

О. В. Сторчило

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ТОНКОЇ КИШКИ НАЩАДКІВ ДВОХ ПОКОЛІНЬ ВІД ОПРОМІНЕНИХ НАТЩЕ САМЦІВ ЩУРІВ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 612.332:387+591.1+57.017.35

О. В. Сторчило

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ ПОТОМСТВА ДВУХ ПОКОЛЕНИЙ ОБЛУЧЕННЫХ ГОЛОДНЫМИ САМЦОВ КРЫС

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Опасность радиационного облучения состоит в возможном влиянии на состояние здоровья не только самого человека, но и его потомства в виде генетических последствий. Определенная часть генетических болезней (примерно 56 % от первого поколения) проявляется во втором поколении. Целью работы стало исследование параметров функциональной активности потомства 2-го поколения от облученных голодными самцов крыс и сравнение их с соответствующими параметрами у потомства 1-го поколения.

Обнаружено, что облучение самцов-предшественников в наибольшей степени поражает гидrolитические системы тонкой кишки их потомков, при этом последствия облучения родителей проявляются у потомства их 1-го поколения для систем гидролиза субстратов только белкового происхождения, тогда как во 2-м поколении последствия облучения касаются систем гидролиза субстратов — производных не только белков, но и (прежде всего) углеводов.

Ключевые слова: тонкая кишка, потомство 1-го и 2-го поколения облученных самцов крыс.

UDC 612.332:387+591.1+57.017.35

O. V. Storchilo

FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE SMALL INTESTINE FROM THE TWO GENERATIONS OFFSPRINGS OF THE HUNGRY IRRADIATED MALE RATS

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Damage of irradiation affects not only a definite person health, but his offspring in the form of genetic diseases as well. Approximately 56% of genetic diseases appear in the second generation. This research aim is an investigation functional activity of the small intestine from the 2-nd posterity of the irradiated male and intact female rats and comparison with the corresponding parameters of their 1st posterity.

Methods. The intact 2-months-old 2-nd male posterity of the irradiated by 0.5 Gr male rats was used. The accumulated fragments of small intestine mucosa from this posterity were incubated in the different substrates solutions due to the 1 hour in the oxygenated medium ($t = 37^\circ\text{C}$) according to O. M. Ugolev method. All substrates were prepared on the Ringer solution in the presence of bile. The hydrolytic and absorptive activity of the 2-nd posterity small intestine was detected.

Results. The level of the free glucose transport into the small intestine of the 2-nd posterity from the irradiated male rats was approximately the same with the same parameter for the intact group. It evidences not only high level of stability of glucose transport system and adaptive ability under changed environmental condition but adequacy of method and level of experiment. But the level of transport of M-glucose (product of maltose hydrolysis) was lower in F_2 then in F_1 in 25% and 3 times less unstable despite on the bigger amount of animals in the group (10 to 5 correspondingly). We suppose the different mechanisms for the transport of M-glucose and free glucose.

The level of free glycine transport in F_2 group was by 42% less in comparison with F_1 and by 22% less stable, but only by 6% less stable than in intact group on the same level of stability. The level of the transport of P-glycine (product of glycyL-glycine hydrolysis) in F_2 was approximately the same with F_1 and in the same way less than in intact group but in 2 times less stable than in both previous groups despite on the bigger amount of animals in the group (10 to 5 correspondingly). It means in the 2nd posterity of irradiated rats the destructive changes of the small intestine functional activity are accumulated first of all in the hydrolytic systems activity.

Conclusions. Irradiation of the rat's males more than other injures hydrolytic systems in their posterity and results of irradiation of parents were detected in the 1-st posterity only for the protein nature substrates and in the 2-nd posterity — both for the protein and (first of all) carbohydrate nature substrates.

Сьогодні очевидно, що масштаби Чорнобильської аварії та її наслідків значно перевищують як початкові оцінки, зроблені у 1986–1987 рр., так

і деякі оцінки, зроблені навіть наприкінці минулого сторіччя [1]. Наслідки інциденту показали значущість проблем, пов'язаних із впливом порівняно

малих доз опромінення. Безпека радіаційного опромінення полягає не тільки в можливому впливі на стан здоров'я самої людини, але і на її по-



томство у вигляді генетичних наслідків [2; 3]. Розробка критеріїв генетичного ризику опромінення є необхідною для прогнозу можливих генетичних наслідків опромінення людини. Відомо, що повна елімінація негативного радіаційно-індукованого генетичного вантажу в популяції відбувається до 7–10-го покоління і що певна частина генетичних хвороб (приблизно 56 % від 1-го покоління) проявляється у 2-му поколінні [1]. Однак відомості про трансгенераційний феномен радіаційно-індукованої геномної нестабільності у нащадків при опроміненні батьків у малих дозах нечисленні, суперечливі та потребують подальшого вивчення [4]. Раніше нами було досліджено активність систем травлення та всмоктування реперних субстратів у тонкій кишці нащадків 1-го покоління опромінених натще самців щурів [5]. Тому метою даної роботи стало дослідження параметрів функціональної активності нащадків 2-го покоління самців-попередників і порівняння з такими у нащадків 1-го покоління.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на двомісячних щурятах-самцях лінії Вістар масою 60–70 г, що утримувалися на стандартному раціоні віварію і були позбавлені їжі протягом 18–24 год перед експериментом. Було використано 2 групи щурят: 1-ша — інтактні (5 щурят); 2-га — нащадки 2-го покоління від самців, яких було одноразово опромінено натще дозою 0,5 Гр, та інтактних самиць (10 щурят).

Опромінення самців щурів проводили одноразово на телегаммаустановці «Агат-Р-1», потужність дози становила 120 рад/хв, поле 20 × 20, ВПД=75 см, доза — 0,5 Гр, час експозиції — 32 с. Акумуляційний препарат слизової оболонки (АПС) виготовляли за методом О. М. Уголева і співавторів [6]. Інкубували АПС протягом 1 год при $t = 37^\circ\text{C}$ в окси-

генованому середовищі. Як інкубаційне середовище використовували розчини 10 ммоль/л глюкози, 5 ммоль/л мальтози, 10 ммоль/л гліцину та 5 ммоль/л гліцил-гліцину, які виготовляли на розчині Рінгера pH 7,4. В усі інкубаційні середовища додавали жовч. Концентрацію вільної глюкози та М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози, визначали за методом [7] колориметрично на КФК-2МП ($\lambda=625$ нм). Концентрацію вільного гліцину та «пептидного гліцину», утвореного при гідролізі гліцил-гліцину, визначали за методом О. М. Уголева і Н. М. Тимофєєвої [8] колориметрично на КФК-2МП ($\lambda=540$ нм). Статистичну обробку отриманих даних проводили з визначенням критерію Стьюдента за програмою “Primer Biostatistics”.

Результати дослідження та їх обговорення

Виявилось, що показники рівня транспорту вільної глюкози в тонку кишку нащадків F_2 опромінених натще самців практично збігалися з такими для нащадків F_1 відповідної групи — (40,35±4,58) проти (42,25±6,22) ммоль/л (табл. 1). У попередніх дослідженнях було визначено високу сталість показників транспорту глюкози в тонку кишку як у статевозрілих щурів, так і у молодих (2-місячних) щурят, а також і у нащадків 1-го покоління від опромінених самців [5].

Як показано в табл. 1, у 2-му поколінні нащадків опромінених натще самців щурів також не виявляється зрушень у транспортній активності тонкої кишки щодо глюкози. Це свідчить як про високу стабільність роботи глюкозної транспортної системи (та адаптивну спроможність у змінених умовах існування), так і про адекватність методичного підходу та рівень проведення експерименту. Слід зауважити, що стабільність роботи глюкозної транспортної системи у нащадків F_2 навіть вища (на 22 %, див. табл. 1) за таку у F_1 і її показники збігаються з такими для інтактних щурят.

Натомість рівень транспорту М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози відповідної концентрації (5 ммоль/л) у нащадків F_2 був на 25 % нижчим, ніж у нащадків F_1 — (31,77±3,90) проти (42,67±1,95) ммоль/л (див. табл. 1). При цьому відзначалася значна дестабілізація роботи ферментативно-транспортного конвеєра (ФТК) для глюкози: розкиди від середньої зростали майже втричі порівняно з такими у нащадків F_1 (12,4 проти 4,6 % — на 63 %, див. табл. 1), незважаючи на значно більшу кількість тварин F_2 , що брали участь у експерименті (10 проти 5).

Отже, наслідки опромінення батьків щодо засвоєння вуглеводних субстратів різного ступеня полімерності реалізують-

Таблиця 1

Акумуляція субстратів препаратами слизової оболонки тонкої кишки двомісячних нащадків F_1 і F_2 від одноразово опромінених натще дозою 0,5 Гр самців щурів, $M \pm m$, ммоль/(л·мг) вологості маси препарату

| Група тварин | Субстрат | | | |
|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Глюкоза | Мальтоза | Гліцин | Гліцил-гліцин |
| Інтактна, n=5 | 47,85±5,59* 11,7 % | 42,71±2,31* 5,4 % | 51,84±3,62* 7 % | 63,29±3,22* 5 % |
| Нашадки F_1 , n=5 | 42,25±6,22* 14,7 % | 42,67±1,95* 4,6 % | 83,84±5,33* 6,4 % | 46,97±2,34* 5 % |
| Нашадки F_2 , n=10 | 40,35±4,58 11,4 % | 31,77±3,95 12,4 % | 48,46±3,97 8,2 % | 44,84±4,69 10,5 % |

Примітка. В усі інкубаційні середовища додано кролячу жовч; * — дані отримано раніше [5], використано з метою зіставлення; під показниками акумуляції наведено відсотки розкидів від середньої.



ся у їх нащадків 2-го покоління через зниження роботи мальтози, тобто вражається гідролітична ланка ФТК для мальтози, або ж до складу ФТК входить не той транспортер, що відповідає за перенесення до ентероцита вільної глюкози. Раніше вже обговорювалося питання про те, що транспорт М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози, здійснюється не тією самою системою, що відповідає за транспорт вільної глюкози [5; 9], і наведені зараз дані свідчать на користь такого припущення. Якщо це дійсно так, то з'являється можливість впливати на транспорт вільної глюкози, не торкаючись транспорту М-глюкози, і навпаки. Це може бути корисним при розробці дієт для корекції харчування при метаболічних хворобах: діабеті, ожирінні, атеросклерозі та ін.

Виявлено також значне зниження рівня транспорту вільного гліцину в тонку кишку нащадків F_2 опромінених самців: $(48,46 \pm 3,97)$ проти $(83,84 \pm 5,33)$ ммоль/л у нащадків F_1 (див. табл. 1) — це майже вдвічі нижче (на 42 %). При цьому, крім більш низьких абсолютних величин, спостерігалось також зниження стабільності роботи транспортної системи — на 22 % порівняно з відповідними даними для групи F_1 (8,2 проти 6,4 %, див. табл. 1). Водночас слід зауважити, що такі низькі параметри активності системи транспорту вільного гліцину в групі F_2 виявилися лише на 6 % нижчими, ніж у групі інтактних щурів — $(48,46 \pm 3,97)$ проти $(51,84 \pm 3,62)$ ммоль/л (див. табл. 1), і навіть стабільність її роботи у F_2 була майже на тому ж рівні (8,2 проти 7,0 %, див. табл. 1).

Отже, системи транспорту вільного гліцину у нащадків F_2 опромінених натще самців працюють на іншому рівні активності порівняно з таким у нащадків F_1 — можливо, значна стимуляція транспорту вільного гліцину в тонку кишку нащадків F_1 спричинена гормезисом, а в 2-му поколінні реалі-

зуються порушення, що були закладені в геном при опроміненні батьків, пройшли в рецесивній формі у 1-го покоління нащадків і проявились у нащадків F_2 . Це припущення знаходить підтвердження в літературі [4; 10–12].

Натомість показники рівня транспорту «пептидного» гліцину, утвореного при гідролізі гліцил-гліцину, у нащадків F_2 майже не відрізнялися від таких у нащадків F_1 — $(44,84 \pm 4,69)$ проти $(46,97 \pm 2,34)$ ммоль/л (див. табл. 1) — і були також, як і у F_1 , нижчими, ніж у інтактних щурів — $(44,84 \pm 4,69)$ проти $(63,29 \pm 3,22)$ ммоль/л — на 29 %. Ці дані свідчать на користь припущення про те, що транспорт вільного гліцину і «пептидного» (такого, що утворений внаслідок гідролізу гліцил-гліцину) забезпечується різними транспортними системами, яке було зроблене нами раніше [5]. Слід зауважити, що, незважаючи на майже однакові показники рівня транспорту «пептидного» гліцину в групах нащадків 1-го і 2-го покоління, розкиди від середньої були у нащадків F_2 удвічі вищими, ніж у нащадків F_1 і в інтактних щурів (10 проти 5 % у відповідних групах, див. табл. 1) при вдвічі більшій кількості тварин, що брали участь у експерименті (10 проти 5 в кожній групі). Це свідчить про суттєву дестабілізацію роботи системи гідролізу гліцил-гліцину. Таким чином, у 2-му поколінні нащадків опромінених натще самців щурів нагромаджуються деструктивні зміни функціональної активності тонкої кишки, насамперед у роботі гідролітичних систем.

Отже, функціональна активність тонкої кишки нащадків двох поколінь від опромінених самців неоднакова як для різних поколінь, так і для субстратів різних класів: у нащадків 1-го покоління факт опромінення натще самців-попередників не змінює активності систем транспорту вуглеводів різного ступеня полімерності і протилежно спрямовано змі-

нює активність систем транспорту вільного гліцину та його димеру на користь вільної амінокислоти [5]. Натомість опромінення самців-попередників призводить до зниження насамперед гідролітичної активності тонкої кишки їх нащадків 2-го покоління (перш за все — системи гідролізу вуглеводного димеру) на фоні дестабілізації роботи систем гідролізу (знову-таки перш за все — системи гідролізу димеру вуглеводного походження, але й білкового походження також).

Аналізуючи показники активності гідролітичних і транспортних систем тонкої кишки нащадків двох поколінь від опромінених самців щурів та інтактних самиць, можна зауважити таке: опромінення самців-попередників найбільш уражає системи гідролізу субстратів у тонкій кишці їх нащадків, при цьому наслідки опромінення батьків виявляються у нащадків 1-го покоління для систем гідролізу субстратів тільки білкового походження, тимчасом як у нащадків 2-го покоління наслідки опромінення стосуються систем гідролізу субстратів-похідних як білків, так і (насамперед) вуглеводів. Значна стимуляція транспорту вільної амінокислоти у нащадків 1-го покоління зникає у 2-му поколінні, рівень транспорту наближається до показника в інтактній групі.

Висновки

1. У нащадків 1-го покоління опромінених натще самців, порівняно з інтактною групою, визначається вірогідна стимуляція активності систем транспорту вільного гліцину (на 38 %; $p=0,001$), яка нівелюється у 2-му поколінні — показники транспорту повертаються до рівня в інтактній групі. Натомість рівень транспорту «пептидного» гліцину, утвореного внаслідок гідролізу гліцил-гліцину, у нащадків обох поколінь є вірогідно нижчим, ніж в інтактній групі (на 26 %; $p=0,003$ — у нащадків 1-го покоління та



на 29 %; $p=0,012$ — у нащадків 2-го покоління).

2. Рівень транспорту вільної глюкози є стабільним в обох групах нащадків і майже не відрізняється від такого в інтактних тварин, натомість рівень транспорту М-глюкози, утвореної при гідролізі мальтози, є майже незмінним і стабільним у нащадків 1-го покоління і суттєво нижчим (на 25 %; $p=0,044$) і менш стабільним (на 56 %: відповідно 12,4 проти 5,4 % в інтактній групі) у нащадків 2-го покоління.

3. Опромінення самців-попередників найбільш уражає системи гідролізу субстратів у тонкій кишці їх нащадків, при цьому наслідки опромінення батьків виявляються у нащадків 1-го покоління для систем гідролізу субстратів тільки білкового походження, тимчасом як у нащадків 2-го покоління наслідки опромінення торкаються систем гідролізу субстратів-похідних як білків, так і (насамперед) вуглеводів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Либерман А. Радиация и репродуктивное здоровье / А. Либерман. — СПб., 2003. — 225 с.

2. Репродуктивное здоровье нового поколения : сб. науч. трудов / Иванов. НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова Министерства здравоохранения и соц. развития Российской Федерации. — Иваново, 2010. — 382 с.

3. Гурьева В. А. Современная оценка состояния здоровья потомков лиц, находившихся в зоне радиационного воздействия (на примере Семипалатинского полигона) / В. А. Гурьева, Ю. А. Дударева // Академическая наука — проблемы и достижения : материалы 2-й междунар. науч.-практ. конф. Москва, 5–6 сентября 2013 г. — М., 2013. — 273 с.

4. Агаджанян А. В. Вивчення трансгенераційного феномена генетичної нестабільності у дітей — нащадків опромінених батьків внаслідок аварії на ЧАЕС / А. В. Агаджанян. — М., 2008.

5. Сторчило О. В. Особливості функціональної активності тонкої кишки нащадків опромінених щурів за різних умов прижиттєвого впливу на батьків / О. В. Сторчило // Одеський медичний журнал. — 2009. — Т. 115, № 5. — С. 21–27.

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

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

8. Уголев А. М. Определение пептидазной активности / А. М. Уголев, Н. М. Тимофеева // Исследование пищеварительного аппарата у человека. — Л. : Наука, 1969. — С. 178–181.

9. Сторчило О. В. Модифікація жовчю впливу рослинних екстрактів на транспорт вуглеводів у нащадків опромінених тварин / О. В. Сторчило, О. А. Багірова // Одеський медичний журнал. — 2008. — Т. 106, № 2. — С. 13–18.

10. Реализация лучевых эффектов в онтогенезе потомства двух поколений самцов, половые клетки которых облучены однократно в нестерилизующих дозах на стадии зрелых сперматозоидов / Г. Ф. Палыга, О. Ф. Чибисова, В. Л. Иванов [и др.] // Радиация и риск. — 2010. — Т. 19, № 4. — С. 58–62.

11. Реализация лучевых эффектов в онтогенезе потомства двух поколений самцов, половые клетки которых облучены однократно в нестерилизующих дозах на стадии сперматид / Г. Ф. Палыга, О. Ф. Чибисова, В. Л. Иванов [и др.] // Радиация и риск. — 2011. — Т. 20, № 1. — С. 19–23.

12. Влияние ионизирующей радиации в нестерилизующих дозах на эмбриогенез и постнатальное развитие потомства двух поколений самцов крыс, половые клетки которых облучены на премейотических стадиях сперматогенеза / А. А. Дергилев, О. Ф. Чибисова, Г. Ф. Палыга [и др.] // Радиация и риск. — 2012. — Т. 21, № 2. — С. 39–45.

REFERENCES

1. Liberman A. Radiatsiya i reproductivnoe zdorovye [Irradiation and reproductive health]. St. Peterburg, 2003. 225 p.

2. Reproductivnoye zdorovye novogo pokoleniya: zbornik nauchnykh trudov. Ivanovskiy NII materinstva i detstva imeni V.N.Gorodkova Ministerstva zdorooxraneniya i sotsyalnogo razvitiya Rossiyskoy Federatsyi. Ivanovo: Ivanovo, 2010. 382 p.

3. Guryeva V.A., Dudareva Yu.A. Materials of the II international scientific-practical conference "Academical science — problems and achievements", Sovremennaya otsenka zdorovya potomkov lits, nahodyvshyhsya v zone radiatsyonnoy vozdeystviya (na pri-

mere Semipalatinskogo poligona) (Modern estimation of the state of health of descendants of persons being in the zone of radiation-damage (on the example of the Semipalatinsk ground), 5-6 September 2013 r. Moscow, 273 p.

4. Agadzhanian A.V. Izucheniye transgeneratsyonnoy fenomeny genomnoy nestabilnosti u detey-potomkov obluchennykh roditel'ey v rezul'tate avariy na ChAES. Moskva, 2008. 24 p.

5. Storchilo O. V. Essentiality of the functional activity of the small intestine from the irradiated rats' posterity under the different conditions of the effects on the parents. *Odeskyy medychnyy zhurnal* 2009; 5: 21-27.

6. Ugolev A.M., Zhigure D.R., Nurks E.E. Accumulated fragment of mucosa — a new method of the investigation of the initial stages of transfer of substances through the intestinal wall. *Fiziologicheskyy Zhurnal SSSR* 1970; 56 (11): 1638-1641.

7. Scott T.A., Melvin E.H. The determination of hexoses with antrone. *Analyt. Chem.* 1953; 25: 1656-1658.

8. Ugolev A.M., Timofeeva N.M. The determination of peptidase activity. Research of human digestive system. L., Nauka. 1969. P. 178-181.

9. Storchilo O.V., Bagirova O.A. Modification by bile of the influence of plant extracts on the transport of carbohydrates in the irradiated rats posterity. *Odeskyy medychnyy zhurnal* 2008; 106 (2): 13-18.

10. Paliga G.F., Chibisova O.F., Ivanov V.L., Dergilev A.A., Zhavoronkov L.P., Panfilova V.V., Kolganova O.I. Realization of radial effects in ontogenesis of two generations of posterity of males the gametes of that were radiation-exposed singly in unsterilizing doses on the stage of mature spermatozoa. *Radiation and risk* 2010; 19 (4): 58-62.

11. Paliga G.F., Chibisova O.F., Ivanov V.L., Dergilev A.A., Zhavoronkov L. P., Panfilova V. V., Kolganova O.I. Realization of radial effects in ontogenesis of two generations of posterity of males the gametes of that were irradiated singly in unsterilizing doses on the stage of spermatides. *Radiation and risk* 2011; 2 (1): 19-23.

12. Dergilev A.A., Paliga G.F., Chibisova O.F., Ivanov V.L., Panfilova V.V., Zhavoronkov L.P. Influence of ionizing radiation in unsterilizing doses on embryogenesis and post-natal development of posterity of two generations of males of rats the gametes of which are radiation-exposed on the premeiotic stages of spermatogenesis. *Radiation and risk* 2012; 21 (2): 39-45.

Надійшла 15.10.2013

