© Полянская В.П., Звягольская И.Н.

УДК 616.36-005.4.835.3:615.916.16

ВЛИЯНИЕ ФТОРИДА НАТРИЯ НА СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ЕЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Полянская В.П., Звягольская И.Н.

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

На современном этапе развития научно-технического прогресса черезвычайно важным является изучение механизмов и закономерностей взаимодействия организма с факторами окружающей среды на различных уровнях интеграции.

В качестве патогенного фактора, обусловливающего возникновение заболеваний и оказывающего влияние на течение ряда патологических процессов, может выступать фтор. Несмотря на то, что многие стороны биологического влияния фтора в значительной мере изучены [1,12,14], недостаточно выяснено его влияние на адаптивные возможности организма к ишемии, на репаративные процессы в тканях после их ишемического повреждения. В регуляции этих процессов, согласно современным представлениям, фундаментальную роль играет синтез нуклеиновых кислот [6]. В свете изложенного очевидна актуальность изучения влияния повышенного поступления фтора в организм на восстановительные пластические процессы в тканях после ишемии.

Целью работы явилось изучение резистентности печени к ишемии и особенности обмена нуклеиновых кислот в постишемическом периоде в условиях повышенного поступления в организм фторида натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 120 белых крысах линии "Вистар" обоего пола, массой 200-250 г в трех сериях опытов. В 1-ю серию были включены контрольные животные, у которых воспроизводили тридцатиминутную ишемию печени и изучали концентрацию нуклеиновых кислот, а также удельную радиоактивность суммарной РНК на вторые, четвертые, восьмые сутки восстановления кровотока в органе. В серии насчитывалось 42 животных.

Во II-ю серию были включены 39 животных, у которых воспроизводили тридцатиминутную ишемию печени и изучали концентрацию нуклеиновых кислот и удельную радиоактивность суммарной РНК на вторые, четвертые, восьмые сутки рециркуляции на фоне предварительного введения фторида натрия в течение двух недель.

В III-ю серию были включены 39 животных, у которых воспроизводили тридцатиминутную ишемию печени и изучали концентрацию нуклеиновых кислот и удельную радиоактивность суммарной РНК на вторые, четвертые, восьмые сутки рециркуляции на фоне предварительного введения фторида натрия в течение трех месяцев.

Полученные результаты сравнивали с показателями интактных животных, которым не вводили фторид натрия и не воспроизводили ишемию печени, а также сравнивали результаты II и III серии с показателями I серии.

Фторид натрия вводили животным перорально в течение трех месяцев из расчета 1,2 мг на 100 г массы [1]. Ишемия печени воспроизводилась путем наложения зажима на печеночно-двенадцатиперстную связку в течение 30 минут. Оперативное вмешательство производилось под гексеналовым наркозом. Брюшную полость вскрывали по срединной линии от мечевидного отростка длиной 2 см. После инфильтрации 0,5% раствором новокаина печеночно-двенадпатиперстную связку пережимали специальным зажимом [5]. Операцию завершали послойным зашиванием раны. Через 30 минут после наложения зажима на сосудистый пучек, на вторые, четвертые и восьмые сутки возобновления кровотока в печени, крыс декапитировали и определяли концентрацию нуклеиновых кислот, а также интенсивность синтеза суммарной РНК. В основе метода определения нуклеиновых кислот лежит фракционирование по Schmidt G., Thannhauser S. [13] с последующей спектрофотометрией. В результате фракционирования последовательно удаляли кислоторастворимые фракции, липиды; с помощью кислотного и щелочного гидролиза выявляли и определяли РНК и ДНК. Спектрофотометрические определения нуклеиновых кислот проводили по А.С.Спирину [8]. Для расчета использовали формулу: ((Д270-Д290)/0,19)=(dE/0,19), где в числителе dE разность экстинций, в знаменателе 0,19 - коэффициент Спирина. Суммарную РНК выделяли фенольно-термическим методом, описанным Г.П.Георгиевым, В.П.Мантьевой [4]. Об интенсивности синтеза суммарной РНК в печени судили по скорости включения в нее Н3-оротовой кислоты, которая вводилась внутрибрюшинно, из расчета 0,8 мБк на 100г массы за 60 минут до декапитации животных. Радиоактивность проб измеряли на счетчике "Изокамп-300" в водорастворимом сцинтилляторе на основе диоксана.

Замороженную ткань гомогенизировали в 0,14% растворе хлорида натрия в соотношении 1:5 в стеклянном гомогенизаторе. К гомогенату добавляли двойной

объем 80% раствора фенола и ставили на водяную баню при температуре 55-56°С на 20 минут. Затем центрифугировали на холоде при 4000-5000 об/мин 15-20 минут. К надосадочной жидкости добавляли равный объем 80% раствора фенола и ставили на шутель-аппарат на 10-20 минут. Снова центрифугировали при 4000-5000 об/мин. Надосадочную жидкость отмывали эфиром и отделяли на делительной воронке. Этот раствор РНК осаждали 96% спиртом в соотношении 1:2 и ставили в холодильник на ночь. Затем центрифугировали при 2000 об/мин 10-15 минут. Осадок растворяли в минимальном количестве воды и определяли концентрацию на спектрофотометре СФ-4 (ЛОМО,Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследования, изменение синтеза нуклеиновых кислот в печени крыс в динамике при введении фторида натрия носили неоднозначный характер. Анализ полученных данных показал, что после введения белым крысам фторида натрия в течение двух недель наблюдалась тенденция к повышению концентрации РНК в ткани печени. Концентрация ДНК - существенно не изменялась. При этом, отмечалось некоторое повышение удельной радиоактивности суммарной РНК в печени крыс относительно интактных животных. Полученные результаты, свидетельствовали, по-видимому, о повышении анаболической активности печени.

Как видно из таблицы в печени животных, которым в течение трех месяцев вводили фторид натрия, концентрация РНК в ткани печени снизилась на 26% (p<0,61), концентрация ДНК снизилась на 12% (p<0,01) по сравнению с интактными крысами. Понижение концентрации нуклеиновых кислот в печени сопровождалось снижением на 10% коэффициента РНК/ДНК относительно контроля. Указанное снижение РНК, а также снижение удельной радиактивности суммарной РНК на 25% (p<0,05) отражало угнетение синтеза РНК в печени.

Неоднозначность изменений метаболических процессов в печени в динамике повышенного поступления фторида натрия в организм наблюдалась и другими авторами [11] при изучении белоксинтезирующей активности печени.

Фазность изменений метаболизма в печени на протяжении введения фторида натрия, по-видимому, определялась следующими факторами. На ранних этапах (2 недели) воздействия фторида натрия у экспериментальных животных проявлялись неспецифические адаптивные реакции организма на интоксикацию. Это, очевидно, было связано с тем, что под влиянием фторида натрия изменяется секреция гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) Угнетение синтеза нуклеиновых кислот в период выраженной фтористой интоксикации, по-видимому, обусловлено снижением энергетического обеспечения печени. Согласно предположениям ряда авторов [2] нарушение энергетического обмена за счет подавления синтеза АТФ является причиной снижения синтетической активности тканей.

В то же время недостаточно изучены вопросы влияния фторида натрия на течение ишемических и реперфузионных повреждений органов. По степени чувствительности к ишемии печень уступает лишь головному мозгу [3]. Анализ литературных данных позволил сделать вывод, что необратимые изменения в гепатоцитах наиболее часто возникают при выключении печени из кровотока свыше 40 минут. В связи с изложенным представляло интерес изучить влияние фторида натрия на метаболизм нуклеиновых кислот при тридцатиминутной ишемии печени и в период возобновления кровотока в ней.

Из экспериментальных данных следует, что у группы животных с предварительным введением фторида

Таблица Изменения показателей синтеза нуклеиновых кислот в печени белых крыс в постишемическом периоде (М±м)

Условия эксперимента	Концентрация нуклеиновых кислот (мг/г ткани)		РНК/ДНК	Удельная радиоактивность (Бк/мг РНК)
	РНК	ДНК		
Интактные животные	7,159±0,084	3,185±0,095	2,247	479±12,6
I серия (n=42)				
Ишемия 30 мин	7,013±0,160 p>0,05	3,214±0,200 p>0,05	2,182	
Рециркуляция: вторые сутки	6,515±0,130 p<0,01	2,948±0,070 p>0,05	2,209	641±17,1 p<0,01
четвертые сутки	7,940±0,170 p<0,01	3,122±0,110 p>0,05	2,478	493±20,3 p>0,05
восьмые сутки	7,202±0,210 p>0,05	3,356±0,130 p>0,05	2,145	468±18,3 p>0,05
II серия (n=39)				
Введение фторида натрия 2 недели	7,825±0,410 p>0,05	3,207±0,132 p>0,05	2,439	531±19,2 p<0,05
Ишемия 30 мин.	7,205±0,100 p>0,06	3,272±0,090 p>0,05	2,202	
Рециркуляция вторые сутки	6,800±0,200 p>0,05	2,901±0,120 p>0,05	2,340	695±20,5 p<0,01
четвертые сутки	7,917±0,100 p>0,05	3,261±0,080 p>0,05	2,427	565±14,7 p<0,01, p1<0,02
восьмые сутки	7,246±0,070 p>0,05	2,200±0,090 p>0,05	2,250	483±11,3 p>0,05
III серия (n=39)				
Введение фторида натрия три месяца	5,728±0,140 p<0,01	2,806±0,053 p<0,01	2,041	368±7,8 p<0,01
Ишемия 30 мин.	5,040±0,21 p<0,01 p1<0,01	2,551±0,120 p<0,01 p1<0,02	1,974	
Рециркуляция вторые сутки	5,601±0,200 p<0,01 p1<0,01	2,714±0,070 p<0,01 p1<0,05	2,063	414±15,9 p<0,01 p1<0,01
четвертые сутки	5,954±0,190 p<0,01 p1<0,01	2,826±0,080 p<0,01 p1<0,05	2,106	486±10,3 p>0,05
восьмые сутки	6,304±0,110 p<0,01 p1<0,01	2,957±0,060 p>0,05 p1<0,02	2,131	553±16,7 p<0,01 p1<0,01

p - показатель достоверности различия результатов относительно интактных животных

p1 - показатель достоверности различия результатов относительно контрольных животных аналогичного периода

натрия в течение двух недель показатели синтеза нуклеиновых кислот при тридцатиминутной ишемии достоверно не изменялись по сравнению с показателями контрольной группы животных в аналогичном периоде. Однако, следует отметить у этой группы животных выраженную тенденцию к повышению удельной радиоактивности суммарной РНК в печени через сутки после начала рециркуляции и повышения ее на 14% ($p<0,01$) на четвертые сутки рециркуляции.

Активация биосинтетических процессов после ишемии печени, по-видимому, происходит под влиянием неспецифических гуморальных и тканевых факторов. По мнению ряда исследователей [7,9] развитие компенсаторно-приспособительных реакций в условиях воздействия химических веществ на организм сопровождается интенсификацией адаптивных метаболических процессов.

Исследование показателей синтеза нуклеиновых кислот в восстановительный период после ишемического повреждения печени у животных, которым вводили фторид натрия в течение трех месяцев выявило глубокие изменения метаболизма РНК и ДНК.

На высоте тридиатиминутной ишемии, воспроизводимой у животных которым в течение трех месяцев вводили фторид натрия, в ткани печени концентрация РНК снижалась на 30% ($p<0,01$) по сравнению с интактными животными, а концентрация ДНК - на 19% ($p<0,01$). При сопоставлении полученных результатов с показателями аналогичного периода контрольной группы животных, наблюдалась снижение концентрации РНК на 28% ($p<0,01$) и концентрации ДНК - на 21% ($p<0,02$). На вторые сутки рециркуляции в печени животных, которым вводили фторид натрия в течение трех месяцев, изучаемые показатели синтеза нуклеиновых кислот оставались ниже уровня интактных животных и животных контрольной группы.

Активизация синтеза РНК и ДНК в печени крыс в восстановительном периоде у животных со фтористой интоксикацией наблюдалась на четвертые и восьмые сутки. Это выражалось в нормализации показателей удельной радиоактивности суммарной РНК на четвертые сутки и повышение ее на 15% ($p<0,01$) на восьмые сутки рециркуляции по отношению к интактным животным.

При сопоставлении полученных данных с результатами контрольной группы животных аналогичного периода нами наблюдалось снижение на 56% ($p<0,01$) удельной радиоактивности суммарной РНК через сутки рециркуляции и повышение ее на 18% ($p<0,01$) на восьмые сутки после восстановления кровотока в печени. Также следует отметить, что к восьмому дню рециркуляции показатели концентрации нуклеиновых кислот в печени повышались, приближаясь к значениям интактных животных. Сопоставление с показателями контрольной группы животных аналогичного периода рециркуляции показало, что концентрация РНК в ткани печени была ниже на 13% ($p<0,01$), а концентрация ДНК - на 11% ($p<0,02$).

Известно, что в конечном итоге в условиях фтористой интоксикации (3 месяца) развивается тканевая гипоксия. Дополнительное воздействие на этом фоне - ишемия печени, очевидно, усугубляет тяжесть гипоксических повреждений гепатоцитов. Восстановление кровотока в органе приводило к развитию синдрома реперфузии [3], что сопровождалось накоплением промежуточных и токсических продуктов метаболизма углеводов, жиров и белков, нарушение ионного равновесия, накопление в тканях и дыхательной цепи восстановленных переносчиков, "утечкой" митохондриальных ферментов, активацией перекисного окисления липидов. Можно предположить, что более поздняя активация восстановительных процессов в печени при фтористой интоксикации обусловлена как нарушением энергообеспечения репаративных пластических процессов [10], так и непосредственным, как показано в нашем исследовании воздействием на синтез нуклеиновых кислот.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований, установлено, что повышенное поступление фторида натрия в организм приводит к снижению резистентности печени к ишемии. При этом существенно снижается активность восстановительных процессов в этом органе в период восстановления кровотока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А. Патологии флюороза. - Новосибирск: Наука, 1961. - 334с.
2. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Строчкова Л.С. Синтез РНК в различных органах на фоне хронической фторной интоксикаиии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1980, - Т.90, №10, - С. 420-422.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. -М.: Медицина, 1989. - 368с.
4. Георгиев Г.П., Мантьева В.Л. Информационная и рибосомальная рибонуклеиновые кислоты хромосомно-ядрышкового аппарата, методы разделения и нуклеиновый состав // Биохимия. - Т. 27. - С. 949-957.
5. Коростовцева Н.В. Прекращение притока крови к печени и предупреждение его последствий. - Л.: Медицина, 1971. - 158с.
6. Лиознер Л.Д. Регенерация и развитие. - М.: Наука, 1982. - 166с.
7. Саркисов Д.С. Общие закономерности компенсаторно-приспособительных реакций и их структурного обеспечения. Материальные основы надежности биологических систем // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. - М.: Медицина. - С. 36-57.
8. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. - 1958. - Т.23, Вып.5. -С. 656-661.
9. Тиунов Л.А. Биохимические механизмы адаптации и компенсации нарушенных функций при действии на организм химических веществ // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. - М.: Медицина, 1987. - С. 365-381.
10. Тыртышников И.М., Тарасенко Л.М., Костенко А.Г. Механизмы изменения резистентности организма к гипоксии под влиянием фтора // Тез. докл. Всесоюзной конференции. - 1978. - Ивано-Франковск, -С. 128-129.
11. Тиртишніков І.М., Педик В.П. Вплив фториду натрію на енергетичний та білковий метаболізм у печінці

щурів після її експериментальної ішемії // Физиологический журнал. - 1992. - Т.38, №1. -С. 42-46.
12. Цебржинский О.И., Биологическая оценка возможности синтеза фторорганических соединений в организме млекопитающих // Проблеми екології та медицини. - 1997. - Т.1, №1-2. - С. 10-12.
13. Schmidt G., Thannhauser S. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoroproteins in animal tissues // J. Biol. Chem. - 1945. - V.181. -P. 83-39.
14. Stosser L., Heinriche R. F-effect on calcium and phospate contens in femur of the pregnant rats on placenta // Fluorid. -1985. - V.18, № 4. - P. 216-220.

SODIUM FLUORIDE INFLUENCE UPON SYNTHESIS OF NUCLEIC ACIDS IN LIVER OF RATS AFTER ITS EXPERIMENTAL ISHEMIA

Polayanskaya V.P., Zvyagolakaya I.N.

The longivity of introduction of Sodium fluoride into organism of experimental animals determines nonidentical changes of nucleic acid metabolism in hepatic cells during ishemic injuries.

The development of heavy fluoride intoxication in accompanied by clearly expressed lowering of nucleic acid concentration in liver and inhibition of recovering processes in recirculation period.

Ministry Public Health of Ukraine
Ukrainian Medical Stomatological Academy
314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

Матеріал надійшов до редакції 26/III/1998

© О.І. Весельський

УДК 616.831-005:616-001.28

ІОНІЗУЮЧЕ ОПРОМІНЕННЯ І ХРОНІЧНИЙ ДВЗ-СИНДРОМ ПРИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

О.І. Весельський
Україноькйй НДІ клінічної і експериментальної неврології і психіатрії, м. Харків

Глобальні наслідки аварії на Чорнобильській АЕС обумовили нову проблему в клінічній медицині - дослідження впливу малих доз хронічного іонізуючого опромінення (10) на здоров'я людей і захворюваність, зокрема порушення кровообігу мозку [1, 2]. Вивчення цих аспектів є безсумнівно приорітетним і актуальним, оскільки опроміненням постраждали досить великі контингенти людей [3, 4, 5]. Особливе місце при цьому відводиться пошуку нових, чутливих і доступних діагностичних показників, за допомогою котрих можливо виявити незначні пострадіаційні зміни на рівні мікроциркуляторного русла. У хворих з початковими порушеннями кровообігу мозку (ППКМ), що зазнали впливу ІО, спостерігається підвищення тромбоутворення, посилення агрегаційної активності тромбоцитів і еритроцитів, яке може призвести до блокади мікросудин, розвитку гіпоксії та ішемії мозку [6]. Розлади мікроциркуляції в судинному руслі є проявом одного з найбільш частих порушень гемостазу - дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові - ДВЗ-синдром [7, 8]. В залежності від активності і швидкості розвитку він може проявляти домінуючий вплив на перебіг та кінцевий результат захворювання. Лабораторна діагностика цього ускладнення нерідко викликає значні труднощі і потребує дослідження великого числа біохімічних показників. Крім того в практичній діяльності зустрічаються випадки, коли клінічна картина в тій чи іншій мірі відповідає розвитку гострого чи хронічного ДВЗ-синдрому, а типових біохімічних суттєвих змін не спостерігається, і навпаки, коли виявляються типові біохімічні зміни крові, що свідчать про наявність ДВЗ-синдрому, а клінічні його ознаки не досить виражені. Це обумовлює необхідність більш детально розглянути стан мікроциркуляції та визначити її діагностичне значення в розвитку ДВЗ-синдрому при пострадіаційній дисциркуляторній енцефалопатії (ДЕ).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами проведено клініко-мікроциркуляторне обстеження 103 хворих ППКМ (ВСД, ДЕ І, Пст.), що зазнали ІО, вік пацієнтів - 29-55р. Доза радіаційного впливу, згідно даних райвоєнкоматів, була в межах від 5 до 25 бер, в окремих випадках - до 80 бер (достовірних підтверджень не встановлено). Для визначення особливостей перебігу ППКМ і діагностики признаків ДВЗ-синдрому було розроблено спеціальну тематичну карту обстеження хворих. Мікроциркуляцію судинно-бульбарної кон'юнктиви вивчали по методу С.А.Селезньова з співавт. [9]. Біомікроскопію проводили з використанням оптичного блоку мікроскопу МБС-