

О. В. Сторчило

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДЕЯКИХ ФІТОПРЕПАРАТІВ І РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ЗА УЧАСТІ ЖОВЧІ НА ТРАНСПОРТ ГЛІЦИНУ В ЕНТЕРОЦИТИ НАЩАДКІВ ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Аварія на ЧАЕС стимулювала розвиток досліджень впливу радіації на організм людини. За більш ніж 20 років потому вже досить багато відомо про руйнівну дію великих доз радіації і більш актуальним стало дослідження впливу малих доз, що можуть бути зіставлені з рівнем радіаційного фону, на організм нащадків опромінених батьків. Сьогодні накопичено багато даних про вади розвитку у дітей, батьки яких зазнали опромінення: це порушення функцій сечостатевої системи, підвищення частоти загибелі після народження, порушення темпів росту, вади серця, порушення пам'яті та здатності до асоціативного мислення, підвищена втомлюваність тощо [1], тому пошук засобів подолання наслідків радіаційного опромінення не втрачає актуальності. Останнім часом у ньому істотно зростає роль фітопрепаратів (насамперед екстрактів рослин) як малотоксичних комплексних засобів із широким спектром дії та м'яким ефектом [2–6].

На рівні цілісного організму всі процеси всмоктування реалізуються за участі жовчі. Раніше було показано, що жовч впливає на активність глюкозних транспортних систем у присутності деяких рослинних екстрактів та їх окремих фракцій, змінюючи абсолютні величини транспорту та його стабільність [7]. Ефекти жовчі по-різному реа-

лізуються для систем транспорту вуглеводів і амінокислот [7]. Тому **метою** дослідження стало визначення ефектів екстрактів розторопші плямистої та календули, а також олії розторопші та легалону (відповідно як жирो- та водорозчинної фракцій плодів розторопші) в присутності жовчі на транспорт гліцину в тонку кишку нащадків опромінених самців щурів за умов *in vitro*.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на 20 двомісячних щурятах-самцях лінії Вістар масою 60–70 г, що утримувалися на стандартному раціоні виварію та були позбавлені їжі протягом 18–24 год перед експериментом. Було використано 4 групи щурят (по 5 тварин у кожній): 2 групи інтактних щурят і 2 групи щурят — нащадків самців, одноразово опромінених голодними (18–24 год) в дозі 0,5 Гр. Акумуляуючий препарат слизової оболонки (АПС) виготовляли за методом О. М. Уголева та співавторів [8]. Інкубували АПС протягом 1 год при 37 °С в оксигенованому середовищі. В контрольних групах для АПС як інкубаційне середовище використовували розчини 10 ммоль/л гліцину, який виготовляли на розчині Рінгера рН=7,4, в інших групах до нього додавали висушений водно-спиртовий екстракт плодів розторопші плямистої (*Silybum marianum* (L.)

Gaertner) або квіток календули (*Calendula officinalis* L.), виготовлених за методом [9], або легалон (70 мг/120 мл розчину субстрату), або олії розторопші (300 мг/120 мл) відповідно. До всіх середовищ для емульгування додавали по 3 краплі кроплячої жовчі. Концентрацію гліцину визначали за методом О. М. Уголева та Н. М. Тимофєєвої [10] 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

Показано, що рівень акумуляції гліцину в ентероцитах інтактних щурят майже не відрізнявся незалежно від присутності чи відсутності жовчі як у контрольних групах АПС, так і за наявності в інкубаційному середовищі сумарного екстракту розторопші (таблиця). Наявність легалону в інкубаційному середовищі в інтактних тварин призводила до вірогідного зниження рівня акумуляції гліцину тільки у присутності жовчі, а наявність сумарного екстракту календули — тільки за її відсутності (там же).

Треба зауважити, що розкиди від середнього показника акумуляції гліцину в контрольних групах інтактних тварин майже не відрізнялися незалежно від наявності жовчі в інкубаційному середовищі. Натомість



**Акумуляція гліцину з його 10 ммоль/л розчину
препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів
у присутності екстрактів плодів розторопші, квіток календули,
олії розторопші та препарату легалону,
M±m, ммоль/(л·мг) вологої маси препарату, n=5 у кожній групі**

Група тварин	Субстрат				
	Гліцин	Гліцин + розторопша	Гліцин + олія розторопші	Гліцин + легалон	Гліцин + календула
	Без емульгатора*				
Інтактна	56,78±4,84 8,5 %	47,33±2,69 5,7 %	—	46,74±4,02 8,6 %	36,01±2,53 P ₁₋₅ = 0,005 7,03 %
Нащадки опроміненого самця	73,83±2,92 3,95 %	60,77±2,69 P ₁₋₂ = 0,011 4,4 %	—	54,76±5,25 P ₁₋₄ = 0,013 9,6 %	63,06±2,38 P ₁₋₅ = 0,021 3,8 %
	Інкубаційні середовища з жовчю				
Інтактна	51,84±3,62 6,9 %	56,50±2,70 0,5 %	49,16±3,27 6,6 %	41,46±2,16 P ₁₋₄ = 0,045 5,9 %	44,38±1,17 2,6 %
Нащадки опроміненого самця	83,84±5,33 6,4 %	85,33±1,87 2,2 %	92,60±7,84 8,5 %	66,42±7,76 11,9 %	55,64±5,37 P ₁₋₅ = 0,007 9,6 %

Примітка. * — дані отримано раніше [17], використано з метою зіставлення; під показниками акумуляції наведено відсотки розкидів від середнього показника.

мість у присутності сумарного екстракту розторопші відбувалося зменшення розкидів від середнього показника в групі кишкових препаратів, що інкубувалися без жовчі (до 5,7 проти 8,5 %), і значна стабілізація транспорту гліцину — в разі інкубації з жовчю (до 0,5 проти 6,9 %). Таким чином, сумарний екстракт розторопші сприяє стабілізації системи транспорту вільного гліцину в інтактних тварин, особливо за наявності жовчі в інкубаційному середовищі.

Аналізуючи транспорт гліцину в інтактних щурят у присутності легалону, можна зауважити, що абсолютне значення рівня транспорту практично не залежить від наявності жовчі в інкубаційному середовищі, натомість розкиди від середнього показника у присутності жовчі зменшуються, що призводить до вірогідного гальмування транспорту гліцину за наявності легалону (див. таблицю).

Транспорт гліцину в присутності екстракту календули (на

відміну від легалону) в групі інтактних тварин суттєво залежить від наявності жовчі в інкубаційному середовищі: так, абсолютне значення транспорту в присутності жовчі становить приблизно 86 % від такого у відповідній контрольній групі, натомість за відсутності жовчі — тільки 63 % від відповідного показника в контрольній групі (див. таблицю). Якщо розкиди від середнього показника за відсутності жовчі майже не відрізняються від таких у контрольній групі, то в її присутності вони знижуються більше ніж удвічі (з 6,9 до 2,6 %), тобто наявність жовчі в інкубаційному середовищі у присутності сумарного екстракту календули сприяє водночас підвищенню рівня транспорту гліцину та його стабілізації.

Відомо, що серед вторинних жовчних кислот є глікохолева, яка утворюється шляхом конденсації холевої кислоти з гліцином. Можливо, ця спорідненість і наявність деякої кількості гліцину в сумарному ек-

тракті розторопші може певною мірою модифікувати активність транспортної системи для вільного гліцину.

В контрольних групах препаратів від експериментальних щурят — нащадків опроміненних самців зафіксовано більш високі показники транспорту гліцину як за відсутності, так і в присутності жовчі порівняно з відповідними групами інтактних щурят (див. таблицю). Так, якщо за відсутності жовчі в контрольній групі експериментальних щурят спостерігався рівень транспорту гліцину приблизно в 1,3 разу вищий, ніж у контрольній групі інтактних щурят, то у її присутності — в 1,7 разу вищий, ніж у відповідній контрольній групі. Отже присутність жовчі сприяє підвищенню рівня транспорту гліцину в ентероцити щурят — нащадків опроміненних самців. Слід звернути увагу на те, що розкиди від середнього показника в контрольних групах є більш стабільними саме за відсутності жовчі: 3,9 порівняно з 6,7 % — у при-



сутності жовчі. Таким чином, наявність жовчі в інкубаційному середовищі розбалансовує роботу транспортної системи для гліцину в ентероцити саме щурят — нащадків опромієних самців. Можливо, це пов'язано з певними зрушеннями у функціонуванні ентероцитів внаслідок опромінення батьків.

За наявності сумарного екстракту розторопші в інкубаційному розчині в присутності жовчі рівень акумуляції гліцину був значно вищий (приблизно в 1,4 разу), ніж за її відсутності ((85,33±1,87) проти (60,77±±2,60) ммоль/л·мг) (див. таблицю) при значно менших розкидах від середнього показника (у 2 рази порівняно з даними за відсутності жовчі). Таким чином, жовч сприяє активації та водночас стабілізації системи транспорту гліцину в ентероцити щурят — нащадків опромієних самців у присутності сумарного екстракту розторопші. Можливо, це відбувається завдяки емульгуванню жовчю жиророзчинних компонентів сумарного екстракту розторопші: ненасичених вищих жирних кислот, жиророзчинних вітамінів А, D, Е, К, ефірних олій [11], що здатні залучатися до структури мембран ентероцитів і таким чином сприяти їх більш ефективному функціонуванню. Це припущення підкріплюється величинами акумуляції гліцину за наявності в інкубаційному середовищі олії розторопші у присутності жовчі — майже удвічі вищими, ніж за її відсутності ((92,60±7,84) проти (49,16±±3,27) ммоль/(л·мг)) (див. таблицю). Ці показники майже не відрізняються від контрольних та тих, що отримані у присутності сумарного екстракту розторопші. Привертає увагу збільшення розкидів від середнього показника в групі препаратів, що інкубувалися з олією розторопші — вони значно вищі, ніж у двох попередніх групах (8,47 проти 6,67 та 2,19 % відповідно) (там же). Слід зазначити, що у відповідній групі препа-

ратів від інтактних щурят розкиди від середнього показника також були найбільшими серед усіх досліджуваних груп препаратів від інтактних тварин, при цьому абсолютна величина транспорту гліцину була майже удвічі меншою, ніж у відповідній групі щурят — нащадків опромієних щурів.

Таким чином, жиророзчинні компоненти плодів розторопші сприяють стабілізації транспорту гліцину в ентероцити як інтактних, так і експериментальних щурят, але стабілізуючий (нормалізуючий) ефект сумарного екстракту розторопші значно вищий, ніж ефект саме олійної фракції. Можливо, це пов'язано з присутністю в ньому також водорозчинних компонентів плодів розторопші: вітамінів (переважно групи В), амінокислот, біогенних амінів, кверцетину, та найголовніше — флавоноїдної субстанції силімарину, до якої належать флаволігнани: силібінін, силідіанін, силікринин тощо [12], що беруть участь у метаболічних процесах і таким чином сприяють їх активізації. З цієї точки зору, слід було б очікувати стимулюючого та нормалізуючого ефекту від легалону, який містить ті компоненти плодів розторопші, що залишилися після відтискання олії. Натомість наявність легалону в інкубаційному середовищі призводила до вірогідного гальмування транспорту гліцину в АПС експериментальних щурят за відсутності жовчі та суттєвого (на 20 %) зниження транспорту — у її присутності на фоні збільшення розкидів від середніх показників: майже удвічі у присутності жовчі (в 1,8 разу) та у 2,4 разу — за її відсутності. Таким чином, жовч сприяє гальмуванню та дестабілізації роботи транспортної системи для гліцину у присутності легалону в інкубаційному середовищі. Вочевидь, ефект жовчі реалізується не тільки через її активність як емульгатора жиророзчинних речовин, а й шляхом активації деяких водорозчин-

них компонентів плодів розторопші і, таким чином, залучення їх до метаболічних процесів.

Можливо, слід говорити про синергічну дію компонентів сумарного екстракту в присутності жовчі. Це припущення має підтвердження в літературі [13]. Таким чином, найкращий ефект стабілізації транспортної системи для гліцину на фоні збереження рівня транспорту в ентероцити нащадків опромієних щурів визначено саме для сумарного екстракту розторопші.

Цікаво, що сумарний екстракт календули, попри те що він також містить мембраностабілізуючі компоненти (β-каротин, лікопін, ефірні олії, поліненасичені жирні кислоти, терпени, токофероли, ситостероли та ін. [14]), не виявляв такого ефекту — навпаки, у присутності жовчі спостерігалось вірогідне гальмування транспорту гліцину в ентероцити експериментальних щурят навіть на фоні збільшення розкидів від середнього показника в 1,5 рази (9,6 проти 6,7 %), тимчасом як у відсутності жовчі відсоток розкидів майже не відрізнявся від таких у відповідній контрольній групі (див. таблицю). Вочевидь, у присутності жовчі поєднання водо- та жиророзчинних компонентів саме сумарного екстракту розторопші справляє найкращий стабілізуючий ефект на систему транспорту гліцину в ентероцити щурят — нащадків опромієних самців без зниження абсолютних показників рівня транспорту.

Відомо, що жовчні кислоти сприяють ущільненню контактів між клітинами та підвищенню їх бар'єрної функції [15]. Цьому ж сприяє екстракт розторопші [6; 12], насамперед, завдяки тому, що головний біофлавоноїд розторопші — силімарин — має 3 головних терапевтичних ефекти: мембраностабілізуючий, антиоксидантний та метаболічний [16]. Перший пов'язаний зі здатністю силімарину інгібувати утворення



ц-АМФ і біохімічно взаємодіяти з мембранами клітин — під впливом силібініну (компонента силімарину) змінюється якісний склад клітинних мембран: збільшується вміст жирних кислот і фосфоліпідів, знижується — триацилгліцеролів та етерифікованого холестерину. Силімарин гальмує як розщеплення лецитину та фосфатидилетаноламіну, так і головну обмінну реакцію між серином та ендогенними мембранними фосфоліпідами в печінці та мозку. Антиоксидантний ефект силімарину базується на його здатності *in vivo* вступати до оборотних окисно-відновних реакцій фенол-семіхінон-хінон, де короткоживучий семіхіноновий радикал блокує вільні радикали. Силімарин сприяє зниженню рівня перекисного окиснення та підвищенню активності супероксиддисмутази, каталази, пероксидази. Як флавоноїд він здатен до комплексоутворення з іонами важких металів і радіонуклідів, а також із білками та ферментами, внаслідок чого метаболічний ефект силібініну полягає в активації синтезу білка в гепатоцитах, перш за все через активацію синтезу рибосомальної РНК [16]. Усі ці дані могли б пояснити високу активність переважно водорозчинної фракції розторопші — легалону, але його ефект виявився іншим, ніж ефект сумарного екстракту.

На рівні експерименту *in vitro* годі очікувати таких самих ефектів, як за умов *in vivo*, але одержані дані свідчать про високу здатність сумарного екстракту розторопші до стабілізації та підтримання роботи системи транспорту гліцину в експериментальних щурят. На прикладах багатьох лікарських рослин доведено, що оптимальним є використання усього комплексу речовин, які знаходяться в рослинній клітині, а не окремих її компонентів [13], тому застосування сумарного екстракту розторопші плямистої для корекції транспорту гліцину в тонкій

кишці нащадків опромінених щурів видається доцільним.

Висновки

1. У інтактних щурят наявність жовчі в інкубаційному середовищі сприяла стабілізації роботи системи транспорту гліцину в присутності сумарних екстрактів календули і особливо розторопші.

2. В контрольних групах АПС експериментальних щурят наявність жовчі в інкубаційному середовищі спричинювала підвищення рівня транспорту гліцину на відміну від такого у відповідних групах інтактних щурят при збереженні розкидів від середнього показника.

3. У присутності жовчі олія розторопші сприяла майже дворазовому збільшенню рівня транспорту гліцину в АПС експериментальних щурят порівняно з таким у інтактних на фоні збільшення розкидів від середнього показника в 1,3 рази.

4. Наявність жовчі в інкубаційному розчині з легалоном сприяла стабілізації транспорту гліцину в інтактних щурят при вірогідному зниженні його рівня, натомість у експериментальних щурят спричинювала дестабілізацію транспорту при незначному зниженні його рівня.

5. Сумарний екстракт календули незалежно від присутності жовчі спричинював гальмування транспорту гліцину в АПС як інтактних, так і експериментальних тварин, але в останній групі наявність жовчі в інкубаційному середовищі сприяла також дестабілізації роботи транспортної системи.

6. Сумарний екстракт розторопші у присутності жовчі сприяв значній стабілізації роботи системи транспорту гліцину на фоні збереження його рівня як у інтактних, так і в експериментальних щурят.

ЛІТЕРАТУРА

1. Давыдова Ю. В. Современные аспекты проблемы — ионизирующие излучения и беременность / Ю. В. Давыдова // Український медичний часопис. — 1998. — № 2 (4). — С. 17-21.

2. Бондарев С. В. Экспериментальное обгрунтование возможности использования нового энтеросорбента грацеолу как гепатопротектора / С. В. Бондарев // Клінічна фарм. — 2004. — Т. 8, № 1. — С. 57-59.

3. Биологически активная добавка из расторопши в решении проблем оздоровления населения / Гильмиярова Ф. Н., Радомская В. М., Кротова И. Г. и др. // Вопросы питания. — 1998. — Т. 3. — С. 33-35.

4. Тищенко О. В. Дія розмелених плодів розторопші плямистої на функціональний стан печінки та підшлункової залози при радіаційному токсичному ураженні : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук / О. В. Тищенко. — К., 2003. — 24 с.

5. Singh R. P. Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer / R. P. Singh, R. Agarwal // European Journal of Cancer. — 2005. — N 41 (13). — P. 1969-1979.

6. Effect of silibinin on the growth and progression of primary lung tumors in mice / Singh R. P., Deep G., Chit-tezhath M. et al. // Journal of the National Cancer Institute. — 2006. — Vol. 98 (12). — P. 846-855.

7. Сторчило О. В. Дослідження впливу емульгаторів на всмоктування глюкози і гліцину в присутності деяких рослинних екстрактів та їх фракцій / О. В. Сторчило, О. А. Багірова // Одес. мед. журнал. — 2007. — № 2 (100). — С. 19-24.

8. 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 // Физиол. журн. СССР. — 1970. — Т. 56, № 11. — С. 1638-1641.

9. Декларац. патент на корисну модель. 10460. Україна, 7 А61К35/78, А61Р1/00. Спосіб корекції функціонального стану транспортних систем тонкої кишки / Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. ; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. — № u 200504145 ; опубл. 15.11.2005, Бюл. № 11.

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

11. Катикова О. Ю. Гепатопротекторное действие препаратов растительного происхождения / О. Ю. Катикова, Я. В. Костин, В. С. Тишки // Экспер. и клин. фармакология. — 2002. — № 1. — С. 41-43.

12. Silybum marianum in vitro-flavonolignan production / L. Tũmova, J. Řimáková, J. Tũma, J. Dušek // PLANT



SOIL ENVIRON. — 2006. — Vol. 52, N 10. — P. 454-458.

13. Чудаков С. Ю. Биологически активные добавки к питанию — роскошь или необходимость? / С. Ю. Чудаков // Кремлевская медицина. Клинический вестник. — 1999. — № 3. — С. 42-46.

14. Гепатопротекторы-антиоксиданты в терапии больных с хроническими диффузными заболеваниями

печени / Дегтярева И. И., Скрыпник И. Н., Невойт А. В. и др. // Новые мед. технологии. — 2002. — № 6. — С. 18-23.

15. Bile acids modulate tight junction structure and barrier function of Ca²⁺-2 monolayers via EGFR activation / Raimondi F., Santoro P., Barone M. V. et al. // Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. — 2008. — Vol. 31 (Jan). — P. 1152-1157.

16. Губергриц Н. Б. Гепатофальк планта: терапевтические свойства и преимущества / Н. Б. Губергриц // Сучасна гастроентерологія. — 2004. — № 1 (15). — С. 77-82.

17. Сторчило О. В. Фармакокорекція порушень транспорту гліцину в тонкій кишці нащадків опромінених тварин / О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, О. А. Багірова // Одес. мед. журнал. — 2006. — № 3 (95). — С. 29-31.

УДК 616.329-002-018

І. В. Шкварковський

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ АЛЬТЕРАЦІЇ ТКАНИН СТРАВОХІДНО-ШЛУНКОВОГО ПЕРЕХОДУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОГО РЕФЛЮКСУ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Вивчення ключових ланок етіопатогенезу гастроезофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ) повинно базуватися на дослідженні як функціональних, так і морфологічних змін у тканинах, що супроводжують дану недугу [1].

Якщо клінічна оцінка функціонального стану моторики самого стравоходу та його нижнього сфінктера можлива завдяки сучасним методикам рН-метрії та манометрії, то детальне вивчення патоморфологічних змін нижньої третини стравоходу *in vivo* практично неможливе через складності отримання достатнього за об'ємом біопсійного матеріалу. З цих же причин не можна провести і повноцінне дослідження розповсюдженості патологічного процесу на розташовані глибше слизового шару тканини (підслизовий, м'язовий та серозний шари). Перевагами експериментального дослідження є можливість отримання необхідного за об'ємом матеріалу на різних стадіях перебігу патологічного процесу в стінці стравоходу. Крім того, використання адекватних експериментальних моделей шлуноково-стравохідного рефлюксу набуває особливого значення як у дослідженні ефективності нових терапевтичних підходів, так і в розробці сучасних способів хірургічної корекції даної нозології [2; 3].

Мета роботи полягає у вивченні здатності розробленого способу моделювання гастроезофагеального рефлюксу відтворити в експерименті морфологічні зміни, притаманні різним стадіям рефлюкс-езофагіту в клінічних умовах.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на 70 експериментальних білих статевозрілих щурах лінії Wistar, яким була створена модель шлуноково-стравохідного рефлюксу відповідно до задекларованого способу (Патент № 19 579). Спосіб моделювання гастроезофагеальної рефлюксної хвороби передбачає поздовжнє розсічення стравохідно-шлунокового переходу з подальшим ушиванням у поперечному напрямку, розсічення переднього півкола стравохідного отвору діафрагми, вирівнювання кута Гіса та фіксацію кардіального відділу шлунока в розширеному отворі діафрагми. Тварин виводили з експерименту на 1-шу, 2-гу, 4, 5, 10, 15, 20-ту добу післяопераційного періоду. Вилучали тканини кардіоезофагеальної зони для подальшого патогістологічного дослідження. Забарвлення біоптатів проводилося гематоксилін-еозинном.

Результати дослідження та їх обговорення

У біоптатах незмінена слизова оболонка стравоходу вистелена багатошаровим плоским епітелієм. Її власна пластинка формує сполучнотканинні сосочки, висота яких становить приблизно половину епітеліального шару. Базальний шар епітелію складається з кількох шарів клітин. Розрізняють проміжний шар шипуватих клітин і поверхневий. Клітини поверхневого шару наси-

