. — 224 с.

10. Архипова Г. П., Лаврова И. Г., Трошина И. М. Некоторые современные методы статистического анализа в медицине. — М., 1971. — 76 с.

11. Литическая активность иммобилизованной стерилизы (литического ферментного комплекса *Streptomyces recifensis* var. *lyticus*) / Т. И. Давиденко, И. И. Романовская, М. А. Чуманова и др. // Хим.-фарм.

журн. — 2001. — Т. 35, № 10. — С. 14-17.

12. Романовская И. И., Давиденко Т. И. Иммобилизация аллергенов белка куриного яйца и домашней пыли // Доп. НАН України. — 2000. — № 1. — С. 160-164.

13. Пат. 4268А Україна, МПК 7 А61В 10/00 Спосіб специфічної імунотерапії алергічних ринітів / Б. М. Пухлик, С. М. Пухлік, Т. І. Давиденко, І. І. Романовська, Д. І. Заболотний (Україна). — № 2000074259; Заявл. 17.07.2000; Опубл. 15.10.2001.

14. Пухлик С. М., Романовская И. И., Давиденко Т. И. Клинико-экспериментальное исследование изготовления и применения иммобилизованных аллергенов в ринологии // Ринология. — 2002. — № 1. — С. 42-45.

УДК 535-36/547.456.623

О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, О. А. Багірова

## ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ТРАНСПОРТУ ГЛЮКОЗИ В ТОНКІЙ КИШЦІ НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ ТВАРИН

Одеський державний медичний університет

### Вступ

Сьогодні накопичено безліч даних про різноманітні вади розвитку у дітей, що народилися від опроміненних батьків: це порушення функцій сечостатевої системи, підвищення частоти загибелі після народження, порушення темпів росту, вади серця, помутніння кристалика, порушення пам'яті та здатності до асоціативного мислення, а також підвищена втомлюваність [1]. Вже через кілька років, коли вступить у життя покоління нащадків «чорнобильських дітей», можна очікувати на спалах спочатку домінуючих, а потім і рецесивних спадкових захворювань [2].

Тонка кишка, в якій відбуваються заключні процеси травлення та всмоктування мономерних нутрієнтів, однією з

перших реагує на опромінення: десквамацією ентероцитів, розшаруванням слизової оболонки, зміною ліпідного складу мембран ентероцитів, порушенням процесів спряження гідролізу та транспорту нутрієнтів, що призводить до глибоких порушень процесів асиміляції [3–6].

У зв'язку з наведеним дослідженням транспорту глюкози є однією з класичних моделей вивчення функціонального стану тонкої кишки як за фізіологічних умов, так і за умов стресу. Тому нами така модель була використана для пошуку соціально адаптованих препаратів рослинного походження як фармакологічних коректорів транспортних процесів у тонкій кишці нащадків тварин, які зазнали дії тотального  $\gamma$ -опромінення в низькій дозі.

**Мета** роботи: з'ясування можливості фармакологічної корекції транспорту глюкози в слизовій оболонці тонкої кишки нащадків опромінених тварин препаратом «Легалон» й екстрактами плодів розтопропші плямистої та квіток календули.

### Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на двомісячних щурах-самцях лінії Вістар, що утримувалися на стандартному раціоні віварію. У дослідах було використано кілька груп тварин:

- 1 — інтактні тварини;
- 2 — нащадки самців, опромінені у дозі 0,5 Гр ( $F_1$ );
- 3 — нащадки від  $F_1$  (тобто  $F_2$ ).

Слід зауважити, що використання у дослідах нащадків



**Акумуляція глюкози з її 10 ммоль/л розчину препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів — нащадків опромінених у дозі 0,5 Гр самців у присутності «Легалону» й екстрактів плодів розторопші плямистої та квіток календули,  $M \pm m$ , ммоль/(л·мг вогкої маси)**

Група дослідження	Контроль	Глюкоза+ розторопша	Глюкоза+ календула	Глюкоза+ «Легалон»
	1	2	3	4
Інтактна група, n=4	42,70±2,04	26,46±1,67 $P_{1-2} < 0,001$	17,12±1,36 $P_{1-3} < 0,001$	28,59±3,73 $P_{1-4} = 0,016$
Нащадки F <sub>1</sub> , n=5	40,55±2,54	29,44±3,80 $P_{1-2} = 0,041$	17,08±1,75 $P_{1-3} = 0,001$	31,55±2,37 $P_{1-4} = 0,039$
Нащадки F <sub>2</sub> , n=4	51,59±4,65	30,99±1,28 $P_{1-2} = 0,005$	19,96±1,18 $P_{1-3} < 0,001$	35,90±5,12 $P_{1-4} = 0,064$

Таблиця 2

**Маса тіла тварин інтактної групи та тварин-нащадків F<sub>1</sub> та F<sub>2</sub> опромінених самців, г**

Група	Маса тіла	P
1. Інтактні тварини, n=4	69,93±4,54	1-3 = 0,007
2. Нащадки F <sub>1</sub> , n=5	89,90±3,88	1-2 = 0,012
3. Нащадки F <sub>2</sub> , n=4	48,88±2,59	2-3 < 0,001

саме опромінених самців зумовлене більшою вразливістю їх статевих клітин (особливо якщо опромінення здійснено на стадії сперматогоніїв), ніж яйцеклітин самиць [7].

Акумуляційний препарат слизової оболонки (АПС) виготовляли за методом О. М. Уголева і співавторів [8]. Як субстрату використовували розчин 10 ммоль/л глюкози, який виготовляли на розчині Рінгера рН=7,4. Інкубували АПС протягом 1 год при 37 °С в оксигенованому середовищі. У контрольних групах АПС як інкубаційне середовище використовували 10 ммоль/л розчин глюкози, в інших групах до нього додавали висушений водно-спиртовий екстракт плодів розторопші плямистої *Silybum marianum* (L.) Gaertner або квіток календули (*Calendula officinalis* L.), виготовлені за методом [9], або «Легалон» (70 мг/120 мл розчину субстрату) відповідно. Екстракт квіток календули використовували як препарат порівняння, оскільки їй, як і розторопші, притаманні репаративні властивості. Концентрацію глюкози визначали антроновим методом [10] колориметрично на КФК-2МП,  $\lambda=625$  нм.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за програмою "Primer Biostatistics".

### Результати дослідження та їх обговорення

Зіставлення контрольних показників транспорту глюкози в усіх експериментальних групах показало відсутність істотних розбіжностей між інтактними тваринами і нащадками опромінених самців (F<sub>1</sub>) — в обох випадках спостерігався 4-кратний протигradientний транспорт глюкози (табл. 1). При цьому слід зауважити, що маса тіла нащадків F<sub>1</sub> була вищою, ніж у інтактних тварин, на 28 % ( $P < 0,012$ ) (табл. 2). Натомість у нащад-

ків опромінених самців у другому поколінні (F<sub>2</sub>) спостерігалось 5-кратне накопичення глюкози порівняно з її концентрацією в інкубаційному середовищі (див. табл. 1), але маса тіла цих тварин була на 30 % нижчою, ніж в інтактних тварин ( $P < 0,007$ ) і на 58,7 % — ніж у тварин F<sub>1</sub> ( $P < 0,001$ ) (див. табл. 2).

Таким чином, якщо у тварин F<sub>1</sub> не зафіксовано порушень роботи глюкозних транспортних систем, то у тварин F<sub>2</sub> незначне підвищення активності транспорту глюкози (приблизно на 20 %) відбувалося на фоні катастрофічно низької маси тіла (див. табл. 2). Крім того, у контрольній групі тварин F<sub>2</sub> спостерігалось чимале збільшення розбіжностей показників транспорту глюкози (майже удвічі порівняно з групою інтактних тварин і F<sub>1</sub>). Такі розбіжності тим більше впадають у вічі, що нащадки F<sub>2</sub>, отримані від одних батьків у одному і тому самому виводку, дуже близькі генетично і за логікою повинні б мати незначні відмінності у функціону-

ванні глюкозних транспортних систем. Проте отримані дані свідчать про протилежне. Можливо, це відображає порушення функцій тонкої кишки і системи регуляції всмоктування в цілому, що є наслідком негативного впливу низької дози радіації на геномний апарат батьків, і проявляються ці зміни в F<sub>2</sub>.

Незважаючи на те, що в експериментах *in vitro* використовуються переживаючі препарати кишки, її було отримано у тварин, які на момент екстирпації кишки перебували на різних індивідуальних рівнях регуляторної активності. Тому виявлені відмінності між показниками в контрольній групі інтактних тварин і контрольній групі тварин F<sub>2</sub> можуть свідчити про розбалансованість регуляторних механізмів всмоктування на момент загибелі тварини. На користь цієї думки свідчить також той факт, що при зниженні маси тіла тварин F<sub>2</sub> майже удвічі порівняно з F<sub>1</sub> слід було б очікувати компенсаторно удвічі більшої ак-



тивності глюкозної транспортної системи, проте цього не відбувається, тобто порушення асиміляції є настільки глибокими, що організм не в змозі адаптуватися до них і компенсувати їх. Про це свідчать і інші ознаки гіпотрофії у тварин  $F_2$  (слабке оволодіння, млявість).

Стосовно впливу рослинних екстрактів на транспорт глюкози треба зазначити, що у присутності екстракту плодів розторопші плямистої транспорт глюкози з її 10 ммоль/л розчину в інтактній групі тварин знижувався на 38 % порівняно з контролем (див. табл. 1;  $P < 0,001$ ), тимчасом як у тварин  $F_1$  транспорт гальмувався на 27 % (див. табл. 1;  $P = 0,041$ ). Зниження ступеня вірогідності відбувалося за рахунок великих розбіжностей показників транспорту глюкози у тварин  $F_1$  (див. табл. 1). Мабуть, це відображає порушення адаптаційної здатності систем ентероцитів у нащадків опромінених тварин у першому поколінні. Реакція організму на використання БАР, що містять антиоксиданти, вочевидь залежить від того, на якому рівні регуляції ця система знаходилася в даний момент. Якщо вона функціонує у максимумі активності, то введення великої дози антиоксидантів може справляти прооксидантний ефект [11]. Таким чином, антиоксиданти можуть знижувати компенсаторні можливості глюкозних транспортних систем ентероцитів за рахунок безпосереднього впливу на мембрани щіткової облямівки ентероцитів [12]. У першому та другому поколінні нащадків опромінених тварин екстракт розторопші гальмував транспорт глюкози в ентероцити у тій же мірі, що і в інтактних тварин. Останнє підтверджує, що використання екстракту плодів розторопші плямистої стабілізувало роботу глюкозної транспортної системи незалежно від фізіологіч-

ного стану тварини, навіть на фоні значних порушень метаболічних процесів. Раніше було продемонстровано значний гальмівний вплив флавоноїдів (папаверину, катехінів чаю) на функціонування глюкозних транспортних систем ентероцитів [13], тому такий вплив у наших експериментах був очікуваним.

На відміну від екстракту розторопші, екстракт календули справляв більш значний гальмівний вплив на транспорт глюкози в усіх досліджуваних групах приблизно однаково: на 59 % — у інтактних тварин, на 58 % — у тварин  $F_1$  і на 61 % — у тварин  $F_2$  (див. табл. 1). Особливо слід відзначити надзвичайно низькі розбіжності показників транспорту глюкози у присутності екстракту календули порівняно з контролем  $F_2$  — майже у 4 рази. Це свідчить про незмінний стабілізуючий гальмівний вплив екстракту календули на роботу глюкозної транспортної системи навіть на фоні глибоких порушень метаболічних процесів, ймовірно, за рахунок стабілізуючого ефекту каротиноїдів, тропних до ліпідної фракції мембран.

В інтактних тварин присутність «Легалону» в інкубаційному середовищі вірогідно гальмувала транспорт глюкози на 33 % ( $P = 0,016$ ), що дещо менше, ніж гальмування екстрактом розторопші (38 %), проте ця відмінність не була вірогідною через великі розбіжності між показником транспорту глюкози у присутності «Легалону» порівняно з таким у присутності екстракту розторопші (більш ніж удвічі). У нащадків опромінених тварин  $F_1$  присутність «Легалону» в інкубаційному середовищі вірогідно гальмувала транспорт глюкози порівняно з контролем ( $P = 0,039$ ) (див. табл. 1), проте менш інтенсивно (на 22 %). Отже, гальмівний ефект «Легалону» й екстракту розто-

ропші був пропорційно нижчим у тварин  $F_1$  порівняно з інтактною групою (приблизно на 11 %). У тварин  $F_2$  транспорт глюкози у присутності «Легалону» не відрізнявся від такого у присутності екстракту розторопші, при цьому транспорт гальмувався на 40 % в обох випадках. Проте екстракт плодів розторопші справляв стабілізуючий гальмівний вплив, значно знижуючи розбіжності порівняно з даними контролю  $F_2$ , тимчасом як у групі кишкових препаратів, що інкубувались у присутності «Легалону», розбіжності практично збігалися з показниками у контрольній групі  $F_2$  (див. табл. 1). Можливо, ця відмінність зумовлена наявністю амінокислот і поліненасичених жирних кислот у складі екстракту розторопші, які нівелюють структурні та функціональні зрушення в мембранах щіткової облямівки ентероцитів.

Таким чином, порівняння показників транспорту глюкози з її 10 ммоль/л розчину в інтактних тварин і нащадків опромінених тварин ( $F_1$  і  $F_2$ ) показало порушення адаптивних і компенсаторних механізмів у тварин  $F_2$ , що проявилось у катастрофічно низькій масі тіла тварин і неадекватній активності глюкозної транспортної системи ентероцитів. Завдяки цьому гальмівний вплив «Легалону» на транспорт глюкози порівняно з групою інтактних тварин був більш виразним, що привело до перерозподілу гальмівного впливу усіх ефекторів на користь «Легалону» в групі  $F_2$ , внаслідок чого його гальмівний ефект зрівнявся з ефектом розторопші.

За деякими даними [14; 15], віддалені наслідки опромінення проявляються у закріпленні патологічних зрушень на рівні популяції нащадків у вигляді змін співвідношення гомеостазу і розвитку. Згідно з законом Б. І. Іскакова, генетичний запас міцності популяції стано-



вить 3 біопокоління (кожне покоління — від нащадків до нових нащадків) [2].

Те, що тварини  $F_1$  мали більшу масу порівняно з інтактними, можна пояснити індукцією захисних (репаративних й адаптивних) систем організму, що переважило безпосередній прямий вплив опромінення на функціональні підсистеми, тимчасом як у контролі  $F_2$  великі розбіжності можуть бути зумовлені гетерогенністю відповіді компенсаторних систем на низькоінтенсивне опромінення [14], а те, що активність транспортної системи для глюкози була вищою лише на 20 % на фоні гіпотрофії, відображає особливості впливу низьких доз. Вони викликають менш інтенсивну індукцію репаративних систем порівняно з вищими дозами, до того ж реакція виникає із запізненням, коли в організмі вже з'явилися радіаційні uszkodження [14].

Стосовно корекції функціонування глюкозних транспортних систем ентероцитів слід зауважити, що у нащадків опромінених тварин спрямованість впливу рослинних екстрактів залишається незмінною порівняно з інтактними тваринами. Відмінності є лише у величинах цього впливу та розбіжностях у групах. Зважаючи на те, що за умов *in vitro* транспортні системи ентероцитів позбавлені нейрогуморальної регуляції, для відтворення повної картини необхідно відстежувати коригувальний вплив рослинних екстрактів на всмоктування глюкози в умовах цілісного організму *in vivo*, що має бути досліджено в наступних експериментах.

## Висновки

1. Не визначено вірогідних відмінностей між показниками транспорту глюкози з її 10 ммоль/л розчину в контрольних групах інтактних тварин й нащадків  $F_1$  і  $F_2$  від опромінених самців.

2. Виявлена значна гіпотрофія тварин — нащадків  $F_2$  від опромінених самців — удвічі порівняно з інтактними тваринами і нащадками  $F_1$ .

3. Присутність в інкубаційному середовищі екстракту плодів розторопші плямистої справляла стабілізуючий ефект на роботу транспортної системи ентероцитів тонкої кишки нащадків  $F_2$ , на відміну від екстракту квіток календули, який справляв незмінний гальмівний вплив — значно більш суттєвий від екстракту плодів розторопші. Гальмівний ефект «Легалону» в нащадків  $F_1$  був менш стабільним, ніж ефект екстракту розторопші, тимчасом як у нащадків  $F_2$  не відрізнявся від нього і становив 40 %.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Давидова Ю. В. Современные аспекты проблемы — ионизирующее излучение и беременность // Укр. мед. часопис. — 1998. — № 2 (4). — С. 17-21.

2. Барилляк І. Р., Бердишев Г. Д., Бонь О. В. Генофонд народонаселення України: сучасний стан та нові підходи до проблеми захисту і збереження // Цитология і генетика. — 2001. — № 3. — С. 69.

3. Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. — Л.: Наука, 1995. — 543 с.

4. Влияние ионизирующей радиации на структуру и функциональные свойства базолатеральной мембраны энтероцитов тонкого кишечника / С. В. Хижняк, А. А. Бублик, Е. А. Кисиль и др. // Радиационная биология. Радиозология. — 1999. — Т. 39, № 6. — С. 644-647.

5. Крамаренко О. О., Кузнецова І. В., Маслова Н. Ф. Вивчення ензимкомпенсуючих властивостей нового ферментного комплексу на моделі радіаційного ентериту у щурів // Експерим. та клін. фізіол. і біологія. — 2001. — № 1. — С. 30-32.

6. Клевета Г. Я., Чайка Я. П., Старикович Л. С. Активність ферментів антиоксидантної системи ентероцитів тонкого кишечника щурів за хронічного впливу рентгенівського опромінювання низької інтенсивності // Укр. біохім. журнал. — 2002. — Т. 74, № 46 (додаток 2). — С. 223.

7. Коненков В. И., Труфакин В. А. Генетические различия в реакции иммунной системы человека и экспериментальных животных на радиационные воздействия // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2002. — Т. 133, № 3. — С. 312-316.

8. Уголев А. М., Жигуре Д. Р., Нуркс Е. Е. Аккумулирующий препарат слизистой — новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку // Физиол. журн. СССР. — 1970. — Т. 56, № 11. — С. 1638-1641.

9. Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. Спосіб корекції функціонального стану транспортних систем тонкої кишки // Декл. патент на корисну модель. — (11) 10460. — (51) 7 А61К35/78, А61Р1/00. — (46). 15.11.2005. Бюл. № 11.

10. Scott T. A., Melvin E. H. The determination of hexoses with antrone // Analyt. Chem. — 1953. — N 25. — P. 1656-1658.

11. Динаміка перекисного окиснення ліпідів у крові та органах щурів за опромінення в низьких дозах та ефект антиоксидантів / В. А. Барабой, С. А. Олійник, І. О. Блюм та ін. // Укр. біохім. журнал. — 1994. — Т. 66, № 5. — С. 39-47.

12. Жиринокислотний склад фосфоліпідів мембран щіткової облямівки тонкого кишечника після дії іонізуючої радіації / В. М. Войцицький, Л. І. Степанова, В. І. Гаврилей та ін. // Укр. біохім. журнал. — 2001. — Т. 73, № 5. — С. 206.

13. Багірова О. А. Гальмівний вплив природних і синтетичних ароматичних гетероциклічних сполук на транспорт вуглеводів у препаратах тонкої кишки пацюків: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Одеса, 1994. — 22 с.

14. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах / Е. Б. Бурлакова, А. Н. Голощанов, Г. П. Жижина, А. А. Конрадов // Радиационная биология. Радиозология. — 1999. — Т. 39, № 1. — С. 26-34.

15. Зміни в імунній системі експериментальних тварин внаслідок постійного опромінювання кількох поколінь у зоні відчуження ЧАЕС / З. Д. Савцова, І. М. Воєйкова, В. М. Індик та ін. // Укр. радіологіч. журнал. — 2000. — № 8. — С. 71-76.

