

УДК: 616.152.21.014.481.1:577.154.5

ВПЛИВ ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ НА ВУГЛЕВОДНИЙ ОБМІН ДОРΟΣЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОДНОРАЗОВОГО R-ОПРОМІНЕННЯ

Проф. Є. М. Горбань, канд. біол. наук Н. В. Топольнікова, О. В. Под'яченко, Л. І. Малаш

ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ

Досліди проведено на дорослих (7–8 міс.) і старих (23–24 міс.) щурах-самцях популяції Вістар. Тварин було розподілено на чотири групи: 1 — контроль; 2 — тварини, взяті в гострий дослід через 17 діб після дії одноразового рентгенівського опромінення (R-опромінення) в сублетальній дозі 5 Гр; 3 — тварини, піддані хронічному інтервальному гіпоксичному тренуванню (ІГТ) протягом 2 тижнів (дихання сумішшю, що містить 12 об % кисню, протягом 2 год щодня, 5 днів на тиждень); 4 група — ІГТ+R-опромінення (тварин опромінювали через день після завершення ІГТ). Через 17 діб після опромінювання виявлено підвищення рівня глюкози у дорослих щурів та рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) у крові й інсулінорезистентності за індексом НОМА у старих. Попереднє перед опромінюванням ІГТ запобігало підвищенню рівня глюкози, знижувало рівень HbA_{1c} у крові дорослих щурів; у старих тварин запобігало підвищенню рівня HbA_{1c} у крові й індексу НОМА і знижувало рівень глюкози. Через 17 діб після впливу ІГТ не спостерігалось істотних змін показників вуглеводного обміну як у дорослих, так і в старих щурів.

Ключові слова: іонізуюча радіація, інтервальне гіпоксичне тренування, вуглеводний обмін, вікові особливості, радіопротекція.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО R-ОБЛУЧЕНИЯ

Проф. Е. М. Горбань, канд. биол. наук Н. В. Топольникова, О. В. Подьяченко, Л. И. Малаш

Опыты проведены на взрослых (7–8 мес.) и старых (23–24 мес.) крысах-самцах популяции Вистар. Животные были разделены на четыре группы: 1 — контроль; 2 — животные, взятые в острый опыт через 17 сут. после воздействия однократного рентгеновского облучения (R-облучения) в сублетальной дозе 5 Гр; 3 — животные, подвергнутые хронической интервальной гипоксической тренировке (ИГТ) в течение 2 нед. (дыхание смесью, содержащей 12 об% кислорода, в течение 2 ч в день, 5 дней в неделю); 4 группа — ИГТ+R-облучение (животных облучали через день после завершения ИГТ). Через 17 сут. после R-облучения выявлено повышение уровня глюкозы у взрослых крыс и уровня гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}) в крови и инсулинорезистентности по индексу НОМА у старых. Предварительная перед облучением ИГТ предотвращала повышение уровня глюкозы, снижала уровень HbA_{1c} в крови взрослых крыс; у старых животных предотвращала повышение уровня HbA_{1c} в крови и индекса НОМА и снижала уровень глюкозы. Через 17 сут. после воздействия ИГТ не наблюдалось существенных изменений показателей углеводного обмена как у взрослых, так и у старых крыс.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, интервальная гипоксическая тренировка, углеводный обмен, возрастные особенности, радиопротекция.

THE EFFECT OF INTERVAL HYPOXIC TRAINING ON CARBOHYDRATE METABOLISM OF ADULT AND OLD RATS AFTER A SINGLE X-RAY IRRADIATION

E. M. Gorban, N. V. Topolnikova, O. V. Podjachenko, L. I. Malash

Male adult (7–8 months) and old (23–24 months) rats of Wistar population were used. Animals were divided into 4 groups: 1 — control; 2 — animals taken into experiment since 17 days after single X-ray exposure at sublethal dose of 5 Gy; 3 — animals were exposed to intermittent hypoxic training (IHT) for 2 weeks (breathing of air mixture containing 12 of O_2 for two hours daily, 5 days per week.); 4 — IHT+X-ray exposure (animals were irradiated one day after exposed to intermittent hypoxic training). Within 17 days after X-ray irradiation revealed the increase of glucose level in blood plasma of adult rat and increase of glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}) level and insulin resistance for index HOMA in old ones. Last IHT prevented the increase of glucose level, reduced of HbA_{1c} level in the blood in adult rats; prevented the increase of HbA_{1c} level and index HOMA and reduced glucose level in old ones. Within 17 days after exposure to IHT was not observed significant changes in carbohydrate metabolism in adult and old rats.

Keywords: ionizing radiation, interval hypoxic training, carbohydrate metabolism, age-dependent peculiarities, radioprotection.

Реакцією організму на одноразове опромінювання в сублетальних дозах є активація стрес-реалізуючих систем, зокрема багатозафазове підвищення рівня глюкокортикоїдів, що чинять гіперглікемічний ефект [7]. Радіаційно індуковані зміни рівня глюкози в крові відображають активацію ендокринної системи та поєднане з нею підвищення у внутрішньому середовищі організму продуктів гліколізу [8]. Порушення вуглеводного обміну, зумовлене дією іонізуючого випромінювання (ІВ), може призводити до розвитку цукрового діабету (ЦД), про що свідчить зростання виникнення ЦД серед учасників ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС та серед населення, що проживає на забрудненій радіонуклідами території [6].

Вікові зміни нейрогуморальної регуляції функцій ендокринних залоз мають велике значення в механізмах старіння [15]. Ризик захворювання на ЦД під час старіння підвищується. Тому велике значення має дослідження вікових змін вуглеводного обміну, зумовлених впливом ІВ, а також пошук та розробка профілактичних і лікувальних засобів, які б ефективно зменшували (або гальмували) радіаційно зумовлені діабетогенні порушення.

До таких засобів належить інтервальне гіпоксичне тренування (ІГТ), що є нічим іншим, як способом моделювання гірських умов у нормобаричній рівнинній атмосфері, які підвищують загальну неспецифічну резистентність організму, полегшують перенесення фізичних навантажень, впливу хімічних агентів тощо [2]. Процес ІГТ супроводжується вдосконаленням реакцій, спрямованих на протидію тканинній гіпоксії [1]. Це використовується організмом для збереження гомеостазу, поліпшення структурно-функціональної організації різних систем у вигляді насамперед оптимізації якості регуляції їх функцій, що загалом підвищує стійкість не лише до дії гіпоксії, а й до дії інших стрес-факторів — як нерадіаційного, так і радіаційного генезу. У результаті ІГТ посилюється процес безкисневого утворення енергії шляхом гліколізу, ферменти якого активуються продуктами розпаду АТФ [12].

Мета роботи — вивчити радіопротекторний вплив ІГТ на вуглеводний обмін дорослих та старих щурів у відносно віддалений термін після дії одноразового рентгенівського опромінення (R-опромінення) в сублетальній дозі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на 48 дорослих (7–8 міс.) та 48 старих (23–24 міс.) щурах-самцях популяції Вістар, розподілених на чотири групи: 1 — контрольна; 2 — щури, піддані впливу одноразового R-опромінення за допомогою рентген-установки «РУМ-17» у дозі 5 Гр (параметри опромінення: напруга на трубці — 170 кВ, сила струму — 12 мА, фільтр — 0,5 мм Сu і 1,0 мм Al, фокусна відстань — 45 см, потужність

доза — 0,833 сГр/с, тривалість опромінення — 10 хв, щурів брали в гострий дослід через 17 діб після опромінювання); 3 — щури, яких піддавали хронічному ІГТ (дихання повітряною сумішшю, що містить 12 об% O₂, протягом 2 год щодня, 5 днів на тиждень протягом 2 тижнів); 4 група — ІГТ + опромінювання (тварин піддавали одноразовому R-опроміненню через 1 добу після закінчення хронічного ІГТ та брали в дослід через 17 діб після опромінювання).

Рівень інсуліну (Інс) у крові визначали радіоімунологічним методом [14]. Рівень глюкози в крові натще визначали глюкозооксидазним методом за допомогою набору «Філісіт діагностика» (Україна). Рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) у крові визначали фотометричним методом за допомогою набору фірми «Реагент» (Україна).

Для оцінки стану чутливості тканин до Інс було використано розрахунковий показник — індекс НОМА = $I \times G / 22,5$, де I — рівень Інс натще; G — рівень глюкози крові натще [16].

Статистична обробка результатів здійснена за методом Стьюдента для непарних вимірів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними літератури та наших попередніх досліджень у перші години після одноразової дії R-опромінення в летальних та сублетальних дозах спостерігається підвищення рівня Інс у крові слідом за гіперкортизолемією з подальшим зниженням рівня Інс на тлі стійкого підвищення в крові рівня глюкокортикоїдів [3, 4, 5, 7].

Через 17 діб після дії R-опромінення в дозі 5 Гр, якому передувало двотижневе ІГТ, рівень Інс у плазмі крові дорослих щурів мав тенденцію до зниження (табл. 1). Не виявлено достовірних змін рівня Інс у крові старих щурів у вказаний термін після опромінювання.

Через 17 діб після опромінювання спостерігалось підвищення рівня глюкози в крові дорослих щурів. У старих щурів через 17 діб після R-опромінення виявлено лише тенденцію до підвищення рівня глюкози порівняно з контролем. За даними літератури в патогенезі віддалених наслідків променевого впливу має значення втрата клітковості острівкового апарату підшлункової залози, що може разом із багатозафазним підвищенням рівня глюкокортикоїдів призводити до гіперглікемії [7]. Підвищення рівня глюкози в крові дорослих щурів у вказаний термін після опромінювання в сублетальній дозі є також найімовірнішим наслідком вторинної реакції кори надниркових залоз на дію ІВ як результату патологічних змін, що відбуваються в процесі розвитку гострої променевої хвороби [13].

Підвищення рівня глюкози в крові супроводжується активацією утворення різних сполук глюкози з білками. Рівень HbA_{1c} відображає середню концентрацію глюкози в організмі за останні 2–3 міс.,

Таблиця 1

Рівні інсуліну, глюкози, глікозильованого гемоглобіну в крові та індекс інсулінорезистентності НОМА (M±m)

Групи тварин	n	Інсулін, мкМО/мл	Глюкоза, ммоль/л	HbA _{1c} , мкММоль/л	Індекс НОМА
Дорослі					
Контроль	11	29,7 ± 4,4	4,40 ± 0,12	3,72 ± 0,46	5,80 ± 0,59
Опроміювання	13	20,7 ± 2,8	4,91 ± 0,13 ^а	6,43 ± 1,24	4,52 ± 0,41
ІГТ	12	30,7 ± 5,4	4,04 ± 0,24	3,61 ± 0,37 ^б	5,51 ± 0,40
ІГТ + опроміювання	12	28,1 ± 5,8	4,47 ± 0,11 ^б	3,10 ± 0,37 ^б	5,58 ± 0,24
Старі					
Контроль	11	25,2 ± 2,0	4,44 ± 0,31	6,96 ± 0,29	4,97 ± 0,39
Опроміювання	13	25,5 ± 0,4	5,20 ± 0,22	13,42 ± 2,52 ^а	5,89 ± 0,19 ^а
ІГТ	12	24,8 ± 0,4	5,01 ± 0,20	7,69 ± 1,24 ^б	5,52 ± 0,56
ІГТ + опроміювання	12	25,2 ± 0,7	4,53 ± 0,11 ^{б,γ}	9,10 ± 2,37	5,07 ± 0,23 ^б

Примітка: ^а – вірогідність відмінності порівняно з контролем (p < 0,05); ^б – вірогідність відмінності порівняно з групою опроміювання (p < 0,05); ^γ – вірогідність відмінності порівняно з групою ІГТ (p < 0,05).

оскільки утворюваний HbA_{1c} акумулюється всередині еритроцитів і зберігається протягом усього терміну їхнього життя [9].

Через 17 діб після опроміювання рівень HbA_{1c} у крові дорослих шурів мав виражену тенденцію до підвищення, а в старих був достовірно підвищений порівняно з контролем. Підвищення глікозильовання білків є однією з головних патогенетичних ланок у розвитку ангіопатій і ЦД, оскільки глікозильовані білки втрачають свої функціональні можливості.

Існують прямі й непрямі методи оцінки дії Інс *in vivo*. Непрямі методи (ендогенні) спрямовані на оцінку ефективності дії ендогенного Інс. До них, наприклад, належать глюкозотолерантний тест. Багато дослідників вивчали розрахункові індекси оцінки інсулінорезистентності (ІР), які були б досить прості для застосування й потребували б мінімальних витрат. Один із таких показників – Індекс НОМА (homeostasis model assessment – модель оцінки гомеостазу). Що вище індекс НОМА, то нижче чутливість тканин до Інс [16].

Не виявлено достовірних змін індексу НОМА у дорослих шурів через 17 діб після опроміювання. У старих шурів через 17 діб після опроміювання виявлено підвищення індексу НОМА, тобто підвищення ІР. Підвищення ІР у старих опромієних шурів може розвиватися внаслідок радіаційно індукованого пошкодження ліпідного матриксу плазматичних мембран клітин, їх проникності, активності мембранозв'язаних ферментів, синтезу ДНК та афінності рецепторів до їх сигнальних речовин, унаслідок активації процесів перекисного окиснення ліпідів і зниження активності ферментів антиоксидантного захисту [11].

Результати досліджень доводять, що через 17 діб після впливу ІГТ не спостерігалось істотних змін показників вуглеводного обміну як у дорослих, так і в старих шурів.

Хронічне ІГТ, проведене перед опроміюванням, запобігало підвищенню рівня глюкози в крові

дорослих шурів через 17 діб після дії опромієння. Оскільки підвищення рівня глюкози в крові дорослих шурів у вказаний термін після опроміювання є, найімовірніше, наслідком вторинної реакції кори надниркових залоз на дію ІВ як результат патологічних змін, що відбуваються в процесі розвитку гострої променевої хвороби, її запобігання за допомогою ІГТ можна вважати позитивним внеском у підвищення радіорезистентності організму [13].

У старих опромієних тварин, попередньо підданих ІГТ, рівень глюкози в крові достовірно зменшувався порівняно з групою опроміювання на 13%. Це може бути наслідком змін у системі утилізації кисню, енергоутворення, а саме збільшення анаеробного ресинтезу АТФ за рахунок активації гліколізу, що відбулися в процесі адаптації до ІГТ.

Запобігання за допомогою ІГТ підвищенню концентрації глюкози в крові, молекула якої має великий енергетичний потенціал та легко окиснюється, а тому супроводжується посиленням утворення вільних радикалів, має сприятливо впливати на динаміку перебігу та наслідки радіаційно індукованої патології.

Зазначена модель ІГТ не давала достовірних змін рівня HbA_{1c} у крові дорослих опромієних шурів порівняно з контролем та достовірно знижувала вказаний показник порівняно з групою опромієних тварин майже в 2 рази. Інтервальне гіпоксичне тренування запобігало підвищенню рівня HbA_{1c} у крові старих опромієних шурів через 17 діб після дії ІВ, що вказує на його радіопротекторні властивості.

У дорослих опромієних шурів, підданих ІГТ, не виявлено достовірних змін індексу ІР НОМА порівняно з групами контролю, опроміювання та дії ІГТ. У старих опромієних тварин ІГТ запобігало підвищенню індексу НОМА, тобто розвитку ІР, вказаний показник не відрізнявся від значення в контролі та достовірно знижувався на 13% порівняно з групою опромієних старих шурів

без попередньої дії ІГТ. Вважається, що індекс НОМА найбільш інформативний для оцінки ІР за наявності порушень вуглеводного обміну [10]. Установлене зниження ІР у опромінених щурів, зумовлене попереднім ІГТ, може бути наслідком того, що через дію ІГТ у мембранах посилюється функціональна активність деяких мембранних білків (транспортерів, рецепторів, у тому числі й інсулінових), а також утворюється деяка додаткова кількість АТФ для забезпечення мембранних функцій у межах самих мембран за рахунок фосфорилування АДФ за участю фосфатної групи мембранних фосфопротеїнів або фосфоліпідів.

ВИСНОВКИ

Через 17 діб після дії одноразового R-опромінення в сублетальній дозі виявлено підвищення рівнів

глюкози у дорослих щурів та рівня глікозильованого гемоглобіну в крові й інсулінорезистентності (за індексом НОМА) у старих.

Через 17 діб після впливу ІГТ не спостерігалося істотних змін показників вуглеводного обміну як у дорослих, так і в старих щурів.

Застосована модель ІГТ протягом 2 тижнів перед опромінюванням у дорослих щурів: запобігала підвищенню рівня глюкози в крові; у старих тварин запобігала підвищенню рівня глікозильованого гемоглобіну в крові й індексу НОМА (підвищенню інсулінорезистентності), знижувала рівень глюкози через 17 діб після опромінювання.

Вважається *перспективним* подальше дослідження радіопротекторних ефектів за різних режимів ІГТ в умовах опромінювання організму сублетальними дозами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Александров С. Н. Патогенез сокращения продолжительности жизни облученных биологических объектов // Проблемы радиационной геронтологии; под ред. С. Н. Александрова. — М.: Атомиздат, 1978. — С. 193–207.
2. Горанчук В. В. Гипокситерапия / В. В. Горанчук, Н. И. Сапова, А. О. Иванов. — СПб: ЭЛБИ, 2003. — 536 с.
3. Горбань Є. М. Вплив одноразового R-опромінювання на глюкокортикоїдну функцію надниркових залоз дорослих та старих щурів / Є. М. Горбань, Н. В. Топольнікова // Укр. радіол. журн. — 2001. — Т. 9, Вип. 3. — С. 295–297.
4. Горбань Є. М. Вплив одноразового R-опромінення на інсулінорезистентність організму щурів різного віку / Є. М. Горбань, М. В. Осипов, Н. В. Топольнікова // Одеський мед. журн. — 2008. — № 5 (109). — С. 6–10.
5. Горбань Е. Н. Возрастные особенности β -адренергической регуляции адаптационных процессов организма в условиях воздействия однократного облучения / Е. Н. Горбань, Н. В. Топольникова, Н. В. Осипов // Проблемы эндокринной патологии. — 2002. — Т. 2. — С. 58–65.
6. Горбачева Е. В. Распространенность сахарного диабета и диабетической ретинопатии среди участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, проживающих в Харьковской области / Е. В. Горбачева // Междунар. эндокринол. журн. — 2011. — Т. 33, № 1. — С. 15–19.
7. Коваленко А. Н. Системные радиационные синдромы / А. Н. Коваленко, В. В. Коваленко. — Николаев: Изд-во НГТУ им. П. Могила, 2008. — 248 с.
8. Колчинская А. З. Дыхание при гипоксии // Физиология дыхания / Отв. ред. И. С. Бреслав, Г. Г. Исаев. — СПб: Наука, 1994. — С. 589–624.
9. Лихоносова А. П. Анализ методов определения уровня гликозилированного гемоглобина в лечебно-профилактических учреждениях города Санкт-Петербурга / А. П. Лихоносова, Н. П. Лихоносов, О. Г. Кузнецова // Междунар. эндокринол. журн. — 2010. — Т. 30, № 6. — С. 23–32.
10. Метаболический синдром / Под ред. Г. Е. Ройтберг. — М.: МЕДпресс-информ, 2007. — 224 с.
11. Михеев А. Н. Эпигенетические реакции клеток на действие ионизирующей радиации / А. Н. Михеев, Н. И. Гуца, Ю. Ю. Малиновский // Радиацион. биология. Радиоэкология. — 1999. — Т. 39, № 5. — С. 548–556.
12. Патолофізіологія: підручник / М. В. Зайко, Ю. В. Биць, Г. М. Бутенко [та ін.]; за ред. М. Н. Зайка і Ю. В. Биць. — К.: Медицина, 2008. — 704 с.
13. Поспишил М. Индивидуальная радиочувствительность, механизм ее проявления / М. Поспишил, И. Ваха. — М.: Энергоатомиздат, 1986. — 122 с.
14. Резников А. Г. Методы определения гормонов / А. Г. Резников — К.: Наук. думка, 1980. — 400 с.
15. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы / В. В. Фролькис — К.: Наук. думка, 1981. — 320 с.
16. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man / D. R. Matthews, J. P. Hosker, A. S. Rudenski [et al.] // Diabetology. — 1985. — Vol. 28. — P. 412–419.