

УДК – 616.342 -091:577.15):612.014.482

АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЭПИТЕЛИИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ИНКОРПОРАЦИИ РАДИОНУКЛИДОВ

М.Н. Закурдаева

Гродненский государственный медицинский университет



Закурдаева Марина Николаевна – старший преподаватель кафедры гистологии ГГМУ.

Область научных интересов: морфология, электронная микроскопия, гистохимия.
E-mail: mary@grsmi.unibel.by

Гистохимическими методами исследования с последующим цитометрическим анализом изучалась активность дегидрогеназ сукцината, лактата и восстановленного никотинамиддинуклеотида в эпителии двенадцатиперстной кишки потомства белых крыс при воздействии в различные периоды онтогенеза инкорпорированных с пищей радионуклидов. Анализ полученных данных показал, что характер изменений активности ферментов неоднозначен в различные периоды постнатального развития (15-ые, 45-ые и 90-ые сутки после рождения) и зависит от длительности воздействия ионизирующей радиации.

Ключевые слова: инкорпорированные радионуклиды, онтогенез, двенадцатиперстная кишка, гистохимия.

Succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and NADH dehydrogenase activities were studied by histochemical methods with following cytophotometric analysis in duodenal epithelium of white rats after exposure to food radionuclides during the different ontogenetic periods (antenatal and postnatal). The analysis of the data obtained has shown that the patterns of changes in the enzymatic activities were different at the different postnatal age (15, 45 or 90 days) and depended on the cumulative time of radiation exposure.

Key words: incorporated radionuclides, ontogenesis, duodenum, histochemistry.

В результате аварии на ЧАЭС более 70% выброшенных радионуклидов аккумулировалось на территории Беларуси, что привело к загрязнению около 22% сельскохозяйственных угодий. В этих условиях радиоактивные вещества поступают в организм человека, главным образом, с пищей [4]. Около 80% поглощенной дозы жители загрязненных регионов получают за счет потребления продуктов местного производства (овощей, хлеба и молочных продуктов) с повышенным содержанием радионуклидов [2]. Это создает реальные предпосылки для длительного поступления в организм человека радиоактивных веществ, основными из которых являются ^{137}Cs – 74,2 %, ^{90}Sr – 24,3 % [7]. При этом происходит постоянное облучение, в первую очередь, тканей пищеварительного тракта, что может явиться причиной разнообразных морфофункциональных нарушений, особенно в растущем детском организме. Вероятно поэтому в структуре заболеваемости детского населения особое место занимают болезни органов пищеварения,

темпы роста которых в последние годы значительно увеличились [1]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что инкорпорированные с пищей радионуклиды вызывали в двенадцатиперстной кишке растущих крысят задержку развития ворсинок, крипт и их эпителиоцитов, снижение в последних высоты исчерченной каемки с деформированием и разрежением в ней микроворсинок. Эти изменения полностью не исчезали даже при переходе животных после рождения на “чистое” питание [3, 5]. В данной работе была поставлена цель - изучить влияние инкорпорированных радионуклидов на активность дегидрогеназ в эпителии двенадцатиперстной кишки растущих крысят.

Материал и методы исследования

Эксперимент проводился на беспородных белых крысах и их потомстве, которое было разделено на 3-и группы: 1-ая – крысята, родившиеся от самок, находившихся на чистом рационе (контрольная группа - 22 животных); 2-ая – крысята,

родившиеся от самок, находившихся на спецрационе (получали с рационом радиоактивное зерно из расчета 15 г/сут. на животное, удельная активность которого составляла по ^{137}Cs – 428,74 Бк/кг при ПДУ – 185 Бк/кг, по ^{90}Sr – 97,69 Бк/кг при ПДУ – 3,7 Бк/кг) с 1-го дня беременности до родов (группа РБ – радионуклиды во время беременности – 22 животных); 3-ая – крысята, находившиеся под воздействием инкорпорированных радионуклидов постоянно, как в антенатальный, так и в течение всего постнатального периода развития (группа РП – радионуклиды постоянно – 22 животных). Забой животных проводился с помощью паров эфира на 15-ые (препубертатный период развития), 45-ые (пубертатный) и 90-ые сутки развития (половозрелый). Взятые кусочки двенадцатиперстной кишки быстро подвергали замораживанию в жидком азоте для последующего гистохимического исследования. Изготавливались криостатные срезы толщиной 10 мкм и обрабатывались на предмет изучения в эпителии двенадцатиперстной кишки активности дегидрогеназ сукцината (СДГ), лактата (ЛДГ), восстановленного никотинамиддинуклеотида (НАДН-ДГ) с последующим цитофотометрическим анализом. Полученные количественные результаты обрабатывались методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента на персональном компьютере с помощью программы “STATISTICA 6.0” для Windows.

Результаты и обсуждение

Проведенные цитохимические исследования показали, что уже в ранние сроки постнатального развития (15-ые сутки после рождения) активность изучаемых ферментов у контрольных животных довольно высокая в эпителии ворсинок, слабее в эпителиоцитах крипт. В эпителиоцитах четко прослеживалась полярность распределения продуктов реакции. Наибольшее их количество сосредоточено в апикальном отделе клеток, где, по данным электронной микроскопии, располагалось наибольшее количество митохондрий [6]. Значительно меньшая активность ферментов была в базальном отделе эпителиоцитов. Продукты реакции в апикальном отделе имели мелкогранулярный характер, а в базальном – крупноглыбчатый. Неодинаково распределена активность фермента и по длине ворсинки. Наибольшее количество продуктов реакции определялось в эпителиоцитах нижней и средней части ворсинки, а по направлению к ее верхушке оно значительно снижалось. В эпителиоцитах крипт актив-

ность ферментов ниже, чем в ворсинках, но характер распределения продуктов реакции был аналогичным. В более поздние сроки развития активность всех ферментов прогрессивно возрастала, достигая максимума в эпителиоцитах ворсинок по ЛДГ на 45-ые, а по СДГ и НАДН-ДГ – на 90-ые сутки после рождения (рис. 1, 2, 3). Характер распределения продуктов реакции при этом существенно не изменялся.

У 15-суточных крысят двух опытных групп (период молочного вскармливания), находившихся под воздействием инкорпорированных радионуклидов, имело место достоверное увеличение активности дегидрогеназ, особенно СДГ, в эпителиоцитах ворсинок слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, которое было наиболее значительным у животных группы РП, постоянно подвергавшихся влиянию радиационного фактора (рис. 1). Сохранялась полярность распределения продуктов реакции, однако последний при этом приобретал крупноглыбчатый характер. При электронно-микроскопическом исследовании установлено появление в эпителиоцитах животных опытных групп большого количества митохондрий крупных размеров [6]. Репарационные процессы в клетках в условиях малых доз радиации требуют высоких энергетических затрат и усиление ферментативной активности указывает на наличие в эпителиоцитах интенсивной компенсаторной реакции.

На 45-ые сутки развития у животных группы РБ, которые переходили после рождения на «чистое» питание, отмечалось достоверное увеличение активности СДГ и незначительное – ЛДГ в структурах слизистой оболочки (рис. 2). У крысят группы РП, наоборот, имело место достоверное снижение в эпителиоцитах ворсинок и крипт активности СДГ. Проявлялась тенденция в уменьшении активности и НАДН-ДГ (см. рис. 2). Как показало проведенное при этом электронно-микроскопическое исследование, в эпителиоцитах данной группы животных наблюдалось просветление матрикса митохондрий, фрагментация и редукция их крист, что и явилось причиной снижения активности ферментов [6]. Активность же ЛДГ, наоборот, возрастала, компенсируя в клетках по мере возможности необходимые энергетические затраты (см. рис. 2).

На 90-ые сутки после рождения у крысят группы РБ, получавших после рождения «чистое» питание, уровень активности ферментов в эпителии двенадцатиперстной кишки был значительно выше, по сравнению с группой РП, но все-таки не дости-

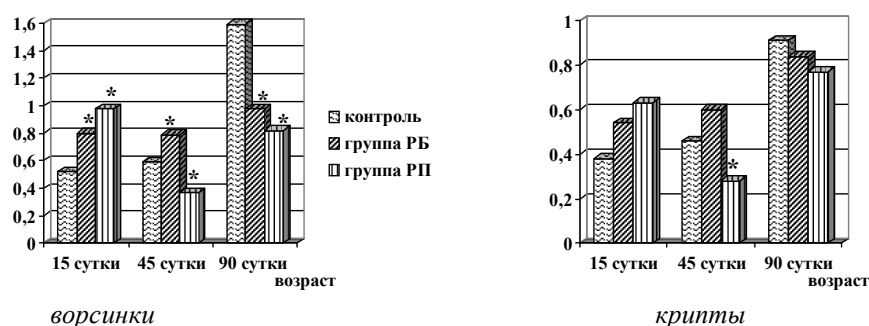


Рис. 1. Активность СДГ в эпителии двенадцатиперстной кишки крысят различного возраста при воздействии инкорпорированных радионуклидов (ед.оп.пл.).

Примечание: * - различия показателей достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

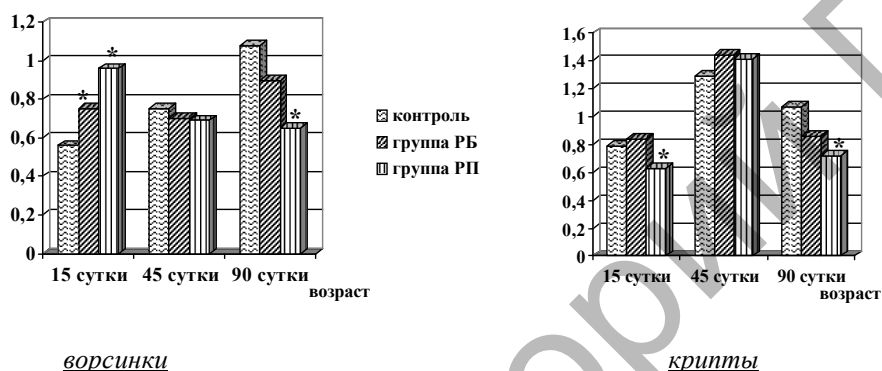


Рис. 2. Активность ЛДГ в эпителии двенадцатиперстной кишки крысят различного возраста при воздействии инкорпорированных радионуклидов (ед.оп.пл.).

Примечание: * - различия показателей достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

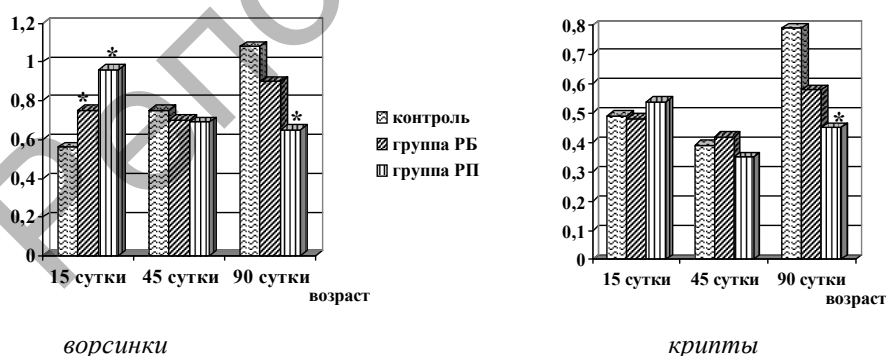


Рис. 3. Активность НАДН-ДГ в эпителии двенадцатиперстной кишки крысят различного возраста при воздействии инкорпорированных радионуклидов (ед.оп.пл.).

Примечание: * - различия показателей достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

гал контрольных показателей, а по СДГ был достоверно ниже (рис.3). Это может говорить о развитии репарационных процессов в эпителиоцитах при устранении радиационного фактора. Однако, восстановление это, тем не менее, не полное и, как показало электронно-микроскопическое исследование, матрикс митохондрий оставался более светлым, а количество крист - редуцированным [6]. Возможно, это объясняется произошедшими ранее в результате инкорпорации радионуклидов генетическими изменениями митохондрий, которые передаются при их размножении новым клеткам. У опытных животных группы РП, которые постоянно находились под воздействием инкорпорированных радионуклидов, отмечалось достоверное снижение активности всех ферментов в эпителиоцитах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (см. рис.3), что может свидетельствовать об усугублении структурных изменений в клетках при пролонгированном воздействии радиационного фактора.

Выводы

Воздействие инкорпорированных с пищей радионуклидов на развивающихся крысят приводит к значительным и закономерным нарушениям окислительного метаболизма в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, которые зависели от срока исследования и длительности радиационного воздействия.

Литература

1. Динамика состояния здоровья детского населения Беларуси в современной экологической ситуации / Белоокая Т.В., Метлицкая Е.Л., Тегако Л.И., Ткаченко Л.В. // Экологическая антропология: Еж. - Минск, 1996. - С. 9-21.
2. Ненашева М.Н., Тимофеев С.Ф. Некоторые закономерности поступления ^{90}Sr в овощные культуры в условиях радиоактивного загрязнения // Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды: Тез. докладов междунар. конф. (Сыктывкар, 20-24 марта 2001г.). - Сыктывкар, 2001. - С.199-200.
3. Зезюльчик (Закурдаева) М.Н. Воздействие инкорпорированных радионуклидов в ante- и постнатальный периоды онтогенеза на физическое развитие потомства и гистоструктуру тонкой кишки // Материалы научн. конф. «Охрана репродуктивного здоровья подростков» (Минск, 2000 г.). - Минск, 2000. - С.76-80.
4. Содержание радионуклидов и некоторых токсических веществ в организме детей и подростков Беларуси / Кенинберг Я.Э., Петрова В.С., Бондарев М.Н., Головнева А.А. // Патоморфоз хронических гастритов у детей и подростков, подвергшихся комбинированному радиационно-химическому воздействию: Материалы научных исследований 1991-1994 гг. - Минск, 1995. - С.51-74.
5. Структура 12-перстной кишки при инкорпорации радионуклидов / М.Н.Зезюльчик (Закурдаева), Я.Р.Мацюк, Л.Е.Виноградова, Е.Ч.Михальчук: Материалы IV съезда российских морфологов с международным участием. // Российские морфологические ведомости. - 1999. - N1-2. - Раздел 2. - С.72-73.
6. Ультроструктурные особенности начального отдела тонкой кишки при воздействии инкорпорированных радионуклидов / М.Н.Зезюльчик (Закурдаева), Я.Р.Мацюк, Р.И.Кравчук, Е.Ч.Михальчук и др. // Международная науч. конф., посв.

40-летию ГрГМИ (7-8 октября 1998 г.): Материалы конференции. - Гродно, 1998. - Часть 2. - С.80-81.

7. Possibility of monitoring internal radiation doses in the heavily contaminated zone ft the late stage of the Chernobylm accident / Repin V.S., Bondarenko O.A., Novak N.I., Tsygankov N.I. et al. // Pap. Workshop Intakes radionucl.: Occup. and Public Expos. Avignon. Sept. 15-18, 1997. - Radiat. Prot. Dosim. - 1998. - Vol.79, N1-4. - P.183-186.

Resume

DEHYDROGENASE ACTIVITIES IN THE DUODENAL EPITHELIUM OF RATS DURING THE RADIONUCLIDE INCORPORATION

Zakurdaeva M.N.

Grodno State Medical University

The histochemical investigation followed by cytophotometric analysis has shown that exposure of pregnant female rats to radionuclides from food resulted in the enzyme activation (succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, NADH dehydrogenase) in the duodenal epithelium during the early stages of postnatal development (age of 15 days). During the continuous radionuclide exposure from food the activities of SDH and NADH-DH on the 45th day after birth became lower than in control rats; activities of LDH and other enzymes studied were inhibited only at the age of 90 days. The animals switched to the "pure" diet since their birth had the high SDH and LDH activities on the 45th day of life. Later (90 days) the activities of all enzymes had a trend to decrease.

Добавки с хромом опасны для жизни

Популярная пищевая добавка может вызывать серьезные заболевания и повреждения генов, которые могут передаваться по наследству. Исследование, проведенное американскими исследователями на мушках-дрозофилах, стало еще одним доказательством набирающего силу убеждения в том, что некоторые соединения хрома могут быть очень токсичными.

«В отношении использования пиколината хрома, второй по популярности пищевой добавки после соединений кальция, имеются серьезные опасения», - отметил автор исследования Джон Винсент (John Vincent) из Университета Алабамы в Таскалусе (Tuscaloosa) в интервью корреспондентам UPI. Он отметил, что это вовсе не означает, что вредны все соединения хрома, например, его хлорид.

Ученый рассказал, что это соединение, по-видимому, принимает участие в работе инсулина, регулирующего уровень сахара, и метаболизм в жировой ткани. Пиколинат хрома рекламируют как средство при сахарном диабете второго типа и при ожирении. За десять лет популярность добавки вывела ее на одно из первых мест, а ежегодные продажи достигли суммы в 500 миллионов долларов.

Однако в статье, в последнем номере Proceedings of the National Academy of Sciences, исследователь утверждает, что эффективность добавки в последних исследованиях доказана не была. Кроме того, уже несколько лет имеются указания на то, что она может представлять определенную опасность для организма. Последнее исследование на плодовых мушках лишний раз это подтверждает.

Авторы работы, в частности, обнаружили, что при наличии в их рационе соединения хрома, аналогичного по дозе тому, что получает человек, наблюдалось в каждом поколении число мушек, которые выходили из стадии куколки, а развитие выживших значительно понизилось. Кроме того, у потомства мушек, получавших добавку, были проблемы с размножением, что означает, что влияние передается через гены.

Ученый не стал утверждать, что его выводы должны трактоваться однозначно, но признался, что сам бы не хотел употреблять пиколинат хрома. Было отмечено, что требуются дополнительные эксперименты на млекопитающих и ученые уже приступили к исследованиям на мышиных эмбрионах.

mednovosti.ru