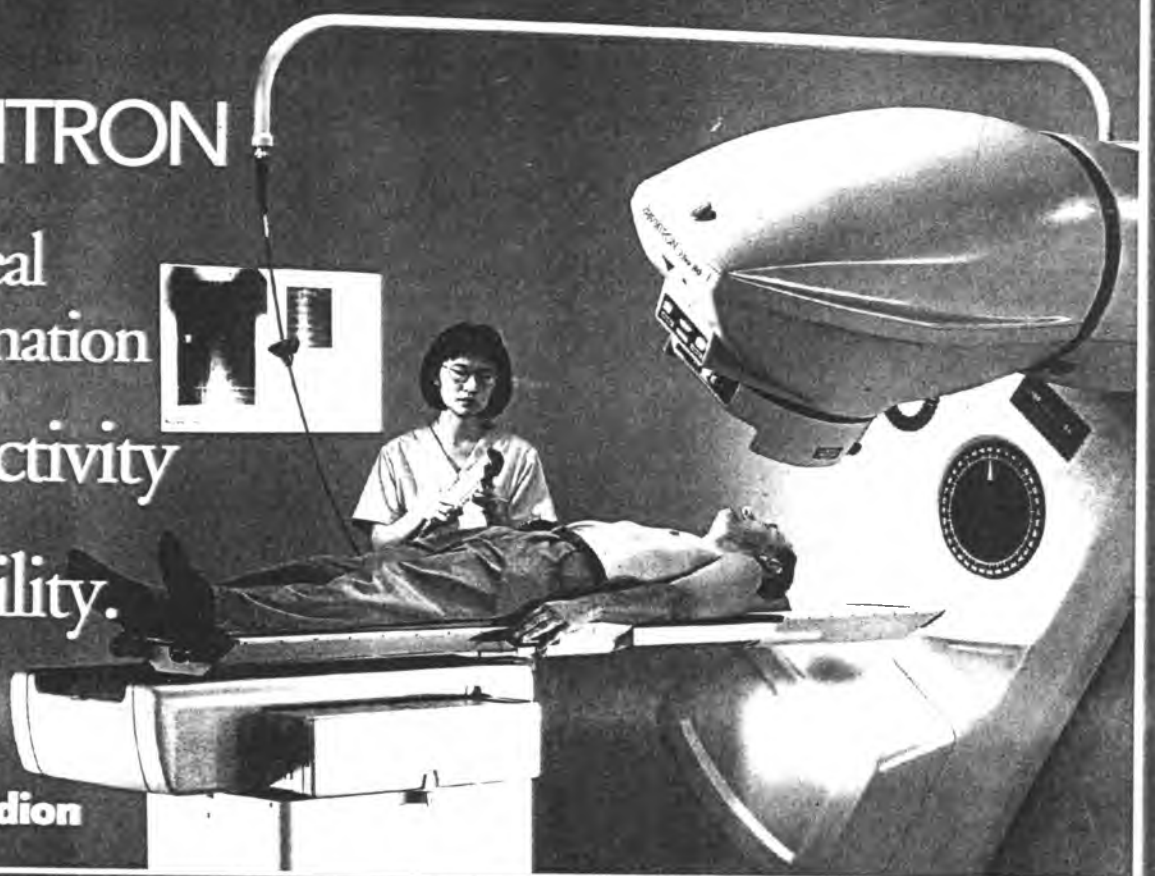


УРЖ Український Радіологічний Журнал

Щоквартальне науково-практичне видання

*THE*RATRON

The Ideal
Combination
of
Productivity
and
Reliability.



MDS Nordion

4|2001



А. Г. Костенко
А. В. Міщенко

Вплив поєднаної хронічної дії підвищених доз натрію фториду та іонізуючого опромінення на антиоксидантний статус та енергетичний обмін у печінці тварин

Українська медична
стоматологічна академія,
м. Полтава

The influence of chronic exposure to increased doses of sodium fluoride and ionizing radiation on antioxidant state and energy metabolism in the liver of animals

Цель работы: Изучение влияния хронической фтористой интоксикации и ионизирующей радиации (ИР) на антиоксидантный статус и энергетический обмен в печени животных.

Материалы и методы: Исследования проведены на 50 белых крысах-самцах линии Вистар. Натрия фторид вводили перорально в суточной дозе 10 мг/кг массы тела. Гамма-облучение воспроизводили кобальтовой пушкой АГАТ-2 в суммарной дозе 7 Гр. Определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА), активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), содержание цАМФ, цГМФ, АТФ, АДФ, РНК, глобулинов и гистонов. Определяли тканевое дыхание по Чансу.

Результаты: У подопытных животных при комбинированном действии натрия фторида и ИР наблюдали увеличение концентрации МДА, снижение активности каталазы и СОД, а также содержания АТФ и АДФ, возрастание концентрации АМФ и неорганического фосфата. Снижался коэффициент эффективности фосфорилирования АДФ/0.

Выводы: Сочетанное воздействие в течение 6 месяцев повышенных доз фтора и многократного массивного ионизирующего облучения приводит к усилению свободнорадикального окисления и ослаблению антиоксидантной защиты по сравнению с эффектом однофакторного повреждения.

Комбинированное действие натрия фторида и ИР снижало содержание макроэргов, цАМФ, РНК, глобулинов и гистонов, дыхательный контроль, потребление кислорода для дыхания при повышении концентрации цГМФ в печени. При этом аддитивные нарушения, возникающие при сочетанном действии, в значительной степени определяются эффектом гамма-облучения. Действие ИР и повышенное поступление натрия фторида вызывает нарушение синтеза РНК, глобулинов и гистонов, снижение концентрации цАМФ в тканях печени, что свидетельствует о метаболических сдвигах в фундаментальных клеточных механизмах.

Ключевые слова: антиоксиданты, перекисное окисление липидов, печень, радиация, натрия фторид, энергетический обмен.

Objective: To study the influence of chronic fluoride intoxication and ionizing radiation on antioxidant state and energy metabolism in the liver of animals.

Materials and Methods: The investigation involved 50 white Wistar male rats. Sodium fluoride was introduced orally in the daily dose 10 mg/kg of the body mass. Gamma-rays were generated with cobalt unit AGAT-2 at a total dose of 7 Gy. Concentration of malonic dialdehyde, catalase activity, superoxide dismutase concentration of cAMP, cGMP, ATP, RNA of globulins and gistons were determined. Tissue respiration was evaluated according to Chance.

Results: In the experimental animals at combined action of sodium fluoride and radiation the growth of malonic dialdehyde concentration, reduction of catalase and superoxide dismutase activity, ATP, ADP amount as well as increase of AMP and inorganic phosphate concentration were observed. The coefficient of effectiveness of phosphorylation (ADP/0) was reduced.

Conclusion: Combined action of increased doses of NaF for 6 months and repeated massive γ -irradiation causes intensification of free radical oxidation and weakening of antioxidant protection.

Combined action of NaF and γ -irradiation reduces the concentration of high-energy compounds (ATP, ADP, creatine phosphate), cAMP, RNA, globulins and gistons as well as control of breathing and oxygen consumption; the concentration of inorganic phosphate in the liver is increased.

γ -irradiation and increased consumption of NaF disturb synthesis of RNA, globulins and gistons, decrease the concentration of cAMP in the liver. All this disturbances are due to the action of γ -irradiation as well as NaF, but the action of γ -irradiation is more pronounced.

Key words: antioxidants, lipid peroxidation, liver, sodium fluoride, radiation, energy metabolism.

Надлишкове надходження фторидів в організм спричиняє різноманітні біохемічні та морфофункціональні порушення [1], в тому числі утворення лімфоцитарних інфільтратів у печінці [2]. Внаслідок хронічного надходження надлишкових доз фторидів до організму (приблизно 10 мг на кг маси тіла) активуються процеси вільнорадикального переки-

ного окиснення (ВПО) в крові за рахунок дихального «вибуху нейтрофілів», що послаблює антиоксидантний захист організму [3]. При цьому порушується енергетичний обмін у печінці [4], незважаючи на те, що фторид-іон не перетворюється на фтороорганічні сполуки [5].

Дія іонізуючої радіації (ИР) пов'язана як із розривом ковалентних зв'язків

біополімерів, так і з радіолізом води, продукти якого ініціюють їх ВПО [6]. Виявлені певні дозозалежні ефекти гамма-опромінення (ГО), які сприяють зміненню рівня ВПО та антиоксидантного захисту [7]. Нині ще не отримано достатньо даних про зміни в енергетичному обміні в клітинах і тканинах після впливу ГО [8].

Дослідження останніх років показали, що ІР, як і будь-який фактор навколишнього середовища, впливає на організм не ізольовано, а в поєднанні з іншими чинниками [9]. Зменшення дозових навантажень ІР підвищує питому вагу впливу факторів іншої природи [10, 11].

Ефект ІР може виявлятися на клітинному рівні внаслідок її взаємодії з багатьма факторами. Наприклад, підвищується чутливість організму до радіації під впливом свинцю, формальдегіду ртуті, кадмію [12].

Ефекти поєднаної дії натрію фториду і ГО досі мало вивчені, хоча ці питання актуальні з огляду на існування контингентів людей, що піддаються хронічній дії підвищених доз фторидів і епізодичній — ГО.

Метою нашої роботи було дослідження поєднаної дії натрію фториду та ІР на стан антиоксидантного статусу й енергетичного обміну в печінці тварин.

Методика дослідження

Дослідження проводили на 50 білих щурах-самцях популяції Вістар масою 180–200 г. Тварин розподілили на 4 групи: I група — контрольна (11 щурів); II — отримувала протягом 6 міс. перорально водний розчин натрію фториду в добовій дозі 10 мг на кг маси тіла (15 щурів); III — підлягала фракціонованому зовнішньому гамма-опромінюванню (LD 70/30) на апараті АГАТ-2 у сумарній дозі 7 Гр протягом 3 днів — 2,5; 2,5; 2 Гр (10 щурів); IV — отримувала натрію фторид протягом 6 місяців і наприкінці — ГО у зазначених дозах (14 щурів). Через 7 днів після закінчення експерименту під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) проводили евтаназію тварин шляхом відбору крові з лівого шлуночка серця.

Екстирповану печінку гомогенізували та визначали концентрацію малонового діальдегіду (МДА) до й після півторагодинної інкубації, активність каталази і супероксиддисмутази (СОД) [13–15], вміст цАМФ і цГМФ [16], АТФ, АДФ, АМФ, креатинфосфату, неорганічного фосфату [17–20], а також сумарний вміст РНК, глобулінів та гістонів [21]. У суспензії мітохондрій гепатоцитів досліджували споживання кисню в ендogenousму диханні у 3-му та 4-му станах за Чансом, а також при блокуванні ротеноном [22]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно з критерієм Стьюдента.

Таблиця 1 — Стан антиоксидантного статусу печінки щурів при поєднаній дії натрію фториду та ГО ($M \pm m$)
Antioxidant state of the rat liver at combined action of sodium fluoride and gamma-rays ($M = m$)

Показник	Група			
	I (норма)	II (NaF)	III (ГО)	IV (NaF+ ГО)
МДА-0 (мкмоль/кг)	76,4±1,17	99,3±1,25 p<0,01	123,3±2,22 p<0,01	101,7±2,18 p<0,001 p ₁ <0,01
МДА-1,5 (мкмоль/кг)	82,4±1,34	112,6±1,71 p<0,02	146,8±2,28 p<0,001	134,6±2,25 p<0,001 p ₁ <0,01
Приріст МДА (мкмоль/кг, %)	6,0±0,39 (7,8)	13,3±0,26 p<0,01 (13,3)	23,5±0,85 p<0,01 (19,0)	32,9±0,97 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01 (32,3)
Каталаза (ум. од.)	7,85±0,12	4,25±0,20 p<0,01	3,73±0,15 p ₁ <0,01	1,58±0,15 p<0,001 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01
СОД (ум. од.)	1,42±0,14	2,04±0,18 p<0,01	2,38±0,20 p<0,01	2,29±0,52 p<0,01

Примітка. Тут і далі: p — показник вірогідності відмінності результатів відносно I групи дослідів; p₁ — показник вірогідності відмінності результатів II групи відносно I групи дослідів; p₂ — показник вірогідності відмінності результатів III групи відносно I групи дослідів.

Результати та їх обговорення

Після 6 міс. дії підвищених доз натрію фториду в печінці тварин відзначалося збільшення концентрації МДА-0 та МДА-1,5, приросту МДА впродовж інкубації, зростання активності СОД при зменшенні активності каталази, що вказувало на зниження рівня антиоксидантного захисту (табл. 1). Концентрація АТФ, АДФ і кре-

атинфосфату в печінці була зниженою, а АМФ і неорганічного фосфату — підвищеною (табл. 2). У мітохондріях печінки спостерігали зниження дихального контролю. Підвищення концентрації цАМФ у печінці призводило до збільшення коефіцієнта відношення цАМФ/цГМФ.

Через 7 днів після триразового гамма-опроміювання в печінці спостерігалось підсилення процесів пероксидації та по-

Таблиця 2 — Стан енергетичного обміну в печінці щурів при поєднанні дії натрію фториду та ГО ($M \neq m$)
The state of energy metabolism in the rat liver at combined action of sodium fluoride and gamma-rays ($M \neq m$)

Показник	Група			
	I (норма)	II (NaF)	III (ГО)	IV (NaF+ ГО)
АТФ (мкмоль/г)	2,14±0,07	1,21±0,02 p<0,001	1,47±0,01 p<0,01	0,79±0,02 p<0,001 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01
АДФ (мкмоль/г)	1,24±0,09	1,12±0,03	0,96±0,07 p<0,001	0,81±0,02 p<0,01 p ₁ <0,02
АМФ (мкмоль/г)	0,71±0,04	0,98±0,04 p<0,01	0,51±0,02 p<0,01	0,58±0,03 p<0,05 p ₁ <0,02
Креатинфосфат (мкмоль/г)	1,05±0,05	0,63±0,01 p<0,01	0,70±0,03 p<0,01	0,47±0,01 p<0,01 p ₁ <0,01
Неорганічний фосфор (мкмоль/г)	6,25±0,18	8,41±0,25 p<0,01	7,87±0,17 p<0,03	9,28±0,25 p<0,01 p ₁ <0,02 p ₂ <0,01

Таблиця 3 — Функціональний стан мітохондрій печінки щурів при поєднанні дії фториду натрію та ГО ($M = m$)

Functional state of mitochondria of the rat liver at combined action of sodium fluoride and gamma rays ($M = m$)

Показник	Група			
	I (норма)	II (NaF)	III (ГО)	IV (NaF+ ГО)
Ендогенне дихання (нмоль O ₂ /хв на 1 г тканини)	765±164	568±175 p<0,01	487±45 p<0,01	405±47 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
Дихання з 1 мкМ ротенону (нмоль O ₂ /хв на 1 г тканини)	218±17	168±33	179±16 p ₁ <0,05	157±30 p<0,01
Стан 3 (нмоль O ₂ /хв на 1 г тканини)	3357±197	3501±195	2904±249 p<0,05	3006±301 p<0,01
Стан 4 (нмоль O ₂ /хв на 1 г тканини)	1438±89	1303±76	1287±100 p ₁ <0,05	1207±88 p<0,05 p ₁ <0,05
Дихальний контроль	2,33±0,05	2,73±0,04 p<0,05	2,26±0,02 p<0,05	2,49±0,03 p<0,01 p ₁ <0,05
Коефіцієнт АДФ/0 (нмоль АДФ/натом/0)	2,32±0,02	2,03±0,22 p<0,05	1,98±0,06 p<0,05 p ₁ <0,05	1,77±0,05 p<0,01 p ₁ <0,05

слаблення антиоксидантного захисту. Зміни вмісту макроергів у печінці після впливу ГО були схожими з такими при гіперфторозі за винятком значень концентрації АМФ. Дані, що характеризують функціональний стан мітохондрій печінки щурів при поєднанні дії натрію фториду і ГО, наведені в табл. 3.

У мітохондріях печінки відзначалося зниження дихального контролю та коефіцієнта фосфорилування (АОФ/0). На відміну від ефектів гіперфторозу внаслідок гамма-опромінювання в печінці знижувалася концентрація РНК та цАМФ при підвищенні вмісту цГМФ. Ймовірно, що відбувалося порушення транскрипції та підсилення розпаду РНК, що може бути пов'язаним з активацією кальцієвого каскаду, компонентом якого є цГМФ (табл. 4).

При поєднаній дії натрію фториду та ГО виявились яскравіші зміни антиоксидантного статусу в печінці порівняно з окремою дією ушкоджувальних факторів. Різке збільшення приросту МДА протягом інкубації свідчило про виснаження антиоксидантного захисту, яке підси-

лювалося продукцією перекису водню внаслідок індукування активності СОД при різкому зниженні активності каталази. Порівняно з II та III гр. у печінці достовірно знижувалася концентрація АТФ, АДФ, креатинофосфату та підвищувався вміст неорганічного фосфату. В мітохондріях печінки відзначалося деяке зниження, порівняно з контролем, ендогенного дихання та дихання, блокованого ротеноном, що перешкоджає окисненню субстратів. Зниження рівня дихального контролю та коефіцієнта фосфорилування (АДФ/0), ймовірно, пов'язано з недостатністю АДФ.

Унаслідок поєднаної дії натрію фториду та ІР у печінці знижувалася концентрація цГМФ відносно значень, характерних для III гр. (дія ГО).

Видається, що перекисна деструкція мембран та вільнорадикальне ушкодження ДНК призводить до зниження сумарної РНК, підсилення витрат АТФ для репарації ДНК та мембран, у чому може виявлятися анаболічний ефект кальцієвої месенджерної системи, що відбивалося у процесі синтезу білка.

Таблиця 4 — Вміст РНК, білків і циклічних нуклеотидів у печінці щурів при поєднаній дії натрію фториду та ГО (M≠m)
RNA, protein and cyclic nucleotides amount in the rat liver at combined action of sodium fluoride and gamma-rays (M≠m)

Показник	Група			
	I (норма)	II (NaF)	III (ГО)	IV (NaF+ ГО)
РНК (імп/хв на мг)	25843±3832	16976±1157 p<0,01	14611±1443 p<0,01	10915±1118 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
Глобуліни (імп/хв на мг білка)	198±39	145±27 p<0,05	135±28 p<0,05	108±21 p<0,01 p ₁ <0,01
Гістони (імп/хв на мг білка)	227±9,2	177±9,8 p<0,01	169±8,5 p<0,05	147±2,2 p<0,02 p ₁ <0,03
цАМФ (нмоль/г)	625±42	848±48 p<0,02	406±30 p<0,01	485±35 p<0,05 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
цГМФ (нмоль/г)	36±12	29±9	49±28 p<0,03	40±10 p ₁ <0,03
цАМФ/цГМФ	17,2	30,2	8,6	12,1

Висновки

1. Поєднання дії надлишкових доз фтору (10 мг/кг) протягом 6 міс. та фракціонованого ІВ (LD 70/30) призводить до підсилення вільнорадикального окиснення та послаблення антиоксидантного захисту порівняно з дією однофакторного ушкодження.

2. Іонізувальна радіація, надлишкове надходження натрію фториду та їх комбінована дія спричиняє зниження вмісту макроергів, цАМФ, РНК, глобулінів, гістонів, а також дихального контролю в тканинах печінки, що свідчить про метаболічні зсуви у фундаментальних клітинних механізмах.

3. Порушення, які виникають при поєднанні дії ІР та натрію фториду хоча і є адитивними, втім великою мірою визначаються ефектом гамма-опроміювання.

Література

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. *Микроэлементы человека*. — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
2. Токарь В.И., Жаворонков А.А., Щербаков С.В. *Фтор и эндокринная система*. — Новосибирск: Наука, 1991. — 120 с.
3. Цебржинский О.И. // *Матер. наук.-практ. конф. «Фтор. Проблемы экологии, биологии, медицины, гигиены»*. — Полтава, 1993. — С. 99-101.
4. Костенко А.Г. // *Там же*. — 1993 — С. 64-65.
5. Цебржинский О. И. // *Пробл. екол. та мед.* — 1997. — Т. 1, № 2. — С. 10-12.
6. Тимофеев Ресовский Н.В., Савич А.В., Шальков М.И. *Введение в молекулярную радиобиологию*. — М.: Медицина, 1981. — 320 с.
7. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмельевський Ю. В. // *Укр. біохім. журн.* — 1994. — Т. 66, № 3. — С. 3-16.
8. Барабой В. А., Олійник С. А., Хмельевський Ю. В. // *Там же*. — Т. 66, № 4. — С. 3-18.
9. Ярмоненко С. П. *Радиобиология человека и животных*. — М.: Высш. шк., 1988. — 424 с.
10. Василенко И. Я. // *Воен.-мед. журн.* — 1982. — № 1. — С. 33-36.
11. Василенко И. Я. // *Мед. радиол.* — 1984. — Т. 29, № 7. — С. 70-76.
12. Добровольский Л.А. // *Врач. дело*. — 1981. — № 2. — С. 11-16.
13. Владимиров В.А., Арчаков А.В. *Перекисное окисление липидов в биогенных мембранах*. — М., 1972. — 126 с.
14. Архипова О.Г. *Методы исследования в профпатологии*. — М.: Медицина, 1988. — 207 с.
15. Брусков О.О., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. — 1976. — № 1. — С. 33-35.
16. Stenner A.Z. // *Advances in cyclic nucleotide research*. Raven Press. — 1972. — Vol. 2, № 5. — P. 51-62.
17. Beutler E. *Methods of enzymatic analysis*. — New York, 1975. — Vol. 1. — 565 p.
18. Taworek D., Gruber W., Bergmeyer H.V. *Adenosin-5-di und adenosin-5-monophosphat* // *In: Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen analyse, Wienteim.* 1974. — Bd. 2. — S. 2178-2181.
19. Северин Е.С., Кочеткова М.Н. *Роль фосфорилирования в регуляции клеточной активности*. — М.: Наука, 1985. — 287 с.
20. Сенин Е.Ф. *Основы биохимии мышц*. — К.: КГУ, 1960. — 181 с.
21. Георгиев Г.П., Мантьева В.П. // *Биохим.* — 1962. — Т. 27. — С. 949-957.
22. Chance B., Williams G.R. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 271, № 1. — P. 383-395.

Дата надходження: 17.10.2001.

Адреса для листування:
Костенко Алла Геннадіївна,
вул. Шевченка, 12, кв. 9, Полтава, 36024, Україна