

ОРИГІНАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Використання соку Ноні як протирадіаційного засобу для профілактики і лікування променевих уражень слизової оболонки ротової порожнини та очей щурів в умовах тотального ікс-опромінення

Є.М. Мамотюк,
В.М. Пасюга,
В.А. Гусакова

ДУ Інститут медичної
радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України,
Харків

Application of Noni juice as antiradiation remedy for prevention and treatment of radiation lesions of the mucous membranes of the mouth and eyes at total x-ray exposure

Цель работы: Оценка влияния сока Нони, вводимого перорально, на процессы воспаления слизистой оболочки ротовой полости и глаз у тотально облученных крыс в дозе 6,0 Гр.

Материалы и методы: Исследованы 146 беспородных белых крыс-самок массой тела 160–190 г. Им применялось общее рентгеновское облучение в дозе 6,0 Гр, аппарат РУМ-17М. Определена накопленная частота признаков лучевого поражения слизистых ротовой полости и глаз за 30 суток в опытах с пероральным введением сока Нони (Табари, Гавайского) облученным животным.

Результаты: Введение образцов сока Нони облученным крысам снижает их 30-суточную смертность, уменьшает частоту проявлений лучевого поражения слизистых головы у выживших особей и несколько увеличивает ее в группе погибающих особей.

Выводы: Исследуемые образцы сока Нони, применяемые перорально, оказывают ослабляющее влияние не только на тяжесть течения острой лучевой болезни у крыс, но и на проявляющиеся локально воспалительные процессы слизистых головы животных. Это четко прослеживается у выживающих особей.

При оценке механизма действия противолучевых средств на облученных крыс в эксперименте необходимо учитывать их влияние на выживающих и погибающих животных.

Ключевые слова: сок Нони, лучевая болезнь, накопленная частота признаков заболевания, лучевые поражения слизистых головы крыс.

Objective: To assess the influence of Noni juice administered orally on the processes of inflammation of the oral mucosa and eyes in rats exposed to total x-ray irradiation at a dose of 6.0 Gy.

Material and Methods: The study involved 146 mongrel female rats weighing 160-190 g. Total x-ray exposure at a dose of 6.0 Gy was delivered by РУМ-17М unit. Accumulated frequency of the signs of radiation lesion of the mucous membranes of the mouth and eyes within 30 days of the experiments with oral administration of Noni juice (Tabari, Hawaiian) was determined.

Results: Administration of Noni juice to irradiated animals reduced 30-day mortality, frequency of radiation lesions of the mucous membranes of the head in the survived animals and increased it slightly in the group of dying animals.

Conclusion: The investigated samples of Noni juice administered orally reduced not only the manifestations of acute radiation sickness in the rats but also local inflammatory processes in the mucous membranes of the head. This is clearly seen in the survived animals.

When assessing the mechanism of action of antiradiation remedies on the irradiated rats, it is necessary to consider their influence on both surviving and dying animals.

Key words: Noni juice, radiation sickness, accumulated frequency of the disease signs, radiation lesions of mucous membranes of the head in rats.

Мета роботи: Оцінка впливу соку Ноні, введеного перорально, на процеси запалення слизової оболонки ротової порожнини і очей у тотально ікс-опроміненних щурів у дозі 6,0 Гр.

Матеріали і методи: Досліджено 146 беспородних білих щурів-самиць масою тіла 160–190 г. Їм застосовували загальне ікс-опромінення в дозі 6,0 Гр, апарат РУМ-17М. Визначено накопичену частоту ознак променевого ураження слизових оболонок ротової порожнини і очей за 30 діб у дослідах з пероральним введенням соку Ноні (Табарі, Гавайського) опроміненням тваринам.

Результати: Введення зразків соку Ноні опроміненим щурам знижує їх 30-добову смертність, скорочує частоту проявів променевого ураження слизових оболонок голови в особин, що вижили, і дещо збільшує цей показник у групі тварин, що гинуть.

Висновки: Досліджувані зразки соку Ноні, застосовувані перорально, не тільки послаблюють тяжкість перебігу ГПХ у щурів, але й пригнічують запальні процеси, що виявляються локально, слизових оболонок голови тварин. Це чітко простежується у тварин, що виживають.

Оцінюючи механізм дії протипроменевих засобів на опроміненних щурів в експерименті, необхідно враховувати їх вплив на тварин, що вижили, і тих, що загинули.

Ключові слова: сік Ноні, променева хвороба, накопичена частота ознак захворювання, променеві ураження слизових оболонок голови щурів.

Одним із ранніх тяжких наслідків загальної дії іонізуючого випромінювання в летальних дозах у людей є розвиток характерного променевого ураження слизової оболонки ротової порожнини внаслідок локальної дії радіації на зону голови та шиї. Втім, такі ж самі клінічні наслідки викликає й тотальне опромінення у високих дозах [1]. Оральний синдром, що виникає, має кілька фаз і характеризується процесами гіперемії та набряку, зроговіння епітелію з подальшим його відторгненням, радіоепітеліту, ерозії і т.ін. [2]. Раніше оральному синдрому при тотальному опроміненні не приділяли достатньої уваги, оскільки радіаційні дози, які його спричиняють, вважалися летальними за такого сценарію. Нині завдяки появі нових технологій лікування гострої променевої хвороби поріг летальних доз істотно підвищився, і за кращої виживаності пацієнтів виникла потреба в екстреному лікуванні подібних уражень. Отже, пошук нових ефективних лікарських засобів проти прояву орального синдрому при відносному дефіциті існуючих ліків не втрачає актуальності.

Ця робота продовжує цикл публікацій, які висвітлюють результати експериментів з оцінки профілактично-лікувальної радіопротекторної дії екстракту тропічного чагарника *Morinda citrifolia*, наявного в аптечній мережі України під назвою «Сік Ноні». Внашому попередньому повідомленні було наведено результати порівняння кількох зразків соку Ноні, і серед них визначено ті, що мають найбільш виражені радіозахисні властивості [3]. Один зі зразків — сік Гавайського Ноні — ми також використовували. Метою дослідження була оцінка впливу соку Ноні, введеного перорально, на процеси запалення слизової оболонки ротової порожнини і очей у тотально ікс-опромінених щурів у дозі 6,0 Гр.

Методика дослідження

Експерименти було проведено на 146 безпородних білих щурах-самицях масою 160–190 г у таких серіях:

- 1 — біоконтроль (БК) — 20 шт.;
- 2 — опромінення в дозі 6,0 Гр (О6) — 50 шт.;
- 3 — введення соку Табарі Ноні per os у дозі 2,5 мл/кг маси тіла тварини по 0,5 мл щоденно протягом 5 днів до опромінення і 10 днів після опромінення в дозі 6,0 Гр ($ТН_5+О6+ТН_{1-10}$) — 26 шт.;
- 4 — введення соку Гавайського Ноні per os у дозі 2,5 мл/кг маси тварини по 0,5 мл щоденно протягом 5 днів до опромінення і 10 днів після опромінення в дозі 6,0 Гр ($ГН_5+О6+ГН_{1-10}$) — 50 шт.

Тварин піддавали тотальному рентгенівському опроміненню на апараті РУМ-17М, попарно в коробках з оргскла

за таких параметрів: напруга на трубіці — 190 кВ, сила струму — 10 мА, фільтри 0,5 мм Cu + 1,0 мм Al, тубус F — 40 см, потужність дози 0,52 Гр/хв. Доза 6,0 Гр, $E_{эф.} = 79,0$ кеВ.

Протягом 30 днів після опромінювання фіксували смертність серед тварин, інтегральні накопичувальні частоти прояву клінічних ознак запалення ротової порожнини (набряк), носа і очей, а також визначали частоту ознаки «скуйовдженість шерсті», що відображає загальний стан щурів. Як показали раніше проведені дослідження, вказані ознаки добре клінічно визначаються і адекватно відображають тяжкість променевого ураження [4, 5]. Частоту названих ознак визначали впродовж 30 днів після опромінювання з роздільним розрахунком величин для тварин, що вижили і що загинули у цей термін, за такими формулами, %:

$$ІПЧ_{(в)} = \frac{\sum \text{ознаки}_{(в)} \cdot 100}{n \cdot t},$$

$$ІПЧ_{(з)} = \frac{\sum \text{ознаки}_{(з)} \cdot 100}{n_1 \cdot t},$$

де $ІПЧ_{(в)}$, % — інтегральний показник частоти проявів ознаки у щурів, що вижили (відношення реально накопиченої кількості ознаки за час життя щурів (30 днів) до теоретично максимально можливої кількості);

$\sum \text{ознаки}_{(в)}$ — сумарна (накопичена за термін t) кількість ознак у щурів, що вижили, за 30 днів;

n — кількість щурів, що вижили;

$ІПЧ_{(з)}$, % — інтегральний показник частоти проявів ознаки у щурів, що загинули відношення реально накопиченої кількості за час життя тварин до теоретично максимально можливої в аналізованій відрізок часу (30 днів);

$\sum \text{ознаки}_{(з)}$ — сумарна (накопичена за термін t) кількість ознак у щурів, що загинули, за 30 днів;

n_1 — кількість щурів, що загинули за 30 днів;

t — досліджуваний відрізок часу, днів.

Корисними інформативними показниками є визначені коефіцієнти, що відображають спрямованість зміни накопиченої (інтегральної) частоти появи тих або інших ознак гострої променевої хвороби (ГПХ) — функціональний індекс обтяження (ФІО) та лікарський індекс впливу (ЛІВ).

У загиблих щурів, і тих, що вижили після променевої дії, ці коефіцієнти визначали за такими формулами, %:

$$ФІО = \frac{ІПЧ_{(з)}}{ІПЧ_{(в)}},$$

де інтегральні показники частоти проявів ознаки ГПХ: $ІПЧ_{(з)}$ у загиблих щурів;

$ІПЧ_{(в)}$ — у тих, що вижили;

та

$$ЛІВ = \frac{ІПЧ \text{ у серіях з лікарським засобом}}{ІПЧ \text{ для ізольованого опромінювання}}$$

де $ІПЧ$ — інтегральний показник частоти проявів ознаки ГПХ.

Величини коефіцієнтів менше одиниці вказують на зменшення частоти появи даної ознаки, більше одиниці — свідчать про переважання негативних ознак і, таким чином, ці коефіцієнти дозволяють оцінити вплив досліджуваного чинника.

Крім цього, макроскопічно вивчали зміни слизових оболонок ротової порожнини в опромінених щурів, які отримували і які не отримували сік Ноні. За аналізовані зразки соку використовували продукцію фірми «JOY PRODUCTS, S.A.», Коста-Ріка, 100 %-вий сік Табарі Ноні та «NEWAYS» USA 96 %-вий сік Гавайського Ноні (Аутентик Гавайан Ноні) з додаванням концентрату натурального соку малини і чорниці. Соки вводили перорально за вищезазначеною схемою.

Усю роботу із тваринами проводили під контролем комісії з біоетики інституту, згідно з внутрішніми протоколами, розробленими на основі положення Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших дослідних цілях (Страсбург, Франція, 1986).

Отримані числові дані статистично опрацьовано з використанням критерію χ^2 за допомогою пакета програм для EOM Biostatistics v.4.03 при рівні вірогідності $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

На 14-ту добу при макроскопічному дослідженні слизових оболонок ротової порожнини щурів, підданих рентгенівському опромінюванню, у частини тварин виявлявся

клінічно добре видимий набряк у ділянці рота і носа, часто — з появою кірок на очах.

У щурів з вираженим набряком ротової порожнини та носа спостерігалася припухлість м'яких тканин верхньої та нижньої щелеп, що є наслідком гіперемії слизової та підслизової оболонки губів і носа тварин. Привушні слинні залози були значно розпухлими, зі збільшенням гною у протоках. Язики припухлі, з майже повною відсутністю смакових сосочків на поверхні. Піднебіння та внутрішня частина щоки вкриті виразками. На яснах — ознаки запалення та відсутнє щільне прилягання до зубів.

Таблиця 1

Інтегральні показники ознак ГПХ у щурів, що вижили та що загинули у дослідах з рентгенівським опроміненням у дозі 6,0 Гр та введенням різних зразків соку Noni
Integral parameters of ARS signs in rats which survived and died in experiments with x-ray exposure to the dose of 6.0 Gy and administration of various samples of Noni juice

Серія досліду	Накопичена кількість ознаки	ІПЧ, (X ± Sx)%	$p_{1\chi^2}$	$p_{2\chi^2}$
Опромінення 6,0Гр, n = 50				
Щури, що вижили, n = 20 (40 %-ва виживаність)				
Скуйовженість шерсті	58 з 600	9,70 ± 1,21		
Кірки на очах	266 з 600	44,3 ± 2,0		
Набряк слизової порожнини рота	22 з 600	3,70 ± 0,77		
Загиблі щури, n = 30 (60 %-ва смертність)				
Скуйовженість шерсті	114 з 299	38,10 ± 2,81	< 1·10 ⁻³	
Кірки на очах	158 з 299	52,80 ± 2,89	0,019	
Набряк слизової порожнини рота	34 з 299	11,40 ± 1,84	< 1·10 ⁻³	
ТН ₅ +О6+ТН ₁₋₁₀ , n = 26				
Щури, що вижили, n = 21 (80,8 %-ва виживаність)				
Скуйовженість шерсті	22 з 630	3,50 ± 0,73		< 1·10 ⁻³
Кірки на очах	61 з 630	9,70 ± 1,18		< 1·10 ⁻³
Набряк слизової порожнини рота	4 з 630	0,60 ± 0,32		< 1·10 ⁻³
Загиблі щури, n = 5 (19,2 %-ва смертність)				
Скуйовженість шерсті	26 з 67	38,8 ± 6,0	< 1·10 ⁻³	0,972
Кірки на очах	23 з 67	34,3 ± 5,8	< 1·10 ⁻³	0,009
Набряк слизової порожнини рота	9 з 67	13,4 ± 4,2	< 1·10 ⁻³	0,792
ГН ₅ +О6+ГН ₁₋₁₀ , n = 50				
Щури, що вижили, n = 39 (78 %-ва виживаність)				
Скуйовженість шерсті	55 з 1170	4,7 ± 0,6		< 1·10 ⁻³
Кірки на очах	154 з 1170	13,2 ± 1,0		< 1·10 ⁻³
Набряк слизової порожнини рота	0 з 1170	0		< 1·10 ⁻³
Загиблі щури, n = 11 (22 %-ва смертність)				
Скуйовженість шерсті	61 з 108	56,50 ± 4,77	< 1·10 ⁻³	0,001
Кірки на очах	70 з 108	64,8 ± 4,8	< 1·10 ⁻³	0,042
Набряк слизової порожнини рота	7 з 108	6,50 ± 2,37	< 1·10 ⁻³	0,207

Примітка. Вірогідно при порівнянні значень частоти даної ознаки: $p_{1\chi^2}$ в одній серії дослідів ($p \leq 0,05$); $p_{2\chi^2}$ — між серіями ($p \leq 0,05$).

Як і в людини, у щурів спостерігається загальний орально-назальний синдром. Картини ураження слизових оболонок ротової порожнини людини та щурів збігаються: спостерігаються набряки та гіперемія слизової оболонки, епітеліальні ерозії, кровоточиві виразки.

Трапляються також пошкодження слизової ока із появою гнійної скоринки та витіканням внутрішнього вмісту ока. Проте наявність цього порушення не корелювала із проявом опухлої морди.

У щурів, підданих лікуванню, виявили менш виражений орально-назальний синдром, проте спостерігали набряк м'яких тка-

нин ротової та носової порожнини.

У контрольних неопромінених щурів стан слизової оболонки відповідав нормальній будові, як зазначено у праці [6].

Результати визначення частоти інтегральних показників клінічних ознак ГПХ у щурів, що вижили і що загинули, в дослідах з тотальним рентгенівським опромінюванням і введенням соку Ноні, представлені в таблиці 1.

З цієї таблиці випливає, що при рентгенівському опроміненні щурів у дозі 6,0 Гр розвиток ГПХ веде до 60 %-вої смертності тварин протягом 30 діб. При цьому в загиблих тварин частіше простежуються ознаки скуйовдженості шерсті і вірогідно великі рівні частоти ознак запалення слизових оболонок голови. Аналогічна картина відзначалася в дослідах з уведенням опроміненим тваринам соку Табарі Ноні, який знизив рівень смертності за 30 діб до 19,2 %, і соку Гавайського Ноні, який також знизив його до 22 %. При оцінці спрямованості змін величин даних інтегральних показників із використанням коефіцієнтів ФІО та особливо ЛІВ, можна отримати додаткову інформацію про особливості адаптаційної дії зразків соку Ноні на хворих тварин. Рисунок 1, 2 демонструють це положення.

З рисунка 1 чітко видно, що рентгенівське опромінення в дозі 6,0 Гр в серії дещо збільшує частоту аналізованих ознак ГПХ у загиблих щурів. Всі величини показників перевищують одиницю, тобто їх більше, ніж у тварин, що вижили. Проте використання соку Ноні істотно збільшує частоту інтегральних показників. Коефіцієнт ФІО в багато разів перевищує одиницю. Роз'яснення такому перебігу змін дає коефіцієнт ЛІВ, який відображає ефект впливу протипроменевого (або лікарського) засобу. Як можна бачити з рисунка 2, у тварин, які вижили під впливом соку Ноні обох зразків, вірогідно знижена частота і загального показника — скуйовдженості шерсті, і показника променевого ураження слизових оболонок ротової порожнини та очей. Але в загиблих тварин величини цих показників значно вищі. Отже, стимульовальна дія соку Ноні на захисні сили у щурів, що вижили, виявляється у зниженні частоти ознак ГПХ, тоді як у загиблих додаткове стимулювання справляє менший ефект і навіть веде до обтяження захворювання. Тобто активація захисних сил організму, ще здатного бороти-

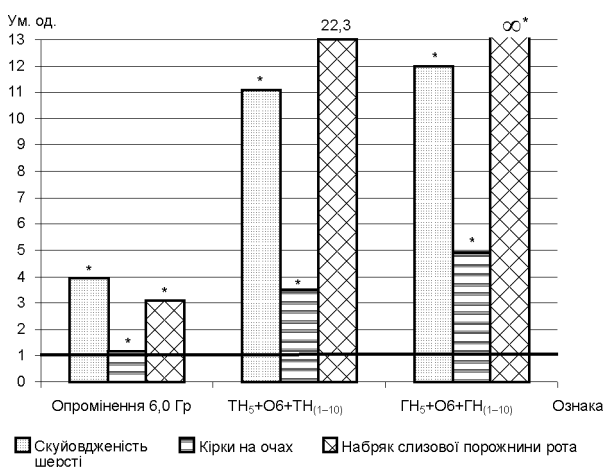


Рисунок 1. Коефіцієнт ФІО у щурів у дослідах з рентгенівським опроміненням у дозі 6,0 Гр та введенням різних зразків соку Ноні

Fig. 1. FAL coefficient in rats in experiments with x-ray exposure at a dose of 6.0 Gy and administration of various samples of Noni juice

Примітка. Тут і далі * — відмінності вірогідні відносно контролю, $p < 0,05$.

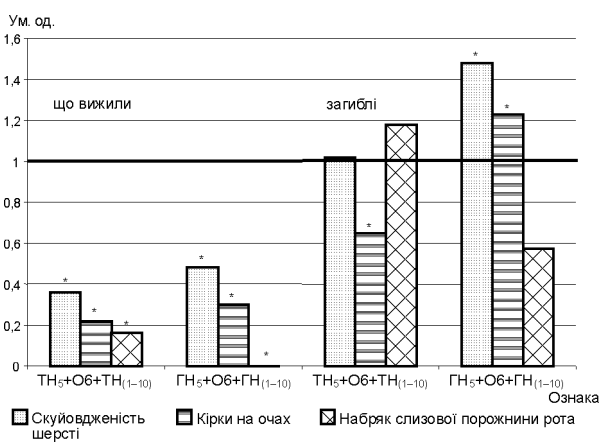


Рисунок 2. Коефіцієнт ЛІВ у щурів, що вижили та що загинули, у дослідах з рентгенівським опроміненням в дозі 6,0 Гр та введенням різних зразків соку Ноні

Fig. 2. MII coefficient in rats which survived and died in experiments with x-ray exposure to the dose of 6.0 Gy and administration of various samples of Noni juice

ся з променевою патологією, допомагає йому в цій боротьбі і, ймовірно, сприяє виживанню. Дія ж стимулятора на опромінених тварин, що вичерпали при хворобі свій життєвий ресурс, може тільки погіршити їх стан.

З огляду на описані факти, очевидно, необхідно враховувати подібну дію адаптаційних засобів при променевої хворобі і класифікувати їх ефективність ще й за даним параметром.

Висновки

1. Встановлено місцевий протизапальний вплив на слизові оболонки рота і очей при пероральному введенні соку Ноні тотально ікс-опроміненим щурам у дозі 6,0 Гр.

2. Показано, що сік Ноні, сприяючи виживаності щурів після загального рентгенівського опромінення, знижує відносну накопичену частоту ознак променевого ураження слизових оболонок голови у тварин, що вижили, і збільшує її у тих, що загинули.

3. Застосування розрахунку інтегральних показників накопиченої частоти ознак ГПХ сприяє з'ясуванню певних механізмів дії протипромєневих засобів на щурів.

4. При класифікації протипромєневих засобів адаптогенного характеру необхідно враховувати їх дію на тварин, що вижили, та на тих, що загинули.

Література

1. Куценко С.А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. – СПб: Фолиант, 2004. – 528 с.
2. Линденбратен Л.Д. Медицинская радиология. – М.: Медицина, 1969. – С. 305–307.
3. Мамотюк Є.М., Узленкова Н.Є., Ненюкова О.В., Масленнікова О.Л., Леонова І.О. // УРЖ. – 2012. – Т. XX, вип. 1. – С. 32–38.
4. Мамотюк Є.М., Ненюкова О.В., Андрієвський Г.В., Тихомиров А.О. // УРЖ. – 2009. – Т. XVII, вип. 4. – С. 491–496.
5. Мамотюк Є.М., Ненюкова О.В. // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 515–527.
6. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / Под ред. акад. А.Д. Ноздрачева. – СПб: Лань, 2001. – 464 с.

Надходження до редакції 06.04.2012.

Прийнято 12.04.2012.

Адреса для листування:
Мамотюк Євгеній Михайлович,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна