

УДК 57+61]: 539.1.04, 612.014.4, 591.044

doi: 10.17223/19988591/19/11

Е.С. Гулик, Н.Я. Костеша, Г.А. Борило

Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Томского государственного университета» (г. Томск)

ВЛИЯНИЕ ХИТАБИСА И ЕГО КОМПОНЕНТОВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА И КРОВЕТВОРЕНИЯ ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

Исследовано влияние биологически активных веществ природного происхождения: водного экстракта пихты сибирской – абисиб, хитозана, выделенного из панциря крабовых, и их комплекса – хитабиса – на состояние кроветворной системы и надэпителиального слизистого слоя тонкого кишечника облученных крыс в дозе 5,5 Гр. Установлено, что наибольшее противолучевое действие по исследуемым показателям проявляет хитабис: ослабление выраженности лейкопении, большая сохранность клеточности костного мозга, формирование более устойчивого к разрушению слизистого геля тонкого кишечника по сравнению с облученным контролем.

Ключевые слова: *общее рентгеновское излучение; крысы; кроветворная система; слизистый слой тонкого кишечника; абисиб; хитозан; хитабис.*

Введение

Поиск эффективных средств профилактики и предотвращения лучевых поражений человека и животных остается актуальной проблемой радиобиологии, так как сохраняется опасность радиационного поражения при техногенных и природных катастрофах. Последним свидетельством является авария на АЭС «Фукусима-1» в Японии (2011 г.). Многочисленными исследованиями установлено, что биологически активные вещества природного происхождения повышают неспецифическую резистентность организма и успешно используются для профилактики и терапии различных патологий [1–3], в том числе и лучевых поражений [4–6]. В последние годы ведутся интенсивные исследования хитозана (сополимера D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина), выделенного из панциря крабовых, установлены его сорбционные, детоксицирующие, антимикробные, антиоксидантные свойства [7–12], обнаружено выраженное противолучевое действие этого препарата при внутривенном введении как до, так и после облучения [13]. В лаборатории радиационной физиологии и биохимии НИИ биологии и биофизики Томского государственного университета ранее был изучен водный экстракт пихты сибирской – абисиб, обнаружены его бактерицидные, противовоспалительные, гемо- и иммуностимулирующие свойства [14]. При исследова-

нии комплексного препарата хитабис, представляющего собой раствор хитозана в абисибе, установлена его антиоксидантная активность [15]. Кроме того, хитабис повышает выживаемость и среднюю продолжительность жизни облученных в дозе $LD_{90/30}$ экспериментальных крыс в большей степени, чем его компоненты – абисиб и хитозан [16]. Известно, что наиболее радиочувствительными системами организма являются кроветворная система и тонкий кишечник, которым свойственна высокая активность физиологической пролиферации [17].

Цель данной работы – изучение действия хитабиса и его компонентов – абисиба и хитозана – на состояние кроветворения и тонкого кишечника облученных животных.

Материалы и методики исследования

Эксперименты проведены на 104 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г. Животных подвергали однократному общему воздействию рентгеновского излучения на аппарате РУМ-17 в дозе 5,5 Гр (напряжение 220 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5 мм Cu + 1 мм Al, фокусное расстояние 60 см). После облучения опытным животным вводили абисиб (производство ООО НПЦ «БИОЭПЛ», Томск), 0,1%-ный водный раствор хитозан-гидрохлорида с ММ 23 кДа (производство ВНИТИ биологической промышленности, Щелково) и 0,1%-ный раствор хитозана в абисибе – хитабис. Препараты в объеме 1 мл вводили перорально через зонд непосредственно сразу после облучения и затем в течение 10 дней. Контрольные животные получали по 1 мл дистиллированной воды в эти же сроки.

На 7, 14 и 26-е сут после облучения животных показатели периферической крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина) оценивали по стандартным клиническим методикам. Клеточность костного мозга определяли, вымывая костный мозг из бедренной кости и рассчитывая количество клеток на бедро.

Структурно-функциональное состояние пристеночного надэпителиального слизистого слоя (НэСС) тонкого кишечника исследовали в соответствии с модифицированной методикой Н.А. Кривовой [18]. Нативную слизь со стенок тонкого кишечника подвергали очистке, в результате которой получали фракцию очищенных гликопротеинов (Гп) и супернатант, содержащий внеклеточные компоненты слизистого слоя. Полученную фракцию очищенных гликопротеинов слизи и супернатант подвергали ступенчатому гидролизу, в гидролизатах определяли концентрацию моносахаров – гексозаминов [19], галактозы [20], фукозы [21] и N-ацетилнейраминовой кислоты [22]. Рассчитывали суммарное содержание всех моносахаров в 1 мл слизи, парциальное содержание отдельных моносахаров в структурных Гп.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена в программе StatSoft Statistica 6.0. Результаты исследований представлены в виде сред-

ней арифметической с ошибкой. Статистическую значимость различий между сравниваемыми выборками показателей оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни с уровнем значимости $p < 0,05$ [23].

Результаты исследования и обсуждение

Результаты исследований показали, что облучение крыс в дозе 5,5 Гр (контрольная группа) приводило к выраженным и стойким изменениям картины периферической крови, вызванным, главным образом, опустошением кроветворных органов (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Показатели периферической крови и клеточности костного мозга крыс, облученных в дозе 5,5 Гр, после 10-дневного введения абисиб, хитозана, хитабиса

Время после облучения	Группа	Количество эритроцитов, $\times 10^{12}/л$	Количество лейкоцитов, $\times 10^9/л$	Содержание гемоглобина, г/л	Клеточность костного мозга, $\times 10^6/бедро$
–	Интактный контроль $n = 10$	$6,00 \pm 0,22$	$13,19 \pm 0,86$	$142,1 \pm 6,6$	$108,75 \pm 5,16$
7-е сут	Контроль (облучение) $n = 8$	$4,49 \pm 0,04^*$	$0,95 \pm 0,06^*$	$144,0 \pm 9,0$	$72,40 \pm 3,47^*$
	Облучение + абисиб $n = 8$	$3,81 \pm 0,11^* /**$	$1,29 \pm 0,04^* /**$	$115,6 \pm 6,0^* /**$	$66,96 \pm 6,09^*$
	Облучение + хитозан $n = 8$	$3,07 \pm 0,21^* /**$	$1,20 \pm 0,03^* /**$	$116,4 \pm 6,6^* /**$	$69,56 \pm 3,07^*$
	Облучение + хитабис $n = 8$	$4,80 \pm 0,19^*$	$1,58 \pm 0,08^* /**$	$152,9 \pm 7,8$	$56,16 \pm 3,07^* /**$
14-е сут	Контроль (облучение) $n = 8$	$2,96 \pm 0,28^*$	$1,36 \pm 0,11^*$	$85,5 \pm 10,1^*$	$58,70 \pm 3,10^*$
	Облучение + абисиб $n = 8$	$2,64 \pm 0,20^*$	$1,99 \pm 0,27^* /**$	$70,8 \pm 6,1^*$	$60,76 \pm 6,33^*$
	Облучение + хитозан $n = 8$	$3,70 \pm 0,25^*$	$2,31 \pm 0,28^* /**$	$114,1 \pm 4,7^* /**$	$82,50 \pm 2,61^* /**$
	Облучение + хитабис $n = 8$	$3,68 \pm 0,32^*$	$2,77 \pm 0,32^* /**$	$101,4 \pm 8,4^*$	$80,72 \pm 9,81^* /**$
26-е сут	Контроль (облучение) $n = 7$	$4,40 \pm 0,07^*$	$4,14 \pm 0,34^*$	$130,7 \pm 1,7$	$117,26 \pm 1,79$
	Облучение + абисиб $n = 8$	$3,69 \pm 0,23^* /**$	$3,28 \pm 0,48^*$	$152,5 \pm 5,1^{**}$	$103,96 \pm 1,47^{**}$
	Облучение + хитозан $n = 8$	$3,61 \pm 0,15^* /**$	$3,09 \pm 0,16^* /**$	$123,7 \pm 1,5^*$	$97,86 \pm 3,67^{**}$
	Облучение + хитабис $n = 7$	$3,38 \pm 0,09^* /**$	$3,78 \pm 0,33^*$	$127,7 \pm 3,6$	$109,66 \pm 5,52^{**}$

* Статистически значимые отличия показателей от интактного контроля ($p < 0,05$).

** Статистически значимые отличия показателей от соответствующего облученного контроля ($p < 0,05$).

На 7-е сут после облучения наблюдали ярко выраженную лейкопению (количество лейкоцитов было в 14 раз ниже, чем у интактных животных), которая сохранялась на 14-е и 26-е сут после облучения. Несмотря на то

что клетки эритроцитарного ряда также высокорadioчувствительны [24], количество эритроцитов снижалось медленнее, что связано прежде всего с большим сроком жизни красных кровяных телец. Наименьшее содержание гемоглобина и эритроцитов отмечено на 14-е сут после облучения: к этому времени количество эритроцитов составило 50%, а содержание гемоглобина – 60% от интактного уровня. Также отмечено максимальное опустошение костного мозга (клеточность костного мозга в 2 раза ниже, чем в интактной группе животных). К 26-м сут клеточность костного мозга восстанавливалась до интактного уровня, повышалось содержание эритроцитов и гемоглобина в крови облученных крыс.

Действие абисоба, хитозана, хитабиса, вводимых в течение 10 дней после облучения, проявляется на показателях красного кровяного ростка в разные сроки после облучения. На 7-е сут после применения абисоба и хитозана отмечено достоверное снижение количества эритроцитов и содержания гемоглобина облученных животных, при введении хитабиса не выявлено статистически значимых различий между опытной и контрольной группами (см. табл. 1). В разгар лучевой болезни (14-е сут) количество эритроцитов и содержание гемоглобина были наименьшими по сравнению с интактным контролем как в опытных группах, так и в контрольной. У животных, получавших хитозан, в этот срок содержание гемоглобина в крови было достоверно выше, чем у соответствующего облученного контроля. На 26-е сут после облучения количество эритроцитов во всех опытных группах снижено по сравнению с показателями как интактного, так и облученного контроля. В этот срок отмечено достоверное увеличение гемоглобина в периферической крови у крыс, получавших абисоб (см. табл. 1). Гемостимулирующее действие абисоба в восстановительный период острой лучевой болезни (ОЛБ) было зарегистрировано также в исследованиях Н.Я. Костеши [25] и З.К. Вымятниной и др. [26]. Авторы связывают данный эффект с влиянием абисоба на интенсификацию процессов регенерации в костном мозге и усиление функциональной активности щитовидной железы, играющей важную роль в постлучевом восстановлении организма.

Таким образом, хитозан проявляет гемостимулирующее действие в разгар лучевой болезни (14-е сут после облучения), а абисоб – в восстановительный период (26-е сут после облучения), что, безусловно, сказывается на исходе ОЛБ.

В группах животных, получавших хитозан и абисоб, наблюдали большую сохранность лейкоцитов, чем в контрольной группе облученных крыс. Еще более выраженный эффект отмечен у крыс, получавших хитабис. Так, на 7-е сут после облучения число лейкоцитов периферической крови в опытной группе было в 1,5 раза больше, чем в контрольной, а на 14-е сут после облучения – более, чем в 2 раза. К концу наблюдения разница в содержании лейкоцитов нивелировалась (см. табл. 1).

В разгар лучевой болезни (14-е сут), когда клеточность костного мозга в контрольной группе составила 54% от интактного контроля, у животных,

получавших хитабис, этот показатель снижался лишь до 74% от интактного контроля (см. табл. 1). Клеточность костного мозга у крыс, получавших абисиб, практически не отличалась от контрольных, тогда как в группе, получавшей хитозан, составляла 76% от интактного контроля, что на 22% выше уровня этого показателя у контрольных облученных животных.

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что для всех групп облученных животных наиболее характерными изменениями в системе гемопозза можно считать опустошение костного мозга, лейкопению, а в более поздние сроки – эритропению.

Количественные изменения со стороны форменных элементов периферической крови после облучения отражают процессы, происходящие в костном мозге, функциональные и репаративные особенности каждого клеточного пула. Клеточность костного мозга наиболее адекватно характеризует степень лучевого поражения организма [27]. В наших экспериментах через 7 дней после облучения отмечено существенное снижение клеточности костного мозга (до 66% от интактного контроля). Минимальное значение клеточности костного мозга у облученных крыс зарегистрировано через 2 недели (50% от интактного контроля). Процессы регенерации кроветворных клеток в контрольной группе животных отмечены на 26-е сут после облучения. В группах животных, получавших хитозан и хитабис, процессы восстановления начинались раньше (через 2 недели после облучения) и были более выражены. Это может быть связано как с усилением пролиферативной активности выживших стволовых клеток, так и с миграцией в костный мозг клеток (в первую очередь лимфоцитов) из периферической крови и тимуса. Исследованиями К.Д. Жоголева и соавт. [28] показано, что хитозан стимулирует процессы миграции, пролиферации и дифференцировки стволовых гемопозитических клеток, способствуя более быстрой репарации костного мозга облученных животных. Таким образом, введение хитозана после облучения оказывает противолучевое действие, проявляющееся в увеличении содержания гемоглобина и количества лейкоцитов в периферической крови, клеточности костного мозга опытных крыс по сравнению с соответствующими показателями у контрольных животных в разгар лучевой болезни. Абисиб проявляет гемостимулирующее действие в восстановительный период. Противолучевая активность комплексного препарата хитабис наиболее выражена по отношению к белому кровяному ростку в разгар лучевой болезни и является результатом синергизма его отдельных компонентов.

Известно, что кроветворная и пищеварительная системы, в частности тонкий кишечник, являются наиболее радиочувствительными системами организма. Структурно-функциональное состояние тонкого кишечника отражает степень лучевого поражения организма [29]. Структурные Гп НэСС обладают протекторными свойствами благодаря вязкости и эластичности формируемого геля, а продукты распада ГП обладают антирадикальной

активностью, по-видимому, благодаря большому числу свободных радикалов на моносахаридных остатках [30]. Выполнение основной функции Гп слизи – образование слизистого геля – определяется строением боковых олигосахаридных цепочек молекулы [31]. Благодаря присутствию олигосахаридов гликозилированные участки полипептидов недоступны протеолизу. В Гп НэСС желудочно-кишечного тракта присутствуют следующие моносахара: ацетил-Д-глюкозамин, ацетил-Д-галактозамин, галактоза, фукоза и ацетилнейраминавая (сиаловая) кислота [32].

Облучение крыс в дозе 5,5 Гр приводило к снижению в слизи (структурные ГП) фукозы и галактозы во все сроки наблюдения (табл. 2), что свидетельствует о происходящих в облученном кишечнике деструктивных процессах. Подобный эффект отмечен во всех экспериментальных группах, за исключением животных, получавших хитозан. В этой группе на 14-е и 26-е сут после облучения содержание фукозы и галактозы было достоверно выше, чем у контрольных облученных животных, что является свидетельством активных репаративных процессов, происходящих в кишечнике. Содержание гексозаминов на 7-е сут после облучения оставалось неизменным, кроме группы крыс, получавших хитозан. На 14-е и 26-е сут во всех экспериментальных группах содержание гексозаминов было снижено по сравнению с соответствующим показателем у интактного контроля. Лишь в группе крыс, получавших абисиб, содержание гексозаминов было достоверно выше соответствующего показателя у облученного контроля и почти приближалось к значению интактного контроля. У животных, получавших хитабис, наблюдали увеличение фукозы и галактозы, при небольшом снижении гексозаминов, на 14-е сут после облучения. На 26-е сут после воздействия зарегистрированы небольшое снижение галактозы и увеличение нейраминавой кислоты в слизи кишечника крыс, получавших хитабис (табл. 2).

Защитную функцию слизи косвенно характеризует суммарное содержание моносахаров структурных Гп [33]. Резкое снижение концентрации моносахаров при облучении указывает на ослабление защитной функции слизи во все сроки наблюдения у крыс после облучения в дозе 5,5 Гр. В группе животных, получавших хитабис, отмечено достоверное увеличение суммарного содержания моносахаров на 7-е и 14-е сут после облучения.

На 14-е и 26-е сут после облучения в группе крыс, получавших хитозан, отмечено увеличение суммарного содержания моносахаров Гп НэСС, что обусловлено достоверным увеличением содержания фукозы и галактозы в этот период наблюдения (табл. 2).

Таким образом, введение хитабиса после облучения усиливает защитную функцию НэСС в разгар лучевой болезни, а применение хитозана после облучения усиливает защитную функцию НэСС в разгар и восстановительный период лучевой болезни, увеличивая суммарное содержание моносахаров структурных гликопротеинов.

Таблица 2

**Состав структурных гликопротеинов пристеночного слизистого слоя
тонкого кишечника крыс, облученных в дозе 5,5 Гр**

Срок после облучения	Группа	Гексоза-мины, мкмоль/мл	Галактоза, мкмоль/мл	Фукоза, мкмоль/мл	Нейрамина-новая кислота, мкмол/мл	Сумма моносахаров, мкмоль/мл
Интактный контроль n = 10		5,31 ± 0,81	23,3 ± 4,0	18,1 ± 5,3	0,966 ± 0,133	47,7 ± 5,2
7-е сут	Контроль (облучение) n = 8	5,30 ± 0,30	14,43 ± 1,11*	7,21 ± 1,18*	0,999 ± 0,004	27,9 ± 1,16*
	Облучение + абисиб n = 8	5,60 ± 0,21	14,71 ± 1,49*	5,62 ± 0,63*	0,866 ± 0,100	26,8 ± 1,46*
	Облучение + хитозан n = 8	4,20 ± 0,25**	8,38 ± 0,97**	11,41 ± 2,07	1,099 ± 0,230	25,1 ± 2,01*
	Облучение + хитабис n = 8	5,30 ± 0,21	16,71 ± 1,63*	9,62 ± 1,76*	1,265 ± 0,110	32,6 ± 1,60**
14-е сут	Контроль (облучение) n = 8	3,75 ± 0,21	7,05 ± 0,69*	2,77 ± 0,23*	1,216 ± 0,180	14,8 ± 0,50*
	Облучение + абисиб n = 8	4,93 ± 0,38**	8,49 ± 1,30*	3,65 ± 0,30*	1,485 ± 0,110	18,6 ± 1,20**
	Облучение + хитозан n = 8	3,07 ± 0,15**	14,21 ± 2,38**	3,93 ± 0,26**	1,698 ± 0,180*	22,9 ± 2,20**
	Облучение + хитабис n = 8	3,25 ± 0,10*	10,66 ± 1,31**	4,12 ± 0,16**	1,375 ± 0,070	19,4 ± 1,30**
26-е сут	Контроль (облучение) n = 7	3,39 ± 0,15*	8,38 ± 1,17*	4,46 ± 0,51*	1,399 ± 0,100	17,6 ± 1,10*
	Облучение + абисиб n = 8	3,25 ± 0,14*	9,27 ± 0,94*	4,03 ± 0,31*	1,765 ± 0,030**	18,3 ± 0,80*
	Облучение + хитозан n = 8	3,35 ± 0,34*	43,0 ± 3,32**	12,42 ± 0,58**	0,902 ± 0,100**	59,7 ± 3,20**
	Облучение + хитабис n = 7	2,71 ± 0,27*	5,00 ± 0,34**	4,69 ± 0,55*	1,775 ± 0,120**	14,2 ± 0,30*

* Статистически значимые отличия показателей от интактного контроля ($p < 0,05$).

** Статистически значимые отличия показателей от соответствующего облученного контроля ($p < 0,05$).

Для характеристики строения олигосахаридных цепочек структурных Гп было рассчитано парциальное содержание отдельных моносахаров. Известно, что основной функцией структурных Гп НэСС является образование слизистого геля, который образуется за счет нековалентных взаимодействий между гликозилированными участками разных молекул Гп [34, 35]. Эти взаимодействия осуществляются благодаря терминально расположенным остаткам фукозы и нейраминовой кислоты, а также наличию дисульфидных

связей [30]. По количеству терминально расположенных фукозы и нейраминовой кислоты, по-видимому, можно судить об устойчивости слизистого геля к разрушению. Суммарное содержание терминальных моносахаров у интактных животных составляет 40% в общем пуле углеводных компонентов слизи. Увеличение или уменьшение их процентного содержания может свидетельствовать об увеличении или уменьшении защитных свойств НэСС тонкого кишечника.

Облучение контрольных животных приводит к изменению парциального состава углеводных компонентов олигосахаридных цепочек Гп. Суммарное содержание фукозы и нейраминовой кислоты снижается как в облученном контроле, так и после применения абисаба.

Введение хитозана и хитабиса существенно изменяет соотношение углеводных компонентов слизи по сравнению с соответствующими показателями у облученного контроля. На 7-е сут после облучения у животных, получавших хитозан, суммарное содержание терминальных углеводных компонентов составляет 49,9%, что превышает их содержание в интактном контроле, а на 14-е и 26-е сут оно значительно снижено (до 24,6 и 22,3% соответственно). Такая динамика, вероятно, связана с тем, что защитное действие хитозана проявлялось только в период введения препарата (10 сут). По-видимому, этот эффект можно объяснить сорбционными свойствами хитозана и малым его проникновением из ЖКТ в кровоток. Большое количество водородных связей, которые способен образовывать хитозан, определяют его способность связывать большое количество органических водорастворимых веществ, в том числе бактериальные токсины и токсины, образующиеся в кишечнике в процессе пищеварения. Первичные аминогруппы хитозана обеспечивают связывание ионов тяжелых металлов и радионуклидов, в десятки раз превосходя по эффективности ионообменные смолы [36].

При введении хитабиса суммарное содержание концевых углеводных компонентов во все сроки наблюдения выше, чем соответствующие показатели в облученном контроле, и на 26-е сут составляет 45,5% по сравнению с 33,2% в облученном контроле. Полученные данные свидетельствуют о пролонгированном действии хитабиса, что может быть связано с сорбционными, гемо- и иммуностимулирующими эффектами абисаба и хитозана, возможным увеличением проникающей способности хитабиса и большей степенью его накопления в различных органах по сравнению с раздельным применением компонентов препарата. Исследованиями Б.А. Комарова и соавт. [36] показана тенденция увеличения содержания хитозана (при его введении в виде раствора в настое сбора лекарственных растений – фитохитодеза) в крови на 40% по сравнению с контрольным опытом (введение водных подкисленных растворов), что может быть обусловлено несколькими факторами. Во-первых, некоторые лектины растительного происхождения – сложные металлсодержащие белковые комплексы – способны выполнять роль хитиназы. Такие лектины могут быть в фитохитодезах и участвовать

в деструкции хитозана, что в свою очередь может приводить к частичному его усваиванию [37]. Во-вторых, хитозан, поступая в желудочно-кишечный тракт вместе с экстрактом фитосбора, может активизировать ферменты человека типа хитотриозидаз [38] лизоцима. Кроме этого, хитозан может разрушаться H_2O_2 и активными формами кислорода [39], особенно если в хитозансодержащем фитопрепарате имеется повышенное содержание железа, меди и других металлов с переменной валентностью. Абисиб представляет собой многокомпонентную систему, содержащую витаминные комплексы, органические кислоты [40], макро- и микроэлементы. Среди макроэлементов обнаружено наибольшее количество магния (1,7 г/л), калия (0,6 г/л), натрия (0,3 г/л), железа (19,8 мг/л) и цинка (4,2 мг/л); pH абисиба находится в пределах 2,6–4,6 [25]. Все это может приводить к расщеплению хитозана по β -(1-4)-гликозидной связи и накоплению легко усвояемой олигомерной фракции хитозана [39].

Таким образом, введение хитозана крысам после облучения способствует повышению защитных свойств НэСС тонкого кишечника путем формирования более устойчивого к разрушению слизистого геля тонкого кишечника на 7-е сут после облучения и увеличения суммарного содержания структурных гликопротеинов в разгар лучевой болезни и в восстановительный период. Курсовое применение хитабиса также повышает защитные свойства НэСС тонкого кишечника путем формирования более устойчивого к разрушению слизистого геля тонкого кишечника в течение всего периода наблюдения (7, 14, 26-е сут после облучения крыс в дозе 5,5 Гр).

Под действием радиации активируется свободнорадикальное окисление, нарушается деятельность быстро обновляющихся тканей, в частности системы кроветворения и желудочно-кишечного тракта, выработка антиоксидантных факторов этими органами подавляется, и устойчивость экспериментальных животных резко снижается [41]. Поэтому введение веществ, которые могут выступать перехватчиками образующихся под действием ионизирующего излучения радикалов, должно способствовать снижению поражающего действия радиации на организм облученных животных. Совокупность литературных и собственных данных позволяет предположить, что противолучевой эффект хитабиса и его компонентов является системным проявлением ряда механизмов. По-видимому, можно говорить об антистрессорном (адаптогенном) действии хитабиса и его компонентов, включающем стабилизирующее влияние на определенные звенья гемопоза и нормализующем воздействии на НэСС тонкого кишечника. Еще один возможный механизм противолучевого действия хитабиса и его компонентов – их антиоксидантная активность.

Мы использовали известную схему патогенеза острой лучевой болезни П.Д. Горизонтова [42], адаптировав ее для костномозговой формы, для указания возможных путей физиологического действия хитабиса и его компонентов – абисиба и хитозана (рис. 1). Абисиб, обладая гемо- и иммуностимулирующим действием, оказывает прямое влияние на нервнор-

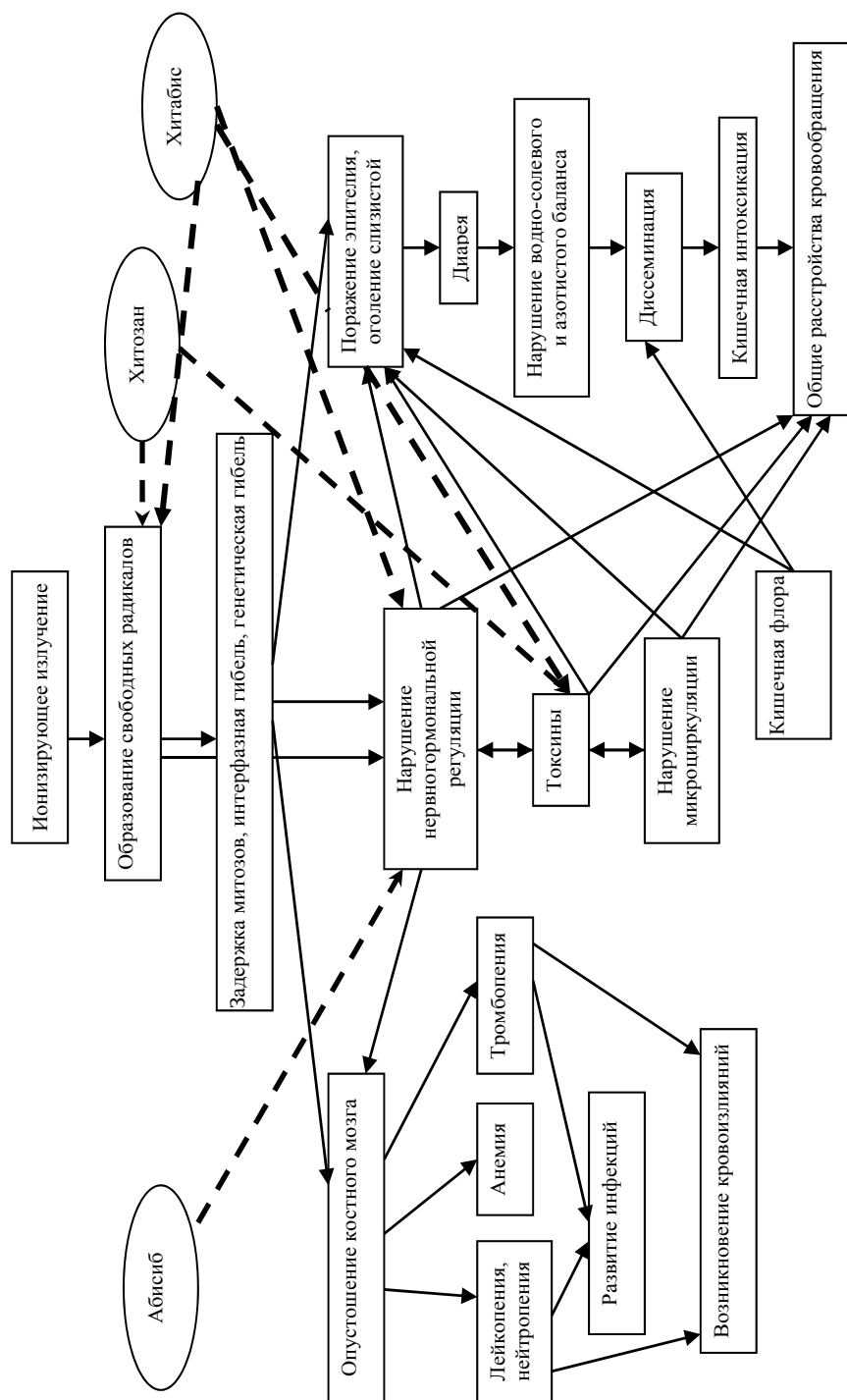


Рис. 1. Схема патогенеза костномозговой формы острой лучевой болезни с указанием возможных путей воздействия абисиба, хитозана, хитабиса

мональную регуляцию. В ранее проведенных исследованиях показано усиление синтетических процессов в аденогипофизе, снижение гиперсекреции коркового слоя надпочечников [25]. Формирование определенных взаимосвязей в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе под влиянием абисаба способствует включению защитных механизмов, определяющих резистентность организма к радиационному воздействию. Для кроветворной системы это проявляется в большей сохранности костного мозга, для гастродуоденальной системы – более ранним развитием репаративных процессов в слизистой тонкого кишечника и формированием устойчивого слизистого слоя.

Более выраженная противолучевая активность хитабиса по сравнению с его компонентами может быть связана с влиянием абисаба на изменение динамики распределения и содержания хитозана в крови и различных органах опытных животных. Гетерогенность комплексного препарата (хитабис) дает увеличение противолучевого действия – гемо- и иммуностимулирующее действие абисаба усиливается сочетанием с сорбционными свойствами хитозана. Полученные результаты позволяют сделать заключение о выраженном противолучевом действии комплексного препарата хитабис.

Литература

1. Брехман И.И. Человек и биологически активные вещества. Л. : Наука, 1980. 120 с.
2. Лекарственные растения Сибири для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Новосибирск : Наука, 1991. 345 с.
3. Замощина Т.А., Никифиров Л.А., Просекина Е.Ю., Томова Т.А. Биологическая активность спиртовых извлечений из ряски малой (*Lemna minor* L.) в отношении процесса воспаления // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 2(14). С. 73–80.
4. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. М. : Наука, 1984. 160 с.
5. Алехина С.М., Бурмистров А.Н., Макаров Р.Н. Антиоксидантные препараты, которые используются для коррекции нарушений окислительного гомеостаза при действии ионизирующего излучения // Вестник МНАПЧАК. 2003. Т. 10, № 1. С. 79–82.
6. Овсянникова Л.М., Алехина С.М., Бурмистров А.Н. Антиоксидантная терапия нарушений окислительного гомеостаза у потерпевших вследствие аварии на ЧАЭС // Вестник Международной академии проблем человека в авиации и космонавтике. 2007. № 1 (24).
7. Комаров Б.А., Албулов А.И., Эстрина Г.А. и др. Исследование хитозана и фитохитозана как перспективных биологически активных пищевых добавок // Материалы 6-й Международной конференции «Новые достижения в исследовании хитина и хитозана». СПб., 2001. С. 195–198.
8. Червинец В.М., Бондаренко В.М., Албулов А.И., Комаров Б.А. Антимикробная активность хитозана с разной молекулярной массой // Материалы 6-й Международной конференции «Новые достижения в исследовании хитина и хитозана». М. : Изд-во ВНИРО, 2001. С. 252–254.
9. Xie W., Xu P., Liu Q. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 2001. Vol. 11, № 13. P. 1699–1701.
10. Feng T., Du Y., Li J., Wei Y., Yao P. Antioxidant activity of half N-acetylated water-soluble chitosan in vitro // European Food Research and Technology. 2007. Vol. 225, № 1. P. 133–138.

11. Sun T., Zhou D., Xie J., Mao F. Preparation of chitosan oligomers and antioxidant activity // European Food Research and Technology. 2007. Vol. 225, № 3–4. P. 451–456.
12. Sun T., Yao Q., Zhou D., Mao F. Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2008. Vol. 18, is. 21. P. 5774–5776.
13. Андрианова И.Е. Противолучевые свойства хитозана // Материалы 6-й Международной конференции «Новые достижения в исследовании хитина и хитозана». СПб., 2001. С. 126–127.
14. Костеша Н.Я., Стрелис А.К., Лукьяненко П.И. и др. Экстракт пихты сибирской Аби-сиб и его применение в медицине и ветеринарии. Томск : Scientific Technical Translations ; Издательский дом «Полдень», 2004. Т. II. 140 с.
15. Гулик Е.С., Костеша Н.Я., Заева О.Б., Борило Г.А. Влияние хитозана и хитабиса на антиоксидантную активность биологических жидкостей // Материалы 10-й Международной конференции «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. РосХит2010». Нижний Новгород, 2010. С. 177–180.
16. Гулик Е.С., Костеша Н.Я. Противолучевая активность хитозана, растворенного в экстракте пихты сибирской // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44, вып. 5. С. 563–565.
17. Даренская Н.Г. Реакция основных систем организма // Теоретические основы радиационной медицины. М. : Изд. АТ, 2004. Т. 1. С. 294–314.
18. Кривова Н.А. Механизмы образования и деградации надэпителиального слизистого слоя пищеварительного тракта : дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 1994. 228 с.
19. Handel D.U., Kittlak W. Vergleichende untersuchung zur metodik der bestimmung des eiwei gebundenen suckers // Z. Med. Labor. Techn. 1963. № 4. S. 163–169.
20. Dische Z., Shettles L. A specific color reaction of methylpentoses and spectrophotometric micromethod for their determination // J. of Biol. Chemistry. 1948. Vol. 175, № 2. P. 595–603.
21. Blix G. The determination of Hexosamines According to Elson and Morgan // Acta Chemica Scandinavica. 1948. Vol. 2, № 5–6. P. 467–473.
22. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acid // J. Biol. Chemistry. 1959. Vol. 234, № 8. P. 1971–1975.
23. Лакин Г.Ф. Биометрия. М. : Высшая школа, 1990. 352 с.
24. Белоусова О.И., Горизонтов П.Д., Федотова М.И. Радиация и система крови. М. : Атомиздат, 1979. 128 с.
25. Костеша Н.Я. Некоторые пути повышения резистентности организма при действии ионизирующего излучения : дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2000. С. 143, 145.
26. Вымятина З.К., Костеша Н.Я., Лопухова В.В., Борило Г.А. Влияние хвойного экстракта *Abies sibirica* Ledeb. на гемопоэз облученных крыс // Растительные ресурсы. 2000. Вып. 4. С. 83–89.
27. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. М. : Медицина, 1983. 213 с.
28. Жоголев К.Д., Никитин В.Ю., Цыган В.Н. Некоторые аспекты противолучевого действия препаратов хитозана // Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности. СПб., 2001.
29. Федоровский Л.Л. Патофизиологический анализ кишечной формы лучевой болезни // Радиационное поражение организма. М. : Атомиздат, 1976. С. 22–39.
30. Кривова Н.А., Дамбаев Г.Ц., Хитрихеев В.Е. Надэпителиальный слизистый слой желудочно-кишечного тракта и его функциональное значение. Томск : РАСКО, 2002. 316 с.
31. Gad A. Pathophysiology of gastrointestinal mucins // Adv. Physiol. Sci. 1981. Vol. 29. P. 161–184.
32. Allen A., Bell A., Mantle M., Pearson J.P. The structure and physiology of gastrointestinal mucus // Mucus in Health and Disease. 1982. P. 115–133.

33. Тарасенко Л.М., Петрушенко Т.А., Гребенникова В.Ф. Роль слизистого барьера в патогенезе стрессорных язв желудка // Физиологический журнал. 1991. № 6. С. 88–91.
34. Slomiany B., Laszewicz W., Slomiany A. In vitro inhibition of peptic degradation of porcine gastric mucus glycoprotein by sucralfate // Scand. J. Gastroenterol. 1985. Vol. 20, № 7. P. 1191–1196.
35. Sellers L.A., Allen A., Morris E.R. Mucus glycoprotein gels. Role of glycoprotein polymeric structure and carbohydrate side-chains in gel-formation // Carbohydr. Res. 1988. Vol. 178 (15). P. 93–110.
36. Комаров Б.А., Албулов А.И., Эстрина Г.А. и др. Исследование хитозеда и фитохитозеда как перспективных биологически активных пищевых добавок // Материалы 6-й Международной научной конференции «Новые достижения в исследовании хитина и хитозана». СПб., 2001. С. 195–198.
37. Комаров Б.А., Албулов А.И., Трескунов К.А., Погорельская Л.В. Некоторые аспекты фитохитозеда и ее развитие // Практическая фитотерапия. 2000. № 3. С. 31–33.
38. Fusetti F., Von Moeller Y., Houston D. et al. Structure of human chitotriosidase. Implications specific inhibitor design and function of mammalian chitinase-like lectins // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277, is. 28. P. 25537–25544.
39. Комаров Б.А., Албулов А.И., Шинкарев С.М., Фоменко А.С. Качество хитозансодержащих фитопрепаратов для фитохитозеда // Материалы 5-й Международной научной конференции «Фитотерапия, биологически активные вещества естественного происхождения», 22–23 января 2004 г., Черноголовка. С. 279–289.
40. Костеша Н.Я., Гулик Е.С., Борило Г.А., Зибарева Л.Н. Биологическая активность светлой фракции экстракта пихты сибирской // Вестник Томского государственного университета. 2007. № 299. С. 204–206.
41. Оганесян А.С., Геворкян Ж.С., Татевосян А.Т., Минасян Г.М. Новые антиоксидантные факторы, секретируемые желудочно-кишечным трактом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. Т. 109, № 4. С. 348–349.
42. Горизонтов П.Д. Экстремальные состояния, вызванные внешним ионизирующим излучением // Патологическая физиология экстремальных состояний / под ред. П.Д. Горизонтова, Н.Н. Сиротинина. М.: Медицина, 1973. С. 120.

Поступила в редакцию 15.12.2011 г.

Tomsk State University Journal of Biology. 2012. № 3 (19). P. 146–159

doi: 10.17223/19988591/19/11

Elena S. Gulik, Nikolai Ya. Koshesha, Galina A. Borilo

Research Institute of Biology and Biophysics of Tomsk State University, Tomsk, Russia

INFLUENCE OF CHITABIS AND ITS COMPONENTS ON THE FUNCTIONAL STATE OF THE SMALL INTESTINE AND BLOOD INDICES OF IRRADIATED ANIMALS

*The influence of aqueous extract of *Abies sibirica* fir-needles – abisib, chitosan-hydrochlorid (MM 23kDa, 0.1% aqueous solution) and their complex – chitabis (0.1% solution of chitosan in abisib) on the blood system and functional state of small intestine of X-irradiated rats (dose 5.5 Gr) has been studied. Solutions of tested substances (5 ml/kg) were administrated per os immediately after irradiation and then within 10 days. Control animals received distilled water at the same dose. On the 7-th, 14th and 26th day after exposure the blood indices (erythrocytes, leukocytes, hemoglobin) and the*

number of cells in the bone marrow were estimated. Also the mucous layer carbohydrate structure of the small intestine was determined. It was shown that chitosan enhances the protective properties of mucous layer of the small intestine by forming a more stable gel on the 7-th day after exposure and increasing the total summary of structural glycoproteins in the midst of radiation sickness and recovery period. Chitabis has a more considerable influence on processes of safety and repair of mucous layer of the small intestine during the observation period. Also, chitabis increases the safety of bone marrow cells and decreases the manifestation of leucopenia. A more pronounced radioprotective activity of chitabis may be related to the influence of abisib on chitosan distribution and content in blood and in various organs of experimental animals.

Key words: *X-ray irradiation; rats; small intestine; blood; abisib; chitosan; chitabis.*

Received December 15, 2011