А.В. Чантурия

ЦИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ¹³¹I

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Представлены результаты цитохимического исследования лимфоцитов периферической крови белых крыс после внутрибрюшинного введения радионуклида ¹³¹I в дозе 2,5 МБ/кг, что приводило к изменению окислительно-восстановительных процессов в лимфоцитах. Выявленные изменения связаны, как с эффектом облучения, так и вследствие непрямого воздействия гормонов щитовидной железы.

Ключевые слова: радионуклиды йода, лимфоциты крови, ферменты

A.V. Chanturiya

CYTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE ACTIVITY OF SOME REDOX ENZYMES IN RAT PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES WHEN EXPOSED TO ¹³¹I

Savage of rats with I¹³¹ at 2,5 MB/kg level followed with changing in red-ox processes in lymphocytes. It is caused not only by irradiation, but also by the inderect influencing of the thyroid gland's hormones.

Keywords: Iodine radionuclides, blood lymphocytes, enzymes

Актуальность. К настоящему времени накопились обширные данные, касающиеся главным образом влияния наиболее распространенного изотопа йода – ¹³¹I на щитовидную железу [2,4]. Вместе с тем работ, посвященных изучению действия ¹³¹I на другие органы и ткани, далеко не достаточно. В частности, отсутствуют сведения о цитохимическом статусе лимфоцитов, которые позволили бы оценить функциональную активность клеток, обладающих особенно высокой чувствительностью к ионизирующей радиации.

Цель. Изучить активность окислительно-восстановительных ферментов, отражающих метаболизм лимфоцитов периферической крови крыс в различные сроки после воздействия ¹³¹I.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах с исходным возрастом 6 мес. (масса животных 220–260 г). Животным вводили однократно внутрибрюшинно ¹³¹I в количестве 2,5 МБк/кг. Поглощенная доза внутреннего облучения от ¹³¹I на щитовидную железу через 14 сут. составила 92,4 Гр, 30 сут – 94,6 Гр, 90 сут. – 94,7 Гр и в дальнейшем не изменялась.

В опытах использовано 49 животных, 24 из них служили контролем. Исследования проводили через 14 сут., 1, 3, 6 и 12 мес. после введения изотопа

йода. Крыс декапитировали, готовили мазки периферической крови, которые после высушивания на воздухе фиксировали в 60% водном ацетоне, насыщенном ЭДТА. Методами цитохимии определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы цитоплазматической (ГФДГц), α -оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и глутаматдегидрогеназы (ГДГ) с использованием п-нитротетразолия фиолетового в качестве акцептора водорода [5]. По завершении цитохимической реакции ядра лимфоцитов докрашивали 0,5 % метиловым зеленым в течение 5 мин. В 40-50 лимфоцитах, выявляющихся в мазках крови, подсчитывали количество гранул формазана – продукта реакции. Полученные данные обрабатывали общепринятыми статистическими методами. В связи с значительной гетерогенностью популяции лимфоцитов каждая серия опытов (по срокам) сопровождалась контрольными исследованиями.

Результаты исследований показали, что через 14 сут. после затравки ^{131}I в клетках крови отмечается возрастание активности СДГ и уменьшение активности ГДГ. В данном случае активность дегидрогеназ, очевидно, находится в определенной зависимости от состояния не только щитовидной железы, но и других органов и тканей. На это указывает, в частности, сравнительно диффузное распределение в организме изотопа йода в выбранные сроки наблюдения [4].

Спустя 1 мес. после введения ^{131}I происходит заметная интенсификация окислительно-восстановительных процессов в лимфоцитах крови. Повышение активности изучаемых ферментов в них носит однонаправленный, однако далеко не равнозначный характер. Максимальный (до 20%) рост активности отмечается для ЛДГ и ГФДГц. Умеренное повышение (в пределах 8–9%) своей активности проявляют ОГДГ, СДГ и Г-6-ФДГ. В то же время уровень активности ГДГ изменяется в незначительной степени и почти не отличается от контрольных значений.

Ускорение процессов окисления в этот период, вероятно, связано с повышенной потребностью в энергии, вызванной функциональным напряжением лимфоцитов. Это в свою очередь может быть обусловлено изменением функционального состояния щитовидной железы и неустойчивостью количественного содержания форменных элементов крови, характеризующейся уже в начальной стадии развитием лейкопении. Последняя преимущественно возникает за счет значительного уменьшения количества лимфоцитов, которое после однократного введения ^{131}I обычно восстанавливается крайне медленно [1].

Картина наблюдаемых сдвигов в активности указанных окислительно-восстановительных ферментов в лимфоцитах крови претерпевает существенные изменения спустя 3 мес. после воздействия ^{131}I по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Это касается в первую очередь ферментов гликолиза (ЛДГ) и глицерофосфатного шунта (ГФДГц). Активность лактатдегидрогеназной реакции из фазы активации переходит в состояние торможения и составляет 88,89% от контроля, а активность ГФДГц

нормализуется. В то же время отмечается некоторое усиление реакции окисления глутамата, заметное возрастание (до 128%) активности одного из ключевых ферментов пентозофосфатного цикла – Г-6-ФДГ. На этом фоне активность ферментов цикла Кребса обнаруживает незначительное превышение контрольного уровня.

Реакция оксидоредуктаз в лимфоцитах крови на действие ^{131}I через 6 мес. после его введения характеризуется отчетливым угнетением процессов дегидрирования, за исключением активности ОГДГ. Происходит заметное снижение и уровня активности глицерофосфатной реакции. Активность Г-6-ФДГ снижается в меньшей степени.

В последней серии эксперимента (12 мес.) наблюдается восстановление активности ОГДГ, Г-6-ФДГ и ГДГ. Окисление таких субстратов, как лактат, сукцинат и особенно α -глицерофосфат, в этой серии сохраняется на повышенном уровне, несмотря на большой срок после введения изотопа йода.

Анализ уровней активности изученных ферментов в лимфоцитах периферической крови на действие ^{131}I в динамике показывает, что направленность их реакции во времени в целом совпадает. Противоположная реакция отмечалась лишь у Г-6-ФДГ в конце 6-го месяца наблюдений. Следует также обратить внимание на более значительные изменения в уровне активности ЛДГ и ГФДГц. Возможно, подобные колебания находятся в определенной связи с развитием в условиях нашего эксперимента гипергликемии и гиперлактацидемии и носят компенсаторный характер.

Представляет интерес активация Г-6-ФДГ – фермента, играющего важную роль в метаболизме углеводов. От уровня его активности в известной степени зависит и антиоксидантная функция клеток [3]. Спустя 1, 3 и 12 мес. после инкорпорации ^{131}I она возрастает, снижаясь на незначительную величину лишь к 6 мес. опыта. Обращает на себя внимание интенсивность глицерофосфатного челночного механизма, обеспечивающего перенос НАДН из цитоплазмы в митохондрии, о чем свидетельствует уровень активности ГФДГц.

При действии инкорпорированного ^{131}I выявляется большая чувствительность СДГ по сравнению с таковой ОГДГ. Менее активна система, окисляющая глутамат, что указывает на относительно меньшее участие белково-азотистого обмена в восполнении энергетических потребностей клетки при действии ^{131}I в дозе 2,5 МБк на 1 кг массы. Активность пентозофосфатного цикла, как уже отмечалось, в большей степени проявляется в первые 3 мес. эксперимента, когда в лимфоцитах крови сохраняются повышенная потребность в восполнении энергоресурсов, а также пентоз наиболее экономичным путем.

Анализируя цитоэнзимологический спектр лимфоцитов периферической крови крыс при внутреннем облучении ^{131}I , можно прийти к выводу о фазовости изменений активности ферментов энергетического обмена на протяжении всего периода исследований, за исключением первой серии опытов (14 сут.). В значительной мере это связано с нарушением морфофункционального состояния щитовидной железы (ее частичное

разрушение, изменение процессов гормонообразования и поступления тиреоидных гормонов в кровь), возникшим в результате облучения изотопом йода, что отражается на всех биосистемах организма. В частности, следствием этого является дискоординация всего эндокринного звена нейро-гуморальной регуляции.

Заключение. Таким образом, введение ^{131}I в дозе 2,5 МБк на 1 кг массы животного вызывает выраженную перестройку окислительно-восстановительных механизмов в лимфоцитах периферической крови крыс на протяжении всего периода наблюдения (12 мес.). Она отражает поэтапное изменение соотношения различных путей метаболизма в биоэнергетике клетки. Отмеченные сдвиги в активности ферментов, носящие фазовый характер, по-видимому, не только обусловлены действием внутреннего облучения, но в большей степени связаны с опосредованным влиянием гормонов щитовидной железы на окисление субстратов. Последнее создает функциональную напряженность процессов в системе крови.

Полученные данные дают нам возможность в какой-то мере экстраполировать их на человека, поскольку многие структурные, метаболические и физиологические параметры клеток крови животных и человека довольно близки между собой.

Литература

1. Борисова В.В., Воеводина Т. М., Федорова А. В., Яковлева Н. Г. Биологические эффекты при длительном поступлении радионуклидов / В.В. Борисова, Т.М. Воеводина, А. В. Федорова, Н.Г. Яковлева. - Москва : Энергоатомиздат, 1988. – 165 с.
2. Гохберг С.Л. Ультраструктурный анализ действия радиоактивного йода (^{131}I) на щитовидную железу: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ташкент, 1975.
3. Калистратова В.С. Биологическое действие внешних и внутренних источников радиации : Сборник работ / под ред. проф. Ю. И. Москалева, В. С. Калистратовой. – Москва: Медицина, 1972. - 355 с.
4. Москалев Ю.И., Егорова Г.М. Биологическое действие внешних и внутренних источников радиации / под ред. проф. Ю. И. Москалева, В. С. Калистратовой. – Москва: Медицина, 1972. - 355 с.
5. Нарциссов Р. П. Архив анатомии. – 1969. – № 5. – С. 85-91.