

УДК : 577.12:577.16]:615

THE MECHANISM OF ACTION OF STRESSOR ON THE EXCHANGE OF
SOME BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE BODY
МЕХАНІЗМ ДІЇ ДЕЯКИХ СТРЕСОРІВ НА ОБМІН БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ
РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ

Sovtysik D.D. / Совтисік Д.Д.

c.b.s., as.prof. / к.б.н., доц.

ORCID: 0000-0003-3893-2030

Kamianets-Podilskyi Ivan Ohienko National University,

Kamianets-Podilskyi, Ohienko, 61, 32300

Кам'янець-Подільський національний університет імені Івана Огієнка,

м. Кам'янець-Подільський, Огієнка, 61, 32300

Анотація. В роботі вивчався механізм дії стресорів на обмін ретинолу і його ефірів в слизовій оболонці тонкого кишечника і мембранах мікроворсинок її епітеліальних клітин щурів в нормі та за стресових станів, що виникають при експериментальних гіпо- та гіпервітамінозах А, і також під впливом іонізуючого опромінення та карциноми Герена.. Поєднана взаємодія масивних доз вітаміну А і тотального опромінення призводить до більш різкого гальмування росту пухлин та більш вираженій нормалізації вмісту різних форм вітаміну А і активності ферментів їх обміну в клітинах та мембранах епітеліоцитів тонкого кишечника.

Ключові слова: стресори, біологічно-активні речовини, вітамін А, авітаміноз, гіпервітаміноз, іонізуюче опромінення, пухлинний ріст.

Abstract. The work studied the mechanism of the effect of stressors on the exchange of retinol and its esters in the mucous membrane of the small intestine and the membranes of microvilli of its epithelial cells of rats in normal conditions and under stressful conditions arising from experimental hypo- and hypervitaminosis A, and also under the influence of ionizing radiation and Geren's carcinoma. The combined interaction of massive doses of vitamin A and total irradiation leads to a sharper inhibition of tumor growth and a more pronounced normalization on the content of various forms of vitamin A and the activity of enzymes of their metabolism in cells and membranes of epitheliocytes of the small intestine.

Key words: stressors, biologically active substances, vitamin A, vitamin deficiency, hypervitaminosis, ionizing radiation, tumor growth.

Вступ.

Відомо, що біологічно активні речовини, серед яких вітамін А необхідний для функціонування імунної системи [4], нормального репродукування та диференціювання епітеліальних тканин, для формування та росту кісток, а також для структурної організації і цілісності біологічних мембран. Проте молекулярні механізми дії вітаміну А, а також деякі сторони обміну ретинолу і його похідних, власне, питання всмоктування і перетворення вітаміну А та його ефірів в кишечнику залишаються ще до кінця не виясненими [5]. Крім того, метаболічне перетворення ретинолу і його ефірів залежать від функціонального стану шлунково-кишкового тракту, який може мінятися не тільки від забезпечення організму вітаміном А, але і за дії таких стресорів, як іонізуюча радіація і канцерогенез, що викликають симптоми гіповітамінозу А.

Основний текст.

Біологічною активністю вітаміну А володіють хімічно споріднені сполуки - ретиноїди, куди входять: ретинол, ретиналь, ретиноева кислота та їх ефіри, які

проявляють різносторонній вплив на організм [2, 4, 5].

Метаболічне перетворення ретинолу і його ефірів залежать від функціонального стану шлунково-кишкового тракту, який може змінюватись не тільки від забезпеченості організму вітаміном А, але і від дії таких факторів, як іонізуюча радіація і канцерогенез, які викликають стресові стани, в тому числі симптоми гіповітамінозу А [1, 2, 5, 6, 7].

Навпаки А-авітаміноз сприяє виникненню і супроводжує розвиток новоутворень [9, 10].

Метою роботи було отримати нові експериментальні дані про вплив стресорів, а саме, дисбалансу вітаміну А, радіації і злоякісного росту на обмін вітаміну А і його форм в тонкому кишечнику тварин.

Матеріали та методи.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах. Всі тварини були поділені на чотири груп, кожна з яких розділена на підгрупи. Перша група: 1) контрольні, 2) А-гіповітамінозні і 3) А-гіпервітамінозні тварини. До другої групи увійшли: 1) контрольні тварини, 2) контрольні, опромінені, 3) гіповітамінозні, опромінені і 4) А-гіпервітамінозні, опромінені. Третю групу складають наступні тварини: 1) опромінені дозою 600 рентген (р), 2) щурі, опромінені в дозі 600 р, з попереднім введенням вітаміну А (200 000 МО), 3) щурі з перевитою карциномою Герена, 4) тварини з пухлиною Герена, які отримували масивні дози вітаміну А, 5) щурі-пухлиноносії, піддані опроміненню (600 р), 6) щурі-пухлиноносії, опромінені тотально і які отримували попередньо масивні дози вітаміну А. Четверту групу склали тварини із серії контрольних, А-гіпо- і А-гіпервітамінозних тварин, котрим трансплантували карциному Герена.

Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом та згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1998) та норм біомедичної етики, відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006).

Для вивчення впливу вітаміну А на обмін ретинолу і його ефірів в слизовій кишечника тварин-пухлиноносіїв щурам третьої групи (3,4,5,6 підгрупи) перещеплювали карциному Герена (штам пухлини наданий Інститутом експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України). Після семи днів після трансплантації пухлини тваринам 4 і 6 підгруп третьої групи внутрічеревно протягом шести діб рівномірно вводили сумарно 200 000 МО вітаміну А-ацетату, також як і тваринам із другої підгрупи. Крім цього, 1, 2, 5 і 6 підгрупам тварин із цієї ж групи тварин піддавали тотальному рентгенівському опроміненню (600 р).

Препарати плазматичних мембран кишечника отримували за методом Forstner і ін. в модифікації. Чистоту ізольованих мембран контролювали з допомогою електронної мікроскопії.

В основу методу визначення активності ретинілпальмітатгідролази (РПГ), ретинілацетгідролази (РАГ) і ретинілпальмітатсинтетази (РПС) були покладені методи Machadevan і Nir. Розподіл ретинолу (Р), ретинілпальмітату (РП) і

ретинілацетату (РА) проводився з допомогою тонкошарової хроматографії.

Кількісне визначення форм вітаміну А проводили двома методами – колориметричним і спектрофотометрично.

Отримані дані були опрацьовані за допомогою програми «STATISTICA» з використанням 5% вірогідності за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Приймаючи до уваги той факт, що при недостатності вітаміну А виникають зміни, в першу чергу, в епітеліальній тканині і оскільки відомо, що кишечнику належить провідна роль в метаболізмі вітаміну А [9], нами досліджено кількісний вміст Р і РП в слизовій оболонці тонкого кишечника і її клітинних мембранах. Вміст Р (таблиця 1) в слизовій кишечника А-гіповітамінозних тварин складає 20% від контролю, а в гіпервітамінозних підвищується на 77%.

Таблиця 1 - Вплив дисбалансу вітаміну А на вміст ретинолу і ретинілпальмітату в тонкому кишечнику білих щурів (n=6)

Статистичні показники	Слизова оболонка (в мкг/г тканини)			Мембрани клітин (в мкг/г мембран)		
	Контроль	А-гіпо-вітам-з	А-гіпер-вітам-з	Контроль	А-гіпо-вітам-з	А-гіпер-вітам-з
Р е т и н о л						
М	9,032	1,823	16,41	2,063	0,806	12,61
±m	1,1	0,2	1,6	0,2	0,2	2,1
Р е т и н і л п а л ь м і т а т						
М	1,308	5,308	8,100	0,509	1,263	2,925
±m	0,1	0,4	1,2	0,08	0,2	0,1

(Примітка: Всі дані статистично вірогідні $P < 0,02-0,01$)

Авторська розробка

Таку ж закономірність ми спостерігали і в мембранах клітин слизової цих же ж тварин. Відбувається різке збільшення РП в мембранах гіпо- і гіпервітамінозних тварин.

Відомо, що вітамін А із тонкого кишечника транспортується в організмі і в печінку, в якій він депонується у вигляді ефіру – РП. В ході наших досліджень ми виявили, що в печінці А-гіповітамінозних тварин кількість Р різко знижується і складає приблизно 20%, а в гіпервітамінозних підвищується, досягаючи 200% проти контролю (таблиця 2).

В крові вітамін А-дефіцитних тварин відбувається зменшення кількості Р на 82% і РП майже на 50%. При введенні тваринам масивних доз вітаміну А різко збільшується ефірна форма ретинолу майже в 20 разів, а спиртової – в 3,3 рази. В цих умовах в крові спостерігається переважання ефірної форми вітаміну, тоді, як в нормальних тварин вітамін знаходиться тут переважно в спиртовій формі. Оскільки попереднім етапом всмоктування вітаміну А є гідролітичне розщеплення ефіру вітаміну А – РП, яке здійснюється за участі ферментів

слизової оболонки тонкого кишечника, то можна припустити, що однією із головних причин порушень цього процесу, що веде до перерозподілу Р і РП в епітеліоцитах тонкого кишечника і їх мембранах, може виникнути порушення гідролітичного розщеплення і синтезу РП в тонкому кишечнику. Для перевірки цього припущення ми вивчили ретинілпальмітатгідролазу (РПГ) і ретинілпальмітатсинтетазу (РПС) активність в слизовій оболонці тонкого кишечника щурів і її клітинних мембранах в умовах різного забезпечення тварин вітаміном А.

Таблиця 2 - Вміст різних форм вітаміну А в печінці і крові тварин при дисбалансі вітаміну А (n=6)

Статистичні показники	Ретинол			Ретинілпальмітат		
	Конт- роль	А-гіпо- вітам-3	А-гіпер вітам-3	Конт- роль	А-гіпо- вітам-3	А-гіпер вітам-3
П е ч і н к а (в мкг/г тканини)						
М	32,82	6,78	64,25	46,25	15,36	785,42
±m	2,1	0,9	8,1	7,5	0,9	40,2
К р о в (в мкг%)						
М	12,24	2,25	40,63	3,63	1,85	70,62
±m	1,6	0,08	4,2	0,2	0,02	8,5

(Примітка: Всі відмінності між кількістю ретинолу і ефіру в контролі і досліді статистично вірогідні $P < 0,001$)

Авторська розробка

Із всіх вивчених тканин і органів – кров, печінка, тонкий кишечник – виражену активність РПГ вдалось виявити лише в слизовій оболонці тонкого кишечника, причому у А-гіповітамінозних тварин вона була нижчою в 3,8 рази, ніж в контрольних. При введенні тваринам масивних доз вітаміну А активність РПГ різко зростала. Зниження активності РПГ відбувається і в мембранах клітин слизової в умовах дефіциту вітаміну А і складає майже 70% від контролю. Надлишок вітаміну А в організмі тварин викликає підвищення гідролітичної активності в 1,6 рази порівняно з контролем.

Виходячи з результатів даного дослідження, можна зробити висновок, що перерозподіл Р і РП в клітинних мембранах і слизовій оболонці тонкого кишечника при дисбалансі вітаміну А викликані зміною активності відповідних ферментів, що беруть участь в гідролізі і синтезі РП.

З підвищенням дози опромінення посилюється явище А-гіповітамінозу, що проявляється на зміні вмісту ретинолу і його ефіру в слизовій тонкого кишечника і його плазматичних мембранах. Опромінення тварин, що містяться на вітамін А-недостатній дієті, викликає зниження кількості Р в слизові в 6,6 рази (при дозі 200 р) і майже у 8 разів (при дозі 600). Сумісна дія авітамінозу та іонізуючої радіації викликає різке підвищення РП.

Введення тваринам перед опроміненням масивної дози вітаміну А (200 000 МО) веде до нормалізації вмісту Р і РП, кількість яких як в епітеліальних

клітинах слизової так і в їх мембранах досягає контрольних величин.

Таким чином, можна констатувати, що недостатність вітаміну А в організмі посилюється дією іонізуючої радіації, що свідчить перерозподіл форм вітаміну А в слизовій і мембранах. Слід підкреслити цей факт, що масивні дози вітаміну А в деякій мірі пом'якшують дію іонізуючої радіації на організм. Іонізуюче опромінення веде до втрати організмом біологічно активних речовин, в тому числі і вітаміну А, то, можливо, при введенні масивних доз його, відбувається деяка компенсація у вмісті цього вітаміну в організмі, що сприятливо впливає на функції тонкого кишечника опромінених тварин і інших систем організму [3, 7].

Як показали наші дослідження, масивні дози вітаміну А викликають гальмування розвитку пухлин, що проявляється в зменшенні їх об'єму з $29,5 \pm 2,0$ до $5,7 \pm 1,2$ см³ і ваги $13,7 \pm 1,1$ до $4,8 \pm 0,0$ г. Опромінення тварин з карциномою Герена викликає також зменшення ваги і об'єму пухлин. При поєднанні опромінення і введенні масивних доз вітаміну А відбувається різке зменшення ваги (майже в 6 разів) і об'єму пухлини – в 11 разів.

При пригніченні росту пухлини масивними дозами вітаміну А та опроміненням рентгенівськими променями відбувається нормалізація обмінних процесів в органах і тканинах пухлиноносія, в тому числі і слизовій оболонці тонкого кишечника, що супроводжується посиленням процесу гідролізу та зниженням синтезу РЕ, що схоже для нормальних тварин [8, 10].

Висновки.

Отже, в приведених дослідженнях нам вдалось показати, що такі стресори, як недостатність вітаміну А, іонізуюче опромінення і злоякісний ріст проявляють однаковий ефект на процеси гідролізу та синтезу РЕ.

Не викликає сумніву і той факт, що однією із причин перерозподілу різних форм вітаміну А при крайніх формах порушення забезпеченості організму цим вітаміном, це зміна ферментативної активності в процесі метаболізму цих форм.

Можливо, накопичення вітаміну А в слизовій за його нестачі в організмі пов'язано з ростом епітеліоцитів, оскільки він необхідний для регенерації і диференціації цих клітин, що швидко ростуть. Напевно, це накопичення носить адаптивний характер. Крім цього, при різному забезпеченні організму вітаміном А, що викликано дієтичними факторами, опроміненням і пухлинним ростом, відбуваються суттєві порушення в співвідношенні спиртової і ефірної форм вітаміну А в слизовій оболонці тонкого кишечника, що супроводжується різкою зміною в активності ферментів, які здійснюють їх перетворення.

Література:

1. Боярчук О.Д. Біохімія стресу: навч. посіб. Луганськ: Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2013. 177 с.

2. Совтисік Д.Д. Біохімічні основи канцерогенезу в умовах різної забезпеченості вітамінами: на основі літературних джерел. *Наукові праці КПНУ ім. Івана Огієнка*. 2023. Вип. 22. С.635-638.
URL:<https://elar.kpnu.edu.ua/xmlui/handle/123456789/732>

3. Alimohammadi M., Gaffari-Nazari H., Alimochammadi R., Bakhshandeh M., Jalali S.A., Rezaei N. Radiotherapy Combination: Insight From Tumor Immune Microenvironment (TIME). *Avicenna J. Med. Biotechnol.* 2023. Vol.15(4). P.209-215. Doi:10.18502/ajmb.v15i4.13490
4. Chen W., Chen G. The Roles of Vitamin A in the Regulation of Carbohydrate, Lipid and Protein Metabolism. *J. Clin. Med.* 2014. No3(2). P.453-479. <https://doi.org/10.3390/jcm.3020453>
5. Dwyer J., Saldanha L., Haggans C., Poticschman N., Ganche J., Thomas P. Conversions of β -carotene as vitamin A in RAF. *J. Nutr.* 2020. Vol.150(5). P.1337. <https://doi.org/10.1093/jn/nxz334>
6. Fleshner M., Maier S.F., Lyons D.M. Rasking the neurobiology of the stress-resistant brain. *Stress.* 2011. URL:DOI:10.3109/10253890.211.596865
7. Khattab M.G., Sayed Z.S., Altaf R.A., Yasen N.S., Aiashy A.A., Ezzat D. The prophylactic roles of dietary antioxidants for medical radiology workers: A minireview. *NRFHH.* 2022. Vol.2(4). P.391-407. DOI:<https://doi.org/10.53365/nrfhh/146248>
8. Lavudi K., Naguri S.M., Olverson Z., Dhanabalan A.K. Targeting the retinoic acid signaling pathway as a modern precision therapy against cancer. *Front Cell Dev. Biol.* 2023. Vol.11. P.1254612. DOI:10.3389/fcell.2023.1254612
9. Steinhoff J.S., Laas A., Schupp M. Biological Function of RBP4 and Its Relevance for Human Diseases *Front. Physiol.* 2021. Vol.11(2). P.659977. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.659977>
10. Tratnek L., Jeruc J., Romih R., Zupancic D. Vitamin A and Retinoids in Bladder Cancer Chemoprevention and Treatment: A Narrative Review of Current Evidence, Challenges and Future Prospects. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol.22. P.3510. <https://doi.org/10.3390/ijms22073510>

Стаття відправлена:25.03.2023

©Совтисік Д.Д.