

УДК 612.31/33.015.11:(612.014.481.1+612.014.484+577.161.5)-019

*Х.М. Ільницька,**Л.О. Дацюк¹,**О.Я. Склярів*

Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького;
¹ Львівський національний університет
ім. Івана Франка

ВПЛИВ СТРЕСУ НА ТЛІ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ НА НІТРОЗО-ОКСИДАТИВНІ ПРОЦЕСИ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ ТА КОРЕГУЮЧА ДІЯ ВІТАМІНУ Е У ЩУРІВ

Мета роботи - вивчення дії низькоінтенсивного рентгенівського опромінення (НІРО) впродовж 20 днів, впливу поєднаної дії рентгенівського опромінення та стресу на стан NO-синтазної системи й оксидативні процеси у слизових оболонках органів травлення (СОТ) та оцінка корегуючого впливу вітаміну Е в дозі 30 мг/кг на тлі дії рентгенівського опромінення та стресу у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на білих безпородних щурах масою 200-240 г (n=60). Тварини розділені на 6 груп. Статистичну обробку результатів провели з використанням методів варіаційної статистики за допомогою пакетів програми ANOVA "Statistica" та оцінили з використанням t-критерію Стюдента.

Результати. Сумарне рентгенівське опромінення (у дозі 20 сГр на 20-й день) викликало, порівняно з показниками контрольних тварин, зростання у СОТ: вмісту ТБК-активних продуктів, нітрит-аніону, активності мілопероксидази (МПО), індукцибельної NO-синтази (iNOS). Самостійна дія ВІС призводила до підвищення: вмісту ТБК-активних продуктів, нітрит-аніону, активності МПО, активність iNOS, активність СОД, зменшення активності cNOS та аргінази та каталази. Вплив стресу на тлі рентгенівського опромінення призводив до тенденції зростання рівня ТБК-активних продуктів у СОТ, підвищувалась активність МПО та iNOS, порівняно з показниками при дії НІРО.

Висновки. Введення вітаміну Е на тлі НІРО знижувало вміст ТБК-активних продуктів, нітрит-аніону, активність iNOS у СОТ, порівняно з показниками НІРО. Введення вітаміну Е на тлі дії рентгенівського опромінення та стресу порівняно з показниками при дії стресу на тлі НІРО на стан нітрузо-оксидативних процесів у СОТ призводило до зниження рівня активності iNOS та вмісту ТБК-активних продуктів. Ефект стресу на тлі впливу вітаміну Е та НІРО менш виражений, про що засвідчує зменшення вмісту ТБК-активних продуктів, активності МПО та iNOS.

Вступ

На сьогодні одночасна дія стресу та радіаційного опромінення на організм людини спостерігається внаслідок різних ситуацій: у працівників, які отримують низькоінтенсивне рентгенівське опромінення (НІРО), за умов виконання функціональних обов'язків; у мешканців, що постраждали від аварій на ядерних електростанціях; у хворих, які отримують радіаційне опромінення з лікувальною метою [10].

Як дія стресу, так і вплив НІРО викликають порушення функціонування клітин слизової оболонки органів травлення (СОТ), що проявляється виразковими, деструктивними та дисрегуля-

торними процесами. Так, при застосуванні радіаційної терапії у пацієнтів відзначали розвиток виразки шлунка, у тонкій кишці - кровотечі, виникнення свища, обструктивні зміни [14, 18]. Часто під час застосування променевої терапії виникають негативні побічні наслідки у вигляді радіаційного ентериту або коліту у 50-70% пацієнтів [22, 23].

Самостійна дії стресу, залежно від його тривалості, викликає розвиток деструктивних ушкоджень СОТ, найбільш виражені з яких проявляються у вигляді ерозій та виразок у слизовій оболонці шлунка. Викликані дією стресу морфологічні зміни також відзначені у слизових оболонках тон-

кої та товстої кишки [4, 6, 15].

У механізмах порушення цілісності СООТ провідну роль відіграють зміни активності NO-синтази, процесів ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантного захисту. Вплив радіаційного опромінення та стресу викликають у клітинах організму зростання рівня вільнорадикальних реакцій та підвищення продукції радикалів нітрогену оксиду, що призводить до різноманітних змін структури та функціонування багатьох цитоплазматичних молекул [21, 24].

До речовин, що мають антиоксидантні властивості, належить вітамін Е. Основна антиоксидантна дія вітаміну Е містить зв'язування ним різних радикалів (ліпідних, активних форм кисню, нітрит-аніону тощо), окрім цього він бере участь у багатьох клітинних процесах - передає сигнальну інформацію, модулює активність ряду генів тощо [20, 25].

Тому мета дослідження - вивчення дії низькоінтенсивного рентгенівського опромінення впродовж 20 днів, впливу поєднаної дії рентгенівського опромінення та стресу на стан NO-синтазної системи й оксидативні процеси у СООТ та оцінка корегуючого впливу вітаміну Е в дозі 30 мг/кг на тлі дії рентгенівського опромінення та стресу у щурів.

Матеріал і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 200-240 г (n=60) згідно з існуючими етичними правилами роботи з лабораторними тваринами з дотриманням Європейської конвенції про захист тварин. Тварини розділені на 6 груп: перша - тварини контрольної групи (n=10), друга - тварини (n=8), яких упродовж 20 діб опромінювали у щодобовій дозі 1 сГр на апараті РУМ-17 (сумарна доза становила 20 сГр) з використанням фільтрів Cu (0,5 мм) та струму (1,0 МА), потужність дози 0,042 МГр/с, напруга 110 Кв, сила струму 4 МА, шкірно-фокусна відстань 178 см [3]; третя група - тварини (n=8), яких піддавали дії водно-іммобілізаційного стресу (ВІС) протягом п'яти годин; четверта група - тварини (n=8), яких піддавали дії ВІС після закінчення дії низькоінтенсивного рентгенівського опромінення (сумарна доза 20 сГр); п'ята - тварини (n=8), яким двічі на тиждень внутрішньошлунково вводили вітамін Е у ((±)- α -токоферол, C₂₉H₅₀O₂, "Sigma"), який попередньо розчинений у соняшниковій олії, у дозі 30 мг/кг на тлі опромінення; шоста - тварини (n=8), яким два рази на тиждень внутрішньошлунково вводили вітамін Е у дозі 30 мг/кг на тлі опромінення та дії ВІС.

Забір матеріалу для досліджень проводили під

уретановим знечуленням (1,1 мг/кг). У гомогенатах слизових оболонок шлунка (СОШ), тонкої кишки (СОТнК) та товстої кишки (СОТвК) визначали активність NO-синтази [12], аргінази [16], мілопероксидази (МПО) [13], супероксиддисмутази (СОД) [9], каталази [5], вміст ТБК-активних продуктів [8] та нітрит-аніону [17].

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики за допомогою пакетів програми ANOVA "Statistica" та оцінювали з використанням t-критерію Стюдента. Статистично достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Сумарне рентгенівське опромінення у дозі 20 сГр на 20-й день викликало, порівняно з показниками контрольних тварин, зростання процесів ПОЛ - вміст ТБК-активних продуктів у СОШ збільшився на 41% ($p < 0,05$), у СОТнК - на 16% ($p < 0,05$), у СОТвК - на 20% ($p < 0,05$); паралельно зростала у досліджуваних органах активність МПО (на 46%, 42% та у 3 рази, відповідно), активність індукцибельної NO-синтази (iNOS) (на 101%, 3,6 рази та 94%, відповідно) та вміст нітрит-аніону (на 41%, $p < 0,05$; на 13%, $p < 0,05$; та на 14%, $p < 0,05$). Активність cNOS та аргінази достовірно не змінювалась. Активність СОД достовірно зростала тільки у СОШ, активність каталази підвищувалась у СООТ (табл. 1 та 2).

Самостійна дія стресу призводила до зростання: рівня процесів ПОЛ - вміст ТБК-активних продуктів у СОШ збільшився на 22% ($p < 0,05$), у СОТнК - на 13% ($p < 0,05$), у СОТвК - на 25% ($p < 0,05$); активності МПО у 4,5 рази ($p < 0,05$), у 2,9 рази ($p < 0,05$) та у 3 рази ($p < 0,05$) (у СОШ, СОТнК, СОТвК, відповідно), порівняно з показниками контрольних тварин. Після дії стресу підвищувалась активність СОД: у СОШ на 32% ($p < 0,05$), у СОТнК на 32% ($p > 0,05$), у СОТвК - на 59% ($p < 0,05$) та знижувалась активність каталази - у СОТнК та СОТвК.

Дія стресу викликала зміни активності ізоензимів NO-синтази - активність iNOS різко підвищувалась у СОШ, СОТнК та СОТвК (у 4,5 рази, 7,5 рази та 6,8 рази відповідно), активність cNOS знижувалась - на 36% ($p < 0,05$) у СОШ, на 32% ($p < 0,05$) у СОТнК та 16% ($p > 0,05$) у СОТвК. Зростання активності iNOS призводило до зростання продукції нітрит-аніону - на 72% ($p < 0,05$) у СОШ, на 26% ($p < 0,05$) у СОТнК та на 14% у СОТвК, тоді як рівень активності аргінази зменшувався у СОШ на 33% ($p > 0,05$), у СОТнК на 30% ($p < 0,05$) та у СОТвК 25% ($p > 0,05$) (табл. 1, 2).

Вплив стресу на тлі рентгенівського опромінення призводив до тенденції зростання рівня ТБК-активних сполук у СООТ, активність МПО підвищувалась у СОШ у 2,3 рази ($p < 0,05$), у СОТнК - на 72% ($p < 0,05$), у СОТвК - на 70% ($p < 0,05$), активність каталази зростала у СОШ ($p < 0,05$), порівняно з показниками внаслідок дії радіаційного опромінення. Активність іNOS за умов дії стресу на тлі рентгенівського опромінення зростала у СОШ на 14%, у СОТнК - на 83% ($p < 0,05$), у СОТвК - на 167% ($p < 0,05$), тоді як активність сNOS, вміст нітрит-аніону та активність аргінази достовірно не змінювались, порівняно з показниками впливу тільки рентгенівського опромінення.

Введення вітаміну Е на тлі рентгенівського опромінення призводило до зниження вмісту ТБК-активних продуктів, активності іNOS, вмісту нітрит-аніону у СООТ, порівняно з показниками

рентгенівського опромінення (табл. 1,2).

При цьому активність СОД знижувалась у СОШ та у СОТвК, тоді як активність каталази зростала у всіх досліджуваних органах: у СОШ - на 52% ($p < 0,05$), у СОТнК - на 25% ($p < 0,05$), у СОТвК на 34% ($p < 0,05$). Слід зауважити, що дія вітаміну Е викликала зростання активності МПО: у СОШ - на 58% ($p < 0,05$), у СОТнК - на 74% ($p < 0,05$), у СОТвК - на 57% ($p < 0,05$). Отже, введення вітаміну Е у дозі 30 мг/кг двічі на тиждень на тлі НІРО знижувало рівень процесів ліпопероксидації та активність іNOS, однак при цьому зростала активність МПО.

Порівнюючи введення вітаміну Е на тлі дії рентгенівського опромінення та стресу з показниками при дії стресу на тлі НІРО на стан нітритно-оксидативних процесів у СООТ, ми відзначили зниження рівня активності іNOS та вмісту ТБК-активних продуктів. З іншого боку, оцінюючи дію

Таблиця 1

Вміст ТБК-активних продуктів та активність СОД, каталази та мієлопероксидази у СОШ, СОТнК та СОТвК внаслідок дії вітаміну Е на тлі рентгенівського опромінення та дії стресу ($M \pm m$, $n = 50$)

Серії дослідів	Відділи травної системи	ТБК-активні продукти мкмоль/г·л	Активність СОД мкмоль НСТ/хв·мг білка	Активність каталази H_2O_2 /хв·мг білка	Активність МПО ум.од.
Тварини контрольної групи	СОШ	209,9±6,36	21,6±2,1	12±2,6	1,36±0,67
	СОТнК	212,7±16,8	20,3±4,1	19,05±1,63	1,68±0,62
	СОТвК	219,1±19,02	18,6±1,5	19,7±2,0	0,96±0,29
Рентгенівське опромінення	СОШ	256,9±14,9*	34,7±1,83 [#]	17,1±4,17	3,18±0,96*
	СОТнК	246,8±10,6*	22,4±1,88	26,4±4,6*	3,87±0,99*
	СОТвК	264±12,1*	20,8±1,6	24,6±3,33*	2,6±0,78*
Стрес	СОШ	256,5±15,6* [^]	28,6 ± 5,9*	14,2 ± 1,81 [^]	6,2±1,16*
	СОТнК	239,9 ± 4,1* [^]	26,8 ± 2,55	15,3 ± 1,85 [^]	4,9 ± 1,48*
	СОТвК	274,6 ± 20,9*	29,6± 4,16*	11,0 ± 1,75 [^]	2,9 ± 0,79* [^]
Рентгенівське опромінення+ стрес	СОШ	293,1±10,1 [#]	28,5±4,32	25,9±0,65 [#]	7,3±1,2 [#]
	СОТнК	272,6±5,2 [#]	23,4±0,25	20,3±2,94	6,65±1,1 [#]
	СОТвК	305,1±14,0 [#]	23,9±1,45	26,1±0,45	4,43±0,7 [#]
Рентгенівське опромінення + вітамін Е	СОШ	231,6±19,7	27,6±2,8 [#]	26,05±1,02 [#]	5,03±1,28 [#]
	СОТнК	224,8±9,4	29,2±2,86 [#]	32,9±3,43 [#]	6,75±1,42 [#]
	СОТвК	256,7±12,3	17,3±1,92 [#]	33±2,65 [#]	4,08±0,32
Рентгенівське опромінення + вітамін Е + стрес	СОШ	245,2±18,7	26,2±1,75	25,1±1,75	5,0±0,98
	СОТнК	236,2±18,0	28,7±0,92	24,6±1,53	5,53±1,0
	СОТвК	244,1±15,3	19,6±1,25	27,7±2,0	3,79±0,62

Примітка: * - порівняно з контролем; [#] - порівняно з показниками за умов рентгенівського опромінення; [^] - порівняно з показниками за умов рентгенівське опромінення+ стрес

стресу на тлі впливу вітаміну Е та НІРО, виявили, що ефект стресу зменшився, про що засвідчує вміст ТБК-активних продуктів, активності МПО та іNOS.

Механізм дії НІРО та стресу на патохімічні процеси у СООТ, з одного боку, є подібним, а з другого, - залежить від характеру та тривалості їх

впливу. Руйнівна дія радіаційного ушкодження на клітини, у першу чергу, пов'язана із підвищенням продукції радикалів (O₂·, OH·, H· тощо) та активією процесів ліпопероксидації, тоді як при дії стресу, внаслідок вазоконстрикції та гіпоксії клітин, активуються різні прозапальні ензими - зростає активність індукційної NO-синтази,

Таблиця 2

Активність ізоформ NO-синтази, аргінази та вміст нітрит-аніону у СОШ, СОТнК та СОТвК при дії вітаміну Е на тлі рентгенівського опромінення та дії стресу ($M \pm m$, $n = 50$)

Серії дослідів	Відділи травної системи	Активність iNOS нмоль/хв·мл	Активність cNOS нмоль/хв·мл	Активність аргінази мкмоль/хв·мг білка	Вміст нітрит-аніону мкмоль/л
Тварини контрольної групи	СОШ	124,7±27,1	536±42,5	0,24±0,02	15±1,5
	СОТнК	55,4±15,7	661,4±29,7	0,27±0,02	17,8±1,2
	СОТвК	63,1±26,7	602±72,1	0,24±0,02	17,6±1,2
Рентгенівське опромінення	СОШ	251,1±28,7*	624,5±48,1	0,19±0,01	21,2±0,6*
	СОТнК	200,3±39,9*	610,2±57,5	0,22±0,02	20,2±1,3*
	СОТвК	119,2±13,1	649,9±47,5	0,26±0,03	20,1±1,3*
Стрес	СОШ	562,2±43,1*#^	341,8± 34,1*#^	0,16 ± 0,03*	25,8 ± 0,8*
	СОТнК	416,3±24,3*#^	450,1 ± 39,5*#^	0,19 ± 0,03*	22,4± 2,1*
	СОТвК	430,3 ± 37,4 * # ^	503,7 ± 37,2^	0,18 ± 0,03	20 ± 1,1
Рентгенівське опромінення+ стрес	СОШ	286,8±14,4	580,4±40,3	0,18±0,01	22,6±1,2
	СОТнК	366,9±12,1#	637,4±34,6	0,19±0,03	21,5±0,5
	СОТвК	318,8±24,4#	575,2±12,5	0,21±0,02	21,1±0,8
Рентгенівське опромінення + вітамін Е	СОШ	152,7±33,1#	453,6±58,6	0,23±0,02	17,7±0,9#
	СОТнК	65,2±18,8#	456,4±42,3	0,25±0,03	17±0,9#
	СОТвК	72,5±14,1#	616,5±34,1	0,26±0,02	18,2±1,17
Рентгенівське опромінення + вітамін Е+ стрес	СОШ	110,7±17,5^	507,1±39,8	0,20±0,02	20,8±0,82
	СОТнК	146,8±37,5^	547±37,6^	0,28±0,02	20,2±1,76
	СОТвК	183,6±20,7^	528,3±32,7	0,25±0,02	20,7±0,89

Примітка: * - порівняно з контролем; # - порівняно з показниками за умов рентгенівського опромінення; ^ - порівняно з показниками за умов рентгенівського опромінення+ стрес

циклооксигенази-2, мієлопероксидази [1, 11, 21]. Внаслідок дії НІРО та стресу підвищення нітрозоксидативних процесів є основним фактором виникнення деструктивних пошкоджень клітин СООТ, порушення їх секреторної функції, виникнення дисбіозу тощо [2, 7, 15].

НІРО викликає односпрямовані зміни нітрозоксидативних процесів (зростання процесів ПОЛ, активності iNOS та МПО) у СООТ, при цьому відзначались органоспецифічні зміни, що проявлялись у більш вираженому зростанні активності iNOS у СОТнК, активності МПО у СОТвК, що, можливо, зумовлено різною радіочутливістю епітеліальних клітин цих відділів травної системи.

Дія ВІС супроводжується зростанням процесів ліпопероксидації, активності МПО та iNOS у СООТ, одночасно у СОШ виникали деструктивні ушкодження, що підтверджується даними інших авторів [4, 6, 19].

Порівнюючи зміни нітрозоксидативних процесів за умов окремої дії НІРО та стресу, бачимо, що при дії стресу більш виражено зростала активність iNOS у всіх відділах СООТ, активність МПО та вміст нітрит-аніону у СОШ, знижувалась активність cNOS, каталази та аргінази. Отже, як НІРО, так і стрес викликають зростання рівня нітрозоксидативних процесів у СООТ, однак

характер та інтенсивність цих процесів є неоднаковими.

Аналізуючи показники за умов дії ВІС на тлі рентгенівського опромінення, порівняно з самотійним впливом активність каталази зростала у СОШ ($p < 0,05$), можна відзначити, з однієї сторони, їх аддитивний ефект на продукцію ТБК-активних речовин та активність МПО і каталази, а з другої, - зниження рівня активності iNOS, порівняно з впливом стресу, що, ймовірно, пов'язано із зниженням експресії mRNA iNOS, викликаного впливом НІРО.

Нашими дослідженнями доведено, що антиоксидантні властивості вітаміна Е (30 мг/кг при пероральному введенні двічі на тиждень) на тлі впливу НІРО пов'язані із зниженням утворення ТБК-активних продуктів, активності iNOS та вмісту нітрит-аніону, зростанні активності каталази у СООТ. Введення вітаміну Е на тлі НІРО та дії ВІС засвідчили зменшення ефекту ВІС. Одночасно нами відзначено зростання рівня активності МПО при введенні вітаміну Е на тлі НІРО, що потребує поглибленого вивчення.

Висновки

1. Як самостійна дія стресу, так і вплив НІРО (у сумарній дозі 20 сГр на двадцятий день) вик-

ликають зростання процесів ліпопероксидації, підвищення активності iNOS, МПО СОД; активність каталази зростала при впливі НІРО та знижувалась при дії стресу, порівняно з показниками контрольної групи тварин.

2. Вплив стресу на тлі НІРО призводив до зростання нітрато-оксидативних процесів у слизових оболонках органів травлення, порівняно з показниками рентгенівського опромінення; порівняно ж із показниками самостійної дії стресу - показники iNOS у досліджуваних органах виявилися значно нижчими.

3. Введення вітаміну Е двічі на тиждень протягом 20 днів на тлі дії НІРО та стресу викликало зниження рівня процесів ПОЛ та активності iNOS, що лежать в основі його радіопротекторної та протизапальної дії.

Перспективи подальших досліджень

Тривала дія НІРО може викликати зміни нітрато-оксидативних процесів, які за вираженістю можуть бути на рівні впливу гострого стресу. У зв'язку з цим перспективним напрямком досліджень є визначення дії на тлі НІРО різних чинників, що можуть викликати порушення функціонування органів травлення - нестероїдних протизапальних препаратів, ксенобіотиків, різних видів стресу. Водночас важливими є дослідження впливу різних речовин-антиоксидантів за умов одночасної дії рентгенівського опромінення та стресу з метою профілактики та корекції порушених функцій.

Література. 1. Вплив похідного 1,4-нафтохінону та стресу на тлі дії низькоінтенсивного рентгенівського опромінення на нітрато-оксидативні процеси у слизових оболонках органів травлення. / Ільницька Х.М. та ін. Медична та клінічна хімія. 2015. Т.17. №4. С 5-9. 2. Дослідження окремих ферментів антиоксидантної системи еритроцитів тонкого кишківника щурів за умов низькоінтенсивного рентгенівського опромінення / Клевета Г. та ін. Вісник Львівського університету, Серія біологічна. 2002. Вип. 29. С. 49-45. 3. Ефект введення неселективного інгібітора NO-синтази за умов низькоінтенсивного рентгенівського опромінення / Л.О. Дацюк та ін. Біологічні студії. 2009. Т.3. № 3. С.51-58. 4. Зміни показників системи NO-синтаза/аргіназа за умов поєднаної дії гострого стресу та блокування циклооксигенази/ліпооксигенази у тонкій кишці / І.І. Ільків та ін. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2014. № 4. С. 19-25. 5. Метод определения активности каталазы / М.А. Корольков та ін. Лабораторное дело. 1988. № 1. С.16-19. 6. Особливості дії вітамінів Е та С у регуляції NO-синтазної системи у слизових оболонках шлунка і товстої кишки за умов стресу / В.С. Журомський та ін. Медична хімія. 2009. Т. 11. № 3. С. 18 - 20. 7. Роль циклооксигенази у модифікації мікрофлори кишки при стресі / І.С. Фоменко та ін. Фізіологічний журнал. 2015. Т. 61. № 1. С. 40-49. 8. Тимурбулатов М.А. Селезнев Е.И. Метод повышения свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. Лабораторное дело. 1981. № 4. С. 209-211. 9. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом Лабораторное дело. 1991. № 10. С.9-13. 10. Aging and radiation: bad companions. / Hernandez L. et al. // Aging Cell. 2015. Vol.14, N 2. P. 153-161. 11. Amino-guanidine alleviates radiation-induced small-bowel damage

through its antioxidant effect / Huang E.Y. et al. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2009. Vol. 74, N 1. P. 237-244. 12. Boyde J. R. Rahmotullah M. Optimization of conditions for the colorimetric determination of citrulline, using diacetyl monoxim. Anal. Biochem. 1980. № 107. P. 424-431. 13. Bradley P.P., Christensen R.D., Rothstein G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. Blood. 1982. № 60. P. 618-622. 14. Chronic radiation enteritis. / Theis V.S., Sripadam R., Ramani V. et al. Clin. Oncol. (R Coll Radiol). 2010. Vol. 22, N 1. P. 70-83. 15. Effects of conventional and hydrogen sulfide-releasing non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats with stress-induced and epinephrine-induced gastric damage. / Fomenko I. et al. Stress. 2014. Vol. 17. N 6. P. 528-537. 16. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. Anal. Biochem. 1971. Vol. 39. N 2. P. 412-417. 17. Green L.C., David A.W. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids. Anal. Biochem. 1982. Vol. 126. P. 131-138. 18. Henni M., Ali D. Radiation induced side effects. Rev. Prat. 2012. Vol. 62. P. 461-466. 19. Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. J. Physiol. Pharmacol. 2011. Vol. 62, N 6. P. 591-599. 20. Nur Azlina M.F., Kamisah Y., Chua K.H. Preventive Effects of Tocotrienol on Stress-Induced Gastric Mucosal Lesions and Its Relation to Oxidative and Inflammatory Biomarkers. PLoS One. 2015. Vol. 10. N. 10. e0139348. 21. Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur. J. Med. Chem. 2015. Vol. 5, N 97. P. 55-74. 22. Protective Role of Rheum Tanguticum Polysaccharide 1 in Radiation- induced Intestinal Mucosal Injury. / Liu L.N., Shi L., Li S.C. et al. Iran J. Pharm. Res. 2015. Vol. 14, N 3. P. 833-841. 23. Stacey R., Green J.T. Radiation-induced small bowel disease: latest developments and clinical guidance. Ther. Adv. Chronic. Dis. 2014. Vol. 5, N 1. P. 15-29. 24. Szumił I. Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability: the pivotal role of mitochondria. Int. J. Radiat. Biol. 2015. Vol. 91. N 1. P. 1-12. 25. The rise, the fall and the renaissance of vitamin E / Azzi A. et al. Arch. Biochem. Biophys. 2016. Vol. 595. P. 100-108.

References: 1. Vplyv pokhidnoho 1,4-naftokhinonu ta stresu na tli diyi nyz'kointensyvnoho rentheniv'skoho oprominennya na nitrozo-oksydatyvni protsesy u slyzovykh obolonkakh orhaniv travlennya. Il'nyts'ka Kh.M., ta in. [Effect of 1,4-naphthoquinone derivative and stress on the background of low-intensity X-rays to nitrozo-oxidative processes in the mucous membranes of the digestive system]. Medychna ta klinichna khimiya. 2015. Vol..17, №4. P. 5-9. (in Ukrainian). 2. Doslidzhennya okremykh fermentiv antyoksydantnoyi systemy enterotsytiv tonkoho kyshkivnyka shchuriv za umov nyz'kointensyvnoho rentheniv'skoho oprominennya H.Kleveta, ta in. [Research specific enzyme antioxidant system enterocytes of the small intestine of rats under conditions of low X-ray exposure]. Visnyk L'viv'skoho universytetu, Seriya biolohichna. 2002. Vyp. 29. P. 49-45. (in Ukrainian). 3. Efekt vvedennya neselektyvnoho inhibitora NO-syntazy za umov nyz'kointensyvnoho rentheniv'skoho oprominennya / L.O.Datsyuk ta in. [The effect of the introduction of non-selective inhibitor of NO-synthase under conditions of low-intensity X-rays]. Biolohichni studiyi. 2009. Vol.3, № 3. P. 51-58. (in Ukrainian). 4. Zminy pokaznykiv systemy NO-syntaza/arhinaza za umov poyednanoyi diyi hostroho stresu ta blokuvannya tsyklooksyhenazy/lipooksyhenazy u tonkiy kyshtsi / I.I. Il'kiv ta in. [Changes in indicators of NO-synthase / arginase in conditions combined effects of acute stress and blocking cyclooxygenase]. Biokhimiya. 2014. № 4. P. 19-25. (in Ukrainian). 5. Metod opredelenija aktivnosti katalazy / M.A.Koroljuk ta in. [Method for the determination of catalase activity]. Laboratornoe delo. 1988. № 1. P.16-19. (in Russian). 6. Osoblyvosti diyi vitaminiv E ta S u rehulyatsiyi NO-syntaznoyi systemy u slyzovykh obolonkakh shlunka i tvostoyi kyshky za umov stresu / V.S. Zhurom'skyy ta in. [Features of action of vitamins E and C in the regulation of NO-synthase system in the mucous membranes of the stomach and colon under conditions of stress]. Medychna khimiya. 2009. Vol. 11, N 3. P. 18 - 20. (in Ukrainian). 7. Rol' tsyklooksyhenazy u modyfikatsiyi mikroflory kyshky pry stresі / I.S.Fomenko, O.P. Korniychuk, A.R. Hural' [ta spivav.] [The role of cyclooxygenase modifying the gut microflora under stress]. Fiziolohichnyy zhurnal. 2015. Vol. 61, № 1. P. 40-49.

(in Ukrainian). 8. Timurbulatov M.A., Seleznev E.I. Metod povysheniya svobodnoradikal'nogo okisleniya lipid-soderzhashchih komponentov krovi i ego diagnosticheskoe znachenie [The method of increasing free-radical oxidation of lipid-containing blood components and its diagnostic value] *Laboratornoe delo*. 1981. № 4. P. 209-211. (in Russian). 9. Chevari S., Andja T., Shtrenger J.A. Opredelenie antioksidantnyh parametrov krovi i ih diagnosticheskoe znachenie v pozhilom vozraste [Determination of antioxidant blood parameters and their diagnostic value in old age]. *Laboratornoe delo*. 1991. № 10. P. 9-13. (in Russian). 10. Aging and radiation: bad companions / Hernandez L., Terradas M., Camps J. [et al.] // *Aging Cell*. 2015. Vol. 14, N 2. P. 153-161. 11. Aminoguanidine alleviates radiation-induced small-bowel damage through its antioxidant effect / Huang E.Y., Wang F.S., Lin I.H. [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009. Vol. 74, N 1. P. 237-244. 12. Boyde J. R. Rahmotullah M. Optimization of conditions for the colorimetric determination of citrulline, using diacetyl monoxim. // *Anal. Biochem.* 1980. № 107. P. 424-431. 13. Bradley P.P., Christensen R.D., Rothstein G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. // *Blood*. 1982. № 60. P. 618-622. 14. Chronic radiation enteritis. / Theis V.S., Sripadam R., Ramani V. [et al.] // *Clin. Oncol. (R Coll Radiol)*. 2010. Vol. 22, N 1. P. 70-83. 15. Effects of conventional and hydrogen sulfide-releasing non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats with stress-induced and epinephrine-induced gastric damage. / Fomenko I.I., Sklyarov A., Bondarchuk T. [et al.] // *Stress*. 2014. Vol. 17, N 6. P. 528-537. 16. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates // *Anal. Biochem.* 1971. Vol. 39, N 2. P. 412-417. 17. Green L.C., David A.W. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids // *Anal. Biochem.* 1982. Vol. 126. P. 131-138. 18. Henni M., Ali D. Radiation induced side effects. // *Rev. Prat.* 2012. Vol. 62. P. 461-466. 19. Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options // *J. Physiol. Pharmacol.* 2011. Vol. 62, N 6. P. 591-599. 20. Nur Azlina M.F., Kamisah Y., Chua K.H. Preventive Effects of Tocotrienol on Stress-Induced Gastric Mucosal Lesions and Its Relation to Oxidative and Inflammatory Biomarkers // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, N 10. e0139348. 21. Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. // *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 5, N 97. P. 55-74. 22. Protective Role of Rheum Tanguticum Polysaccharide 1 in Radiation - induced Intestinal Mucosal Injury. / Liu L.N., Shi L., Li S.C. [et al.] // *Iran J. Pharm. Res.* 2015. Vol. 14, N 3. P. 833-841. 23. Stacey R., Green J.T. Radiation-induced small bowel disease: latest developments and clinical guidance. // *Ther. Adv. Chronic. Dis.* 2014. Vol. 5, N 1. P. 15-29. 24. Szumiel I. Ionizing radiation-induced oxidative stress, epigenetic changes and genomic instability: the pivotal role of mitochondria. // *Int. J. Radiat. Biol.* 2015. Vol. 91, N 1. P. 1-12. 25. The rise, the fall and the renaissance of vitamin E. / Azzi A., Meydani S.N., Meydani M. [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* 2016. Vol. 595. P. 100-108.

**ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА ФОНЕ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНОВСКОГО
ОБЛУЧЕНИЯ НА НИТРОЗО-ОКСИДАТИВНЫЕ
ПРОЦЕССЫ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ И
КОРРЕГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ВИТАМИНА Е У
КРЫС**

Х.Н. Ильницкая, Л.О. Дацюк, А.Я. Скларов

Цель работы - исследование влияния низкоинтенсивного рентгеновского облучения (НИРО) на протяжении 20 дней, одновременного действия рентгеновского облучения и стресса на активность NO-синтазной системы и окислительные процессы в слизистых оболочках органов пищеварения (СООП) и оценка корректирующего действия витамина Е в дозе 30 мг/кг на фоне рентгеновского облучения и стресса у крыс.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых беспородных крысах массой 200-240 г (n=60). Животные были разделены на 6 групп. Статистическую обработку результатов провели с использованием методов вариацион-

ной статистики с помощью пакетов программы ANOVA "Statistica" и оценили с использованием t-критерия Стюдента.

Результаты. Суммарное рентгеновское облучение (в дозе 20 сГр на 20-й день) вызывало, по сравнению с показателями контрольных животных, увеличение содержания в СООП ТБК-активных продуктов, нитрит-аниона, активность миелопероксидазы (МПО) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS). Самостоятельное действие стресса приводило к повышению: содержания ТБК-активных продуктов; нитрит-аниона, активности МПО, iNOS, СОД, при этом активность сNOS, аргиназы и каталазы снижалась. Влияние стресса на фоне НИРО приводило к тенденции повышения уровня ТБК-активных продуктов в СООП, активности МПО и iNOS, по сравнению с показателями при действии НИРО.

Выводы. Введение витамина Е на фоне НИРО снижало содержание ТБК-активных продуктов, нитрит-аниона и активность iNOS в СООП, по сравнению с показателями НИРО. Введение витамина Е на фоне действия НИРО и стресса на состояние нитрозо-окислительных процессов в СООП, по сравнению с показателями при действии стресса на фоне НИРО, привело к снижению активности iNOS и содержания ТБК-активных продуктов. Эффект стресса на фоне влияния витамина Е и НИРО был меньшим, про что свидетельствует о снижении уровня содержания ТБК-активных продуктов, активности МПО и iNOS.

**THE INFLUENCE OF STRESS ON THE
BACKGROUND OF LOW INTENSITY X-RAY
IRRADIATION ON NITROSE-OXIDATIVE PROCESSES
IN MUCOUS MEMBRANES OF DIGESTIVE ORGANS
AND CORRECTIVE EFFECT OF VITAMIN E IN RATS**

Kh. Hlyntska, L. Datsyuk, O. Sklyarov

Aim of the study was to investigate the effect of the low intensity X-ray irradiation during 20 days, the effect of combined effect of X-ray irradiation and stress on the condition of NOsynthase system and oxidative processes in the mucous membranes of the digestive organs and to evaluate the corrective effect of the vitamin E in dose 30mg/kg on the background of X-ray irradiation and stress in rats.

Material and methods. The studies were conducted on white outbred rats weighing 200-240 g (n=60). The animals were divided into 6 groups: the first - control group animals (n=10), the second - the animals (n=8), which during 20 days were irradiated in daily dose 1 sGy; the third group - animals (n=8), which were exposed to the effect of water-immobilisation stress (WIS) during five hours; the fourth group - animals (n=8), which were exposed to the effect of the water-immobilisation stress after the end of the action of X-ray irradiation (total dose 20 sGy); the fifth group - the animals (n=8), which twice per week were intragastrically administered vitamin E in the dose 30 mg/kg on the background of the irradiation; the sixth group - animals (n=8), which twice per week were intragastrically introduced vitamin E in a dose 30 mg/kg on the background of the irradiation and water-immobilisation stress. In homogenates of the mucous membranes of stomach (MMS), small intestine (MMSI) and large intestine (MMLI) the activity of NO-synthase, arginase, myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD), catalase, content of TBA-active products and nitrite anion were determined. Statistical procession of the results was performed using the methods of variation statistics with the help of the packages of ANOVA "Statistica" program and were evaluated using t-criterion of Student.

Results. Compared to the control group animals, the total X-ray irradiation (in a dose 20 sGy on the 20th day) caused the increase of the content of TBA-active products (in MMS - 41% (p<0.05), in MMSI - for 16% (p<0.05), in MMLI - for 20%

($p < 0.05$); MPO activity in investigated organs (for 46%, 42% and 3-fold relevantly), activity of inducible NO-synthase (iNOS) (for 101%, 3.6-fold and 94%, relevantly) and the content of nitrite anion (for 41%, $p < 0.05$; for 13%, $p < 0.05$; for 14%, $p < 0.05$). Activity of cNOS and arginase did not change significantly. The independent effect of WIS caused an increase of the following indices: TBA-active products, nitrite-anion, MPO activity, iNOS activity, SOD activity and decrease of the activity of cNOS, arginase and catalase. The effect of WIS on the background of X-ray irradiation caused an increase of the level of TBA-active products in the mucous membranes of the digestive organs, activity of MPO and iNOS compared to the relevant indices under the conditions of the effect of low intensity X-ray irradiation.

Administration of the vitamin E on the background of X-ray irradiation resulted in the decrease of the content of TBA-active products, iNOS activity, nitrite anion content in the mucous membranes of the digestive organs compared to the effect of the low intensity X-ray irradiation.

Conclusions. Comparing the introduction of vitamin E on

the background of X-ray irradiation and stress with the relevant indices obtained under the conditions of the effect of WIS on the background of the low intensity X-ray irradiation on the status of nitroso-oxidative processes in the mucous membranes of the digestive organs the increase of the level of iNOS activity and TBA-active products content was noted. Evaluating the effect of WIS on the background of the action of vitamin E and low intensity X-ray irradiation, the effect of WIS was less significant, what was stated based on the decrease of the TBA-active products content, MPO and iNOS activity.

Keywords: X-ray irradiation, effect of stress, digestive system organs, NO-synthase system, processes of lipoperoxidation, vitamin E.

Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky;

Lviv National University named after Ivan Franko

Clin. and experim. pathol.-2017.-Vol.16,№2(60),p.2.-P.125-131.

Надійшла до редакції 20.04.2017

Рецензент – проф. Р.В.Сенютович

© Х.М. Ільницька, Л.О. Дацюк, О.Я. Склярів, 2017