

О. О. Маркова, В. К. Напханюк, В. О. Ульянов

# МОЖЛИВОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ПОПЕРЕДНИКІВ

Одеський державний медичний університет

Однією з актуальних проблем сучасної медичної науки є розробка шляхів регуляції метаболічних процесів в організмі людини та тварин, які зазнали негативного впливу факторів навколишнього середовища. Особливо актуальність цієї проблеми зросла у зв'язку з погіршенням в останні 20 років екологічної ситуації в Україні внаслідок аварії на ЧАЕС, яка призвела до забруднення радіонуклідами значної території. При цьому тривалого впливу іонізуючої радіації зазнавали люди, які мешкають на забруднених територіях. Такий несприятливий стан екології та соціально-побутових умов проживання сприяли поширенню серед населення різних видів соматичної патології [1; 2]. Слід також наголосити, що більшість людей, які зазнали дії тривалого  $\gamma$ -опромінення, були працездатного та дітородного віку і при цьому різко зросла кількість сімей, де чоловіки і жінки зазнали негативного впливу іонізуючої радіації [3]. Останнім часом у літературі з'явилися роботи [4], які свідчать про те, що тривалий вплив іонізуючої радіації на батьків негативно позначається на здоров'ї наступного покоління. Але, на жаль, нині практично відсутні дані, що торкалися б розробки можливих напрямків фармакологічної корекції та запобігання виникненню вад розвитку у цих поколіннях.

**Мета роботи:** з'ясувати можливості використання «Тіотриазоліну» та «Берлітіону» в опроміненних перед спарюванням самців і самок щурів для запобігання зрушенням енергетичного обміну в тканинах печінки покоління, отриманого від цих тварин.

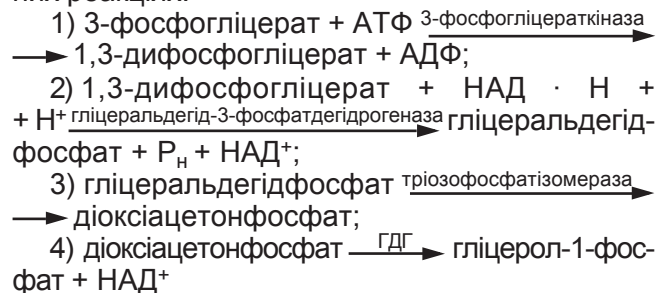
## Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 120 щурах лінії Вістар віком від 2 днів до 24 міс і 15–18-денних зародках. Відповідно до мети дослідження усіх тварин було розподілено на 3 групи: 1) інтактні тварини (контроль); 2) тварини, отримані від самців і самок, які перед спарюванням зазнали тривалого впливу  $\gamma$ -опромінення дозою 1,0 Гр; 3) тварини, отримані від самців і самок, яким після тривалого впливу  $\gamma$ -опромінення вводили перед спарюванням «Тіотриазолін» і «Берлітіон». Усі експерименталь-

ні тварини утримувались у стандартних умовах виварію ОДМУ. Дослідження проведені з дотриманням науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5] і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей».

Опромінення експериментальних тварин проводили на  $\gamma$ -терапевтичній установці АГАТ-Р при потужності дози 107 Рад/хв.; відстані від джерела до поля 75 см. Разова доза становила 0,1 Гр при експозиції 6 с; опромінення проводили кожні 72 год до досягнення сумарної дози 1,0 Гр. Після закінчення  $\gamma$ -опромінення самцям і самкам протягом 12 діб внутрішньочеревинно вводили «Берлітіон» із розрахунку 7,5 мг/кг маси тіла. «Тіотриазолін» вводили 1 раз на добу внутрішньовенно з розрахунку 9 мг/кг маси тіла тварини. Спарювання тварин проводили через 12 діб після завершення опромінення. В отриманих нащадків визначали вміст макроергічних сполук на 2-гу, 14, 30, 90-ту добу, 6, 12 та 24-й місяці життя, а також у зародків. Кожній експериментальній групі відповідав одновіковий контроль. Тварин забивали шляхом швидкої декапітації, розтинали черевну порожнину вилучали печінку, гомогенізували її та визначали вміст макроергічних сполук.

Кількісне визначення вмісту аденилових нуклеотидів у супернатантах гомогенатів тканин печінки проводили спектрофотометрично. Принцип методу визначення АТФ полягав у послідовних реакціях:



зменшується концентрація АТФ. Кількість АТФ, що прореагувала у фосфогліцераткіназній реакції, еквімолярна зменшенню вмісту НАД · Н, який реєструвався спектрофотометрично [6].



Динаміка вмісту макроергічних сполук у печінці нащадків інтактних і опромінених щурів, М±m; n=5; мкмоль/г тканин печінки

Вік тварин	Інтактні тварини			Тварини, отримані від опромінених самців і самок, які не отримували корекції			отримували корекцію		
	АМФ	АДФ	АТФ	АМФ	АДФ	АТФ	АМФ	АДФ	АТФ
Зародки	0,390±0,028	0,750±0,025	0,920±0,051	0,410±0,016	0,550±0,027*1	0,710±0,045*1	0,470±0,009*1,2	0,700±0,041*2	0,950±0,054*2
2 доби	0,460±0,017*3	0,850±0,041*3	1,150±0,036*3	0,670±0,022*1,3	0,550±0,035*1	0,790±0,041*1	0,770±0,024*1,2,3	0,860±0,029*2,3	1,130±0,028*2,3
14 дів	0,520±0,019*3	0,960±0,032*3	1,28±0,06*3	0,570±0,014*1,3	0,660±0,029*1,3	0,770±0,034*1,3	0,660±0,013*1,2,3	1,170±0,038*1,2,3	1,550±0,085*1,2,3
30 дів	0,610±0,023*3	1,060±0,027*3	1,420±0,038*3	0,400±0,027*1,3	0,690±0,015*1	0,900±0,053*1,3	0,890±0,044*1,2,3	1,490±0,035*1,2,3	2,04±0,12*1,2,3
3 міс	0,640±0,031	1,130±0,062	1,540±0,054	0,380±0,008*1	0,670±0,027*1	0,850±0,033*1	0,700±0,042*2,3	1,230±0,028*2,3	1,620±0,037*2,3
6 міс	0,640±0,016	1,150±0,023	1,520±0,081	0,350±0,019*1	0,620±0,026*1	0,800±0,043*1	0,680±0,018*2	1,210±0,061*2	1,600±0,064
12 міс	0,370±0,007*3	0,670±0,029*3	0,890±0,045*3	0,390±0,023	0,340±0,017*1,3	0,450±0,026*1,3	0,370±0,026*3	0,690±0,018*2,3	0,910±0,037*2,3
24 міс	0,310±0,006*3	0,590±0,008*3	0,700±0,038*3	0,340±0,027	0,260±0,005*1,3	0,290±0,009*1,3	0,240±0,015*1,2,3	0,440±0,026*1,2,3	0,530±0,019*1,2

Примітка. \*1 — P<0,05 порівняно з інтактними тваринами; \*2 — P<0,05 порівняно з нащадками опромінених тварин, які не отримували «Берлітрон» і «Тіотріазолін»; \*3 — P<0,05 порівняно з попередньою віковою групою.

Суть методу, за яким визначався вміст АДФ і АМФ, полягає в тому, що на першому етапі:

1) АДФ + фосфоенолпіруват  $\xrightarrow{\text{піруваткіназа}}$  АТФ + піруват;

2) піруват + НАД · Н + Н<sup>+</sup> лактат-ДГГ  $\rightarrow$  НАД<sup>+</sup> + лактат; у результаті піруваткіназної реакції реєструвалося зменшення вмісту НАД · Н, еквімолярне кількості АДФ, а на другому етапі:

3) АМФ + АТФ  $\xrightarrow{\text{міокіназа}}$  2 АДФ.

У результаті міокіназної реакції — 1/2 АМФ (на 1 мкмоль АМФ утворюється 2 мкмолі НАД<sup>+</sup>) [7]. Вміст АМФ, АДФ і АТФ виражали в мікромольях на грам тканин печінки.

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що вміст макроергічних сполук у печінці інтактних щурів зазнає істотних коливань у різні вікові періоди. Мінімальна кількість АМФ, АДФ і АТФ спостерігалася у зародків та літніх щурів віком 12 і 24 міс. Що стосується зародків, то це може пояснюватися меншими енерговитратами. У щурів 12- та 24-місячного віку це пов'язано зі збільшенням інтенсивності процесів, які лежать в основі загальнобіологічного процесу старіння.

Починаючи з другої доби після народження і до досягнення щурами статевої зрілості, спостерігалася поступове зростання вмісту макроергічних сполук у печінці інтактних щурів. Максимальне збільшення вмісту АМФ, АДФ і АТФ відповідно на 17,9; 13,3 і 25 % спостерігалася у дводенних щурят порівняно з зародками. На нашу думку, це пов'язано з необхідністю пристосування до нових умов життєдіяльності після народження. Надалі, з другого дня після народження до 14-ї доби постнатального розвитку, зростання вмісту АМФ, АДФ і АТФ відбувалося більш повільно. Можливо 14-та доба, яка є межею періоду новонародженості, є менш критичною і потребує менших енергетичних затрат. Надалі, з 14-ї до 30-ї доби життя, вміст макроергічних сполук у печінці зростав з такою ж інтенсивністю, як і в попередній проміжок часу. Це зростання збігається з початком статевого дозрівання. В період з 1-го до 3-го місяця життя виявлена лише тенденція до зростання вмісту АМФ, АДФ і АТФ у печінці. Сталим вмістом макроергічних сполук характеризувався і період з 3-го до 6-го місяця життя, тобто період статевої зрілості (таблиця).

Нарешті на 12-му місяці життя інтактних щурів тканини печінки містили менше АМФ, АДФ і АТФ відповідно на 42,2; 41,7 та 41,4 %, ніж у віці 6 міс. У свою чергу, в 24-місячних щурів порівняно з 12-місячними вміст у печінці АМФ, АДФ і АТФ був меншим на 16,2; 11,9 та 21,3 % відповідно.



Надалі порівнювали динаміку вікових змін вмісту макроергічних сполук у тканинах печінки інтактних щурів із такою у тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням самців і самок щурів. У результаті проведених досліджень виявилось, що в усі досліджувані вікові періоди вміст АДФ і АТФ у печінці нащадків опромінених щурів був меншим, ніж у інтактних тварин. Максимальні відмінності спостерігалися на 24-му місяці життя, коли вміст АДФ і АТФ був нижчим у нащадків радіаційно уражених щурів на 55,9 та 58,6 % відповідно. Але найсуттєвішим є те, що відрізнялася від інтактних щурів динаміка змін вмісту макроергічних сполук на різних етапах онтогенезу нащадків опромінених тварин. Так, на другу добу життя таких тварин спостерігалось зменшення вмісту АТФ на 31,3 %, АДФ — на 35,3 %, що супроводжувалося зростанням вмісту АТФ на 45,7 %. На нашу думку, це є ознакою більших енерговитрат у зв'язку з пристосуванням до нових умов існування у нащадків опромінених щурів.

На 14-ту добу після народження, порівняно з 2-ю, у нащадків опромінених щурів вміст АМФ зменшувався на 14,9 %, а АДФ зростав на 20 %, вміст АТФ не зазнав істотних змін. На 30-ту добу життя спостерігалось зростання кількості АТФ, зменшення АМФ, разом із відсутністю динаміки у кількості АДФ. При досягненні статевої зрілості у тримісячному віці тканини печінки містили таку ж кількість АМФ, АДФ і АТФ, як і у 30-денному віці.

Виявлені відмінності динаміки вікових змін вмісту макроергічних сполук у тканинах печінки ставлять два принципові питання: причини, які лежать в основі цих відмінностей і наслідки для розвитку нащадків опромінених щурів. Щодо останнього питання, то, на нашу думку, в першу чергу має значення недостатній вміст АТФ у тканинах печінки на 2-гу, 14-ту, 30-ту добу після народження, що свідчить про недостатнє енергозабезпечення організму в період новонародженості, статевого дозрівання. Не виключено, що це може призвести до виникнення захворювань, загибелі щурят у перші дні після народження, виникнення гормональних дисфункцій, порушень у статевому дозріванні, що в свою чергу може негативно відобразитися на репродуктивній функції нащадків опромінених щурів. Але найбільш загрозливим, на нашу думку, є порівняно повільне зростання вмісту АТФ у період з 2-ї доби життя до 3-го місяця, що може вказувати на функціональну нездатність метаболічних систем організму, які відповідають за підтримання вмісту АТФ у клітинах на належному рівні.

Що стосується причин виявлених зрушень, то на початкових етапах онтогенезу їх можна пояснити впливом тривалого  $\gamma$ -опромінення на організм попередників перед спарюванням, до-

речно згадати, що при спарюванні на 12-ту добу після опромінення в заплідненні візьме участь одна з найбільш радіочутливих комбінацій статевих клітин [8]. Не виключено, що й організм опромінених самок не встигне повністю відновитися, тому перебіг вагітності відбуватиметься за умов, відмінних від фізіологічних. Що стосується збереження змін вмісту макроергічних сполук у статевозрілих і старих нащадків опромінених щурів, то поясненням цього може бути радіаційно-індукована нестабільність геному, яка може проявлятися не тільки в першому, а й у подальших поколіннях опромінених ссавців [4].

Природно, що виявлені порушення потребують корекції, але через їх збереження практично впродовж усього онтогенезу більш ефективною є профілактика їх виникнення взагалі. Враховуючи можливий спадковий характер виявлених зрушень, механізми впливу іонізуючого опромінення на організм, зрушення в печінці нащадків опромінених щурів, а також безпосередньо опромінених тварин [9], значення печінки як «метаболічного мозку» [10] організму для функціонування всіх систем організму і репродуктивної зокрема, для профілактики виявлених зрушень нами було обрано препарати з антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями [11].

У сукупності отримані дані свідчать про те, що застосування «Тіотріазоліну» і «Берлітіону» завдяки їх властивостям дозволяє запобігти негативним змінам у печінці на різних етапах онтогенезу нащадків опромінених щурів. Застосування комбінації цих препаратів сприяє переважанню вмісту макроергічних сполук у печінці нащадків опромінених щурів порівняно з тваринами, отриманими від опромінених самців і самок, які не вживали профілактичних засобів. Якщо порівнювати нащадків, отриманих від опромінених тварин, яким давали «Тіотріазолін» і «Берлітіон», з інтактними тваринами, то привертає увагу таке: у зародків 6 і 12-місячних щурів досліджувані показники не відрізнялися від таких у інтактних щурів. У період із 12-го до 24-го місяця відбувалось різке падіння вмісту АМФ, АДФ і АТФ порівняно з інтактними на 22,6; 25,4 і 24,3 % відповідно. У свою чергу в період із 2-ї доби до 6-го місяця життя у нащадків опромінених тварин, які вживали зазначені препарати, в тканинах печінки містилася більша кількість АМФ, АДФ і АТФ.

Загалом це свідчить про те, що комбінація препаратів «Берлітіон» і «Тіотріазолін» запобігає реалізації у нащадків негативного впливу  $\gamma$ -опромінення їх попередників перед спарюванням. Якщо виявлені зрушення у нащадків опромінених щурів дійсно є проявами радіаційно-індукованої нестабільності геному, то, як відомо, нестабільність може реалізуватись або через пристосування до нових умов існування, або



через збільшення вірогідності пухлинної трансформації [4]. Тоді зрозумілими є ефекти вживання «Берлітіону» і «Тіотріазоліну». Вони сприяють адаптації організму до нових умов існування. Хоча, вочевидь, ця адаптація не є повною та досконалою. Адже відбувається різке падіння вмісту макроергічних сполук у період з 12-го до 24-го місяця життя тварин, отриманих від опромінених щурів, які вживали «Берлітін» і «Тіотріазолін».

### Висновки

1. Тривале  $\gamma$ -опромінення самців і самок щурів перед спарюванням призводить до порушень вікової динаміки вмісту макроергічних сполук у печінці їх нащадків.

2. Використання «Тіотріазоліну» і «Берлітіону» після опромінення перед спарюванням зменшує, але не виключає негативних проявів  $\gamma$ -опромінення щурів у організмі їх нащадків першого покоління.

**Перспективи подальших досліджень:** необхідно з'ясувати, чи є зміни в динаміці вмісту макроергічних сполук у тканинах печінки нащадків опромінених щурів проявами радіаційно-індукованої нестабільності геному, а також механізми її реалізації та подальша розробка засобів попередження.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Омельчук С. Т. Морфологическое обоснование необходимости проведения мониторинга здоровья населения Украины в зависимости от экологической ситуации // Довкілля та здоров'я. — 2000. — № 4. — С. 8-12.

2. Гриневич Ю. А., Демина Е. А. Иммуные и цитогенетические эффекты плотно- и редкоизионизирующих излучений. — К.: Здоров'я, 2006. — 200 с.

3. Бариліак І. Р., Бердишев Г. Д., Бонь О. В. Генетический фон населения Украины: современный стан та нові підходи до проблеми захисту і збереження // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 35, № 3. — С. 66-71.

4. Мазурик В. К., Михайлов В. Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2001. — Т. 41, № 3. — С. 272-289.

5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. — К.: Авіценна, 2002. — 156 с.

6. Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer H. U. Adenosin-5'-triphosphat. Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase // Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemic Weinheim, 1974. — S. 2147-2151.

7. Yaworek D., Gruber W., Bergmeyer H. U. Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat Bestimmung mit 3-phosphoglycerat-kinase // Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemic Weinheim, 1974. — S. 2178-2181.

8. Нефедов И. Ю., Нефедова И. Ю., Палыга Г. Ф. Некоторые методологические аспекты экспериментального моделирования и оценки наследственных последствий облучения одного и обоих родителей // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1996 — Т. 36, № 6. — С. 912-920.

9. Ульянов В. О., Напханюк В. К. Морфофункциональные нарушения в тканях печени щуров, опроминенных у малых дозах // Одес. мед. журнал. — 2004. — № 2. — С. 27-29.

10. Половая дифференцировка функций печени / В. Б. Розе, Г. Д. Матарадзе, О. В. Смирнова, А. Н. Смирнов. — М.: Медицина, 1991. — С. 336.

11. Барабой В. А. Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс, 2006. — 462 с.

УДК 616.379-008.64-[092.9]-085.357:577:175.734

Ю. В. Цісельський

## ВПЛИВ ФІТОПРЕПАРАТІВ НА АКТИВНІСТЬ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ ПЕЧІНКИ І СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ

Одеська обласна клінічна лікарня

### Вступ

У патогенезі цукрового діабету вирішальну роль відіграє гіперглікемія, при якій підвищений рівень глюкози виступає як токсичний фактор [1; 2]. Обме-

ження харчових вуглеводів не завжди ефективно в зв'язку з тим, що в печінці відбувається біохімічний процес глюконеогенезу, тобто утворення глюкози з амінокислот, гліцерину, пропіонової кислоти [3]. Загальна кіль-

кість глюкози, яка утворюється в процесі глюконеогенезу, становить понад 250 г за добу [4].

Ключовим ферментом глюконеогенезу є фруктозо-біс-фосфатаза [КФ 3.1.3.11], яка гідролізує D-фруктозо-1,6-бісфосфат.

