

ПРЕДИКТИВНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОНИКАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ 5% РАСТВОРА ГЛЮКОЗЫ В ИНСУЛИНОЗАВИСИМЫЕ КЛЕТКИ ОРГАНОВ МЫШЕЙ, ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ.

Д.А. Костромина¹, Р.М. Гарайшин¹, А.А. Измайлов²

¹ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

² Республиканский клинический онкологический диспансер г.Уфа

Контакты: Костромина Дарья Александровна, e-mail:darriol@mail.ru.

Аннотация. В статье отражены результаты экспериментального исследования воздействия ионизирующей радиации на органы животных 30 интактных разнополых мышей BALB/c, по 15 особей каждого пола. Возраст животных составил от 2-х до 3-х месяцев. Масса тела от 18 до 22 грамм.

Ключевые слова: Ионизирующая радиация, гликолиз, гистологическое строение.

The article reflects the results of an experimental study of the effect of ionizing radiation on the organs of animals of 30 intact opposite-sex BALB / c mice, 15 individuals of each sex. The age of the animals ranged from 2 to 3 months. Body weight from 18 to 22 grams.

Key words: Ionizing radiation, glycolysis, histological structure.

Актуальность. Усвоение глюкозы из окружающей среды основной массой клеток, кроме клеток головного мозга и эритроцитов [1,2,4] происходит под воздействием инсулина и внутриклеточных белков переносчиков (ГЛЮТ 1, ГЛЮТ 2, ГЛЮТ 3, остальные работают в энтероцитах и клетках печени против градиента концентрации) [5]. Вышеперечисленные белки переносчики работают на уровне двух слоев липидной мембраны инсулинозависимых клеток.

Цель исследования. Изучить проникающую способность 5% раствора глюкозы в поврежденные инсулинозависимые ткани организма, под воздействием различных доз ионизирующей радиации.

Гипотеза: Одним из последствий радиоактивного облучения, является окислительная деградация липидных слоев оболочки клеток, под действием свободных радикалов (ПОЛ)[6]. Так как в крови присутствует определенный уровень глюкозы, можно предположить усиление повреждения клеток под воздействием избыточного количества глюкозы проникающей в клетки не только с помощью белков переносчиков, но и через поврежденные радиацией мембраны клеток.

Так как полное окисление 1 моля глюкозы, дает возможность синтезировать до 38 молей АТФ при аэробном гликолизе и 2 моля АТФ при анаэробном гликолизе, можно предположить, что переход поврежденных клеток на анаэробный гликолиз [3,5,7] вынужден, и является защитной реакцией клеток от гликозилирования избыточным количеством глюкозы внутриклеточных структур.

Материалы и методы. Исследование проведено на клинической базе БГМУ-кафедре онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии с курсами ИДПО. С целью изучения результатов применения ионизирующей радиации в исследование было включено 30 интактных разнополых мышей BALB/c, по 15 особей каждого пола. Возраст животных составил от 2-х до 3-х месяцев. Масса тела от 18 до 22 грамм.

С целью оценки повреждающего действия ионизирующей радиации использовались инсулинозависимые органы: почки, селезенка, легкие, сердце. Забой животных проводился под воздействием паров эфира, через 10 минут после начала наркоза. Органы отмывались от крови в 0,9% растворе NaCl.

Животные были разделены на 3 группы. Первую группу составили органы 10 мышей получившую дозу ионизирующей радиации 1Гр. Вторую группу составили органы 10

мышей получившую дозу ионизирующей радиации 2 Гр. Третью группу составили органы 10 мышей получившую дозу ионизирующей радиации 3Гр соответственно. Для сравнения, в качестве контроля, использовались органы интактных мышей.

В качестве питательной среды для органов, для каждой группы использовался 5% - 5,0 мл. раствор глюкозы (Рис.1).

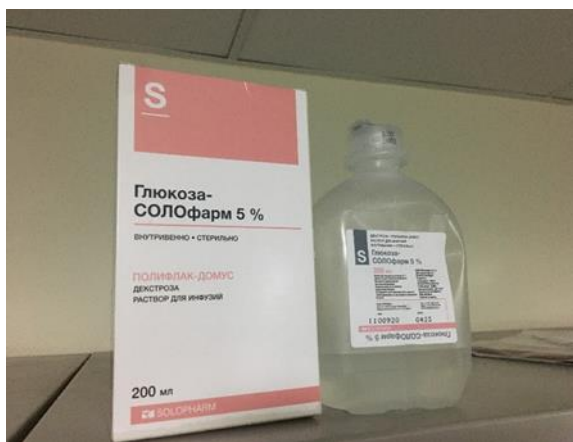


Рис. 1 Стерильный 5% раствор глюкозы.

Для гистологического исследования были взяты те-же органы животных поврежденные и неповрежденные ионизирующей радиацией. После соответствующей гистологической проводки и изготовления срезов толщиной 7 мкм, срезы окрашивались гематоксилин – эозином. Всего приготовлены 75 микропрепаратов.

Облучение органов проводилось на аппарате ионизирующей радиации (Рис 2.)



Рис.2 Рентгенотерапевтический аппарат Xstrahl 200

Для анализа уровня глюкозы в питательной среде использовался лабораторный анализатор (Рис.3).



Рис.3 Лабораторный анализатор – Olympus AU 480.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы «MS Excel» с определением достоверности различий (p).

Результаты и обсуждение. В зависимости от дозы облучения групп органов нами была выявлена прямая зависимость снижения содержания остаточной глюкозы в питательной среде через 6 часов после облучения. И обратно пропорциональная зависимость содержания глюкозы через 24 часа после облучения (Таблица 1).

Таблица 1

Изменения показателей содержания глюкозы в растворе 5% глюкозы в зависимости от дозы облучения и времени после облучения

Время после облучения	Группы животных x Balb/c	Уровень глюкозы в питательной среде (ммоль/л)															Корреляционная связь
		Доза облучения 1 Гр.					Доза облучения 2 Гр.					Доза облучения 3 Гр.					
6 часов	опытная	35	25	25	30	50	40	20	25	25	25	50	45	35	30	30	p<0,05
	контрольная	50	50,5	45	40	70	45	50	45	40	70	135	55	40	40	35	p<0,05
24 часа	опытная	55,5	60	50	45	40	40	45	65	55,5	50	55,5	50	40	50	55	p<0,05
	контрольная	55,5	55	45,5	40	45	35,5	45,5	60,5	55,5	50,5	55,5	55	40	45	60	p>0,05

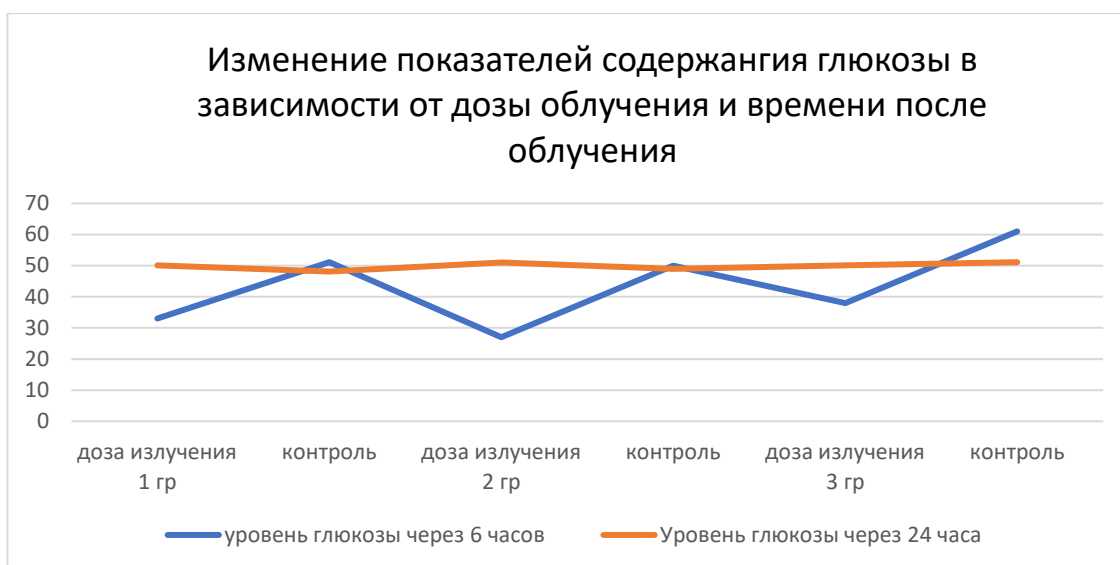


Рис. 4 Изменение уровня глюкозы в питательной среде через 6 и 24 часа в зависимости от дозы излучения.

Рассматривая гистологические препараты нами выявлено более интенсивное окрашивание гематоксилин-эозином во всех группах облученных органов по сравнению с контролем.

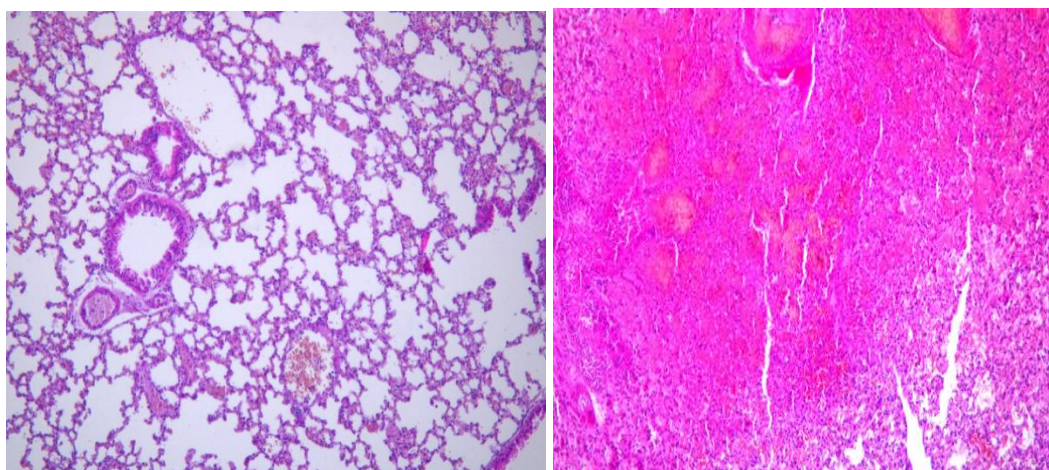


Рис. 5 Слева интактные легкие. Справа облучённые легкие дозой 1 Гр.

Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой -1 Гр. гистоструктура легких имеет ряд изменений. Это касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии. В просвете альвеол отмечаются явления воспалительного характера (рис. 5). Вместе с тем, альвеолоциты легких не подвергаются деструктивным изменениям, структура как секреторных, так и респираторных также не изменена.

У животных, облученных дозой -1 Гр. гистоструктура почки имеет ряд изменений. Это касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии. В просвете отдельных канальцев или группы канальцев содержатся цилиндры белково-углеводного характера, в зоне расположения цилиндров просвет канальцев расширен (рис.6) Вместе с тем, эпителиальные клетки почечных канальцев не подвергаются деструктивным изменениям, структура базальной мембраны эпителиоцитов также не изменена.

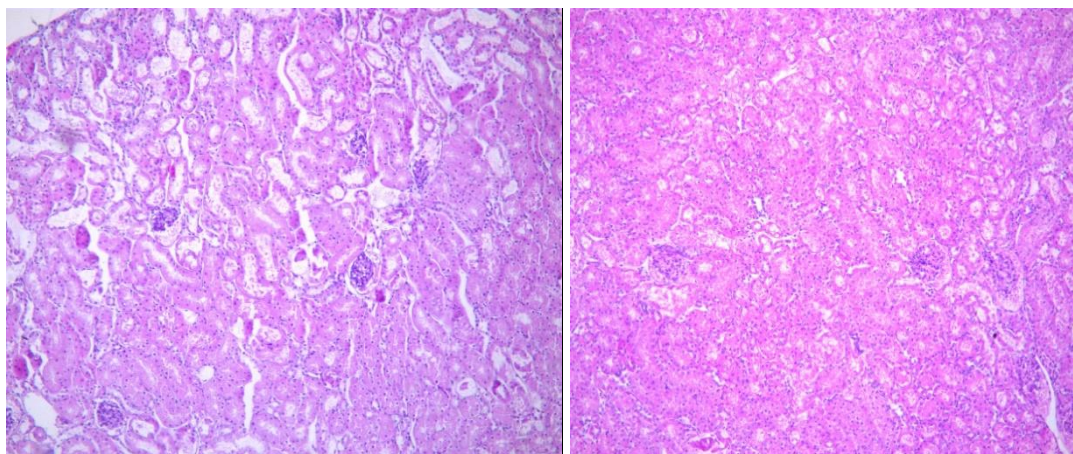


Рис.6 Слева интактная почка. Справа почка, облученная дозой 1 Гр. Выраженная венозная гиперемия и белково-углеводные компоненты (цилиндры) в почечных канальцах у животных, облученных дозой в 1 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

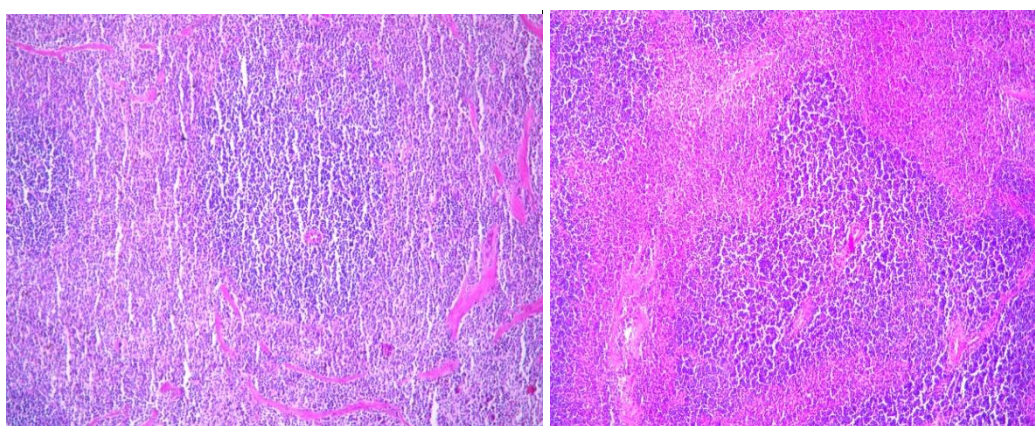


Рис.7 Слева интактная селезенка. Справа селезенка, облученная дозой 1 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой -1 Гр. в селезёнке гистоструктура также неравномерная, то есть в белой пульпе слабая, в красной пульпе в целом реакция умеренная, наблюдается более интенсивное прокрашивание гематоксилин-эозином (рис. 7).

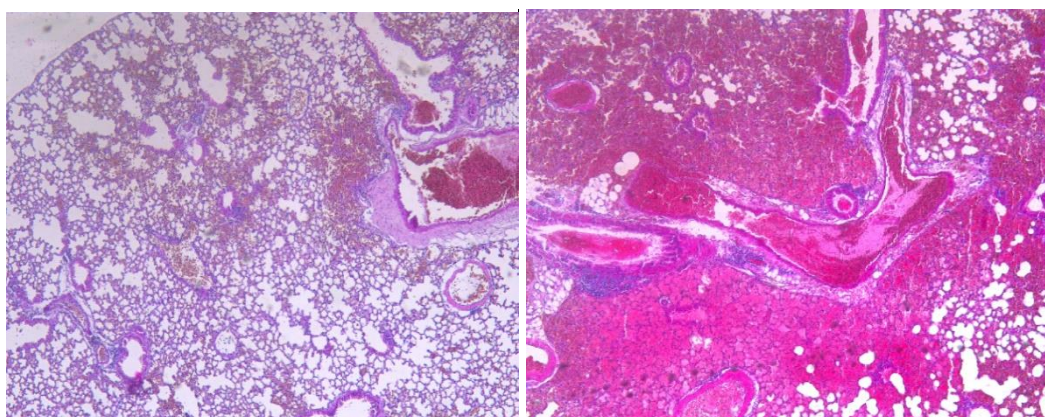


Рис.8 Слева интактные легкие. Справа облучённые легкие дозой 2 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой - 2 Гр. гистоструктура легких так же имеет ряд изменений, как и органов животных, облученных дозой в 1 Гр. Это касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии. В просвете альвеол отмечаются явления воспалительного характера (рис.8). Более насыщенное

прокрашивание гематоксилин –эозином по сравнению с группой контроля. Альвеолоциты легких не подвергаются деструктивным изменениям, структура секреторных и респираторных альвеолоцитов также не изменена.

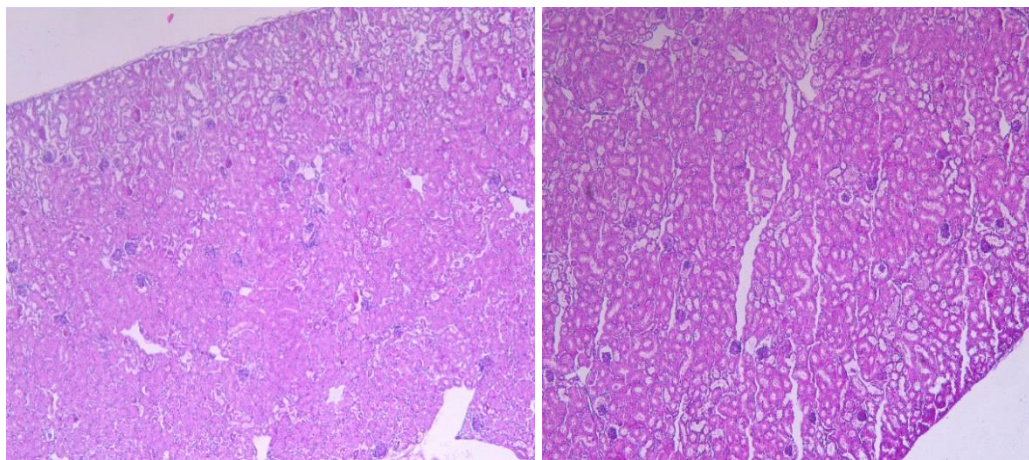


Рис 9. Слева интактная почка. Справа почка, облученная дозой 2 Гр.

Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой -2 Гр. гистоструктура почки так же имеет ряд изменений, как и у животных, облученных дозой в 1 гр. Это касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии (рис.9). Вместе с тем, эпителиальные клетки почечных канальцев не подвергаются деструктивным изменениям, структура базальной мембраны эпителиоцитов не изменена.

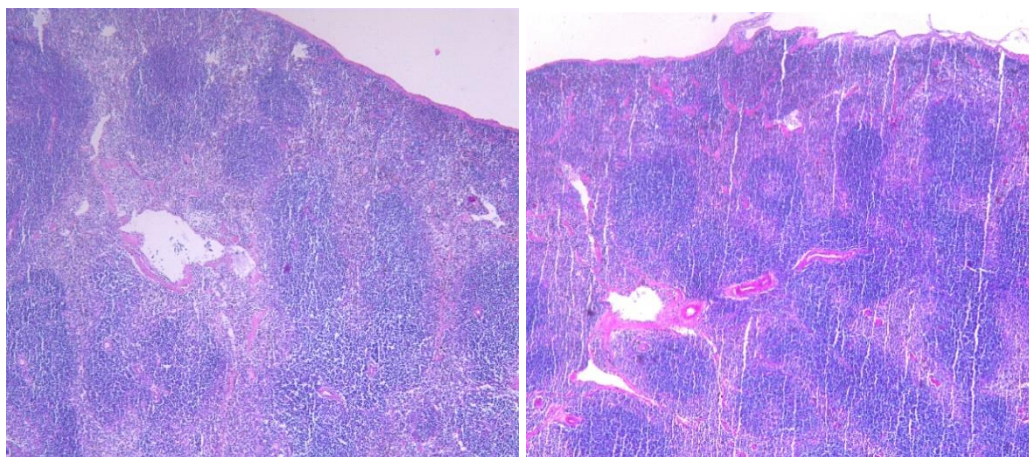


Рис 10. Слева интактная селезенка. Справа селезенка, облученная дозой 2 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой -2 Гр. в селезёнке гистоструктура также неравномерная, как и в группах, облученных дозой в 1 гр. соответственно, то есть в белой пульпе слабая, в красной пульпе в целом реакция умеренная, наблюдается более интенсивное прокрашивание гематоксилин-эозином (рис. 10).

У животных, облученных дозой 2 гр. так же наблюдается усиление интенсивности окрашивания кардиомиоцитов гематоксилин — эозином как в группе животных, облученных дозой в 1 гр. Выраженных деструктивных изменений в клетках сердечной мышцы не выявлено (рис.11).

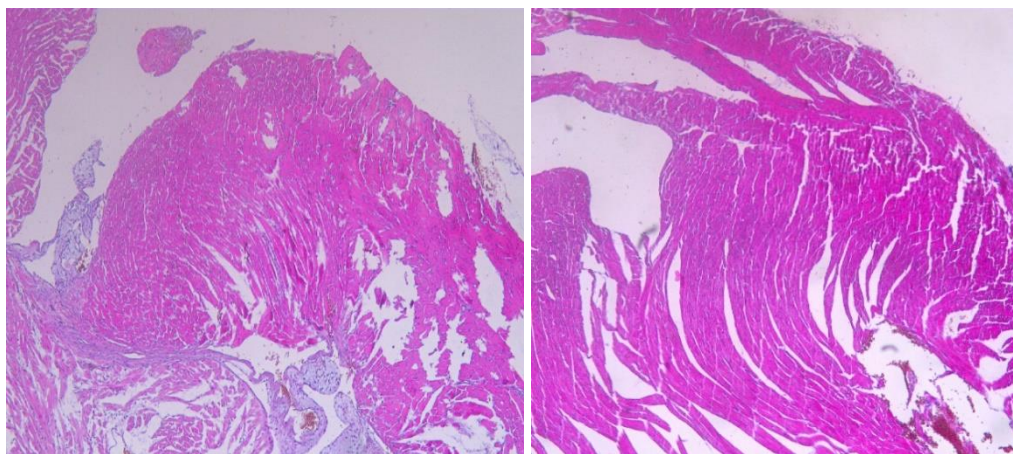


Рис. 11. Слева intactная ткань сердечной мышцы. Справа ткань сердечной мышцы, облученная дозой 2 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x200

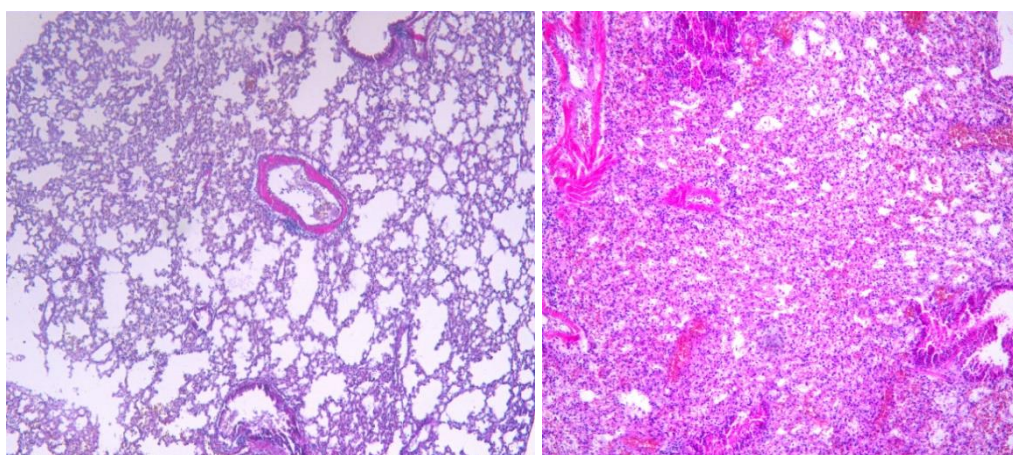


Рис. 12. Слева intactные легкие. Справа облучённые легкие дозой 3 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

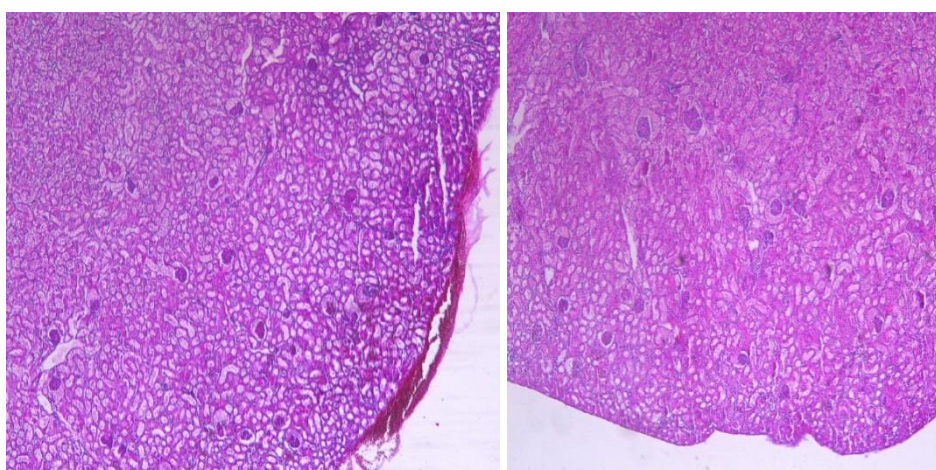


Рис. 13. Слева intactная почка. Справа почка, облученная дозой 3 Гр.

Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой - 3 Гр. гистоструктура легких так же имеет ряд изменений, как и органов животных, облученных дозой в 1 и 2 Гр. Соответственно. Это так же касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии, диапедезного кровоизлияния в окружающие ткани. В просвете альвеол отмечают явления воспалительного характера (рис.12). Более насыщенное прокрашивание гематоксилин —

эозином по сравнению с группой контроля. Альвеолоциты легких не подвергаются деструктивным изменениям, структура секреторных и респираторных альвеолоцитов также не изменена.

У животных, облученных дозой -3 Гр. гистоструктура почки так же имеет ряд изменений, как и у животных, облученных дозой в 1 и 2 гр. Соответственно. Это касается нарушений кровообращения, проявляющихся в виде венозной гиперемии (рис.13). Вместе с тем, эпителиальные клетки почечных канальцев не подвергаются деструктивным изменениям, структура базальной мембраны эпителиоцитов не изменена.

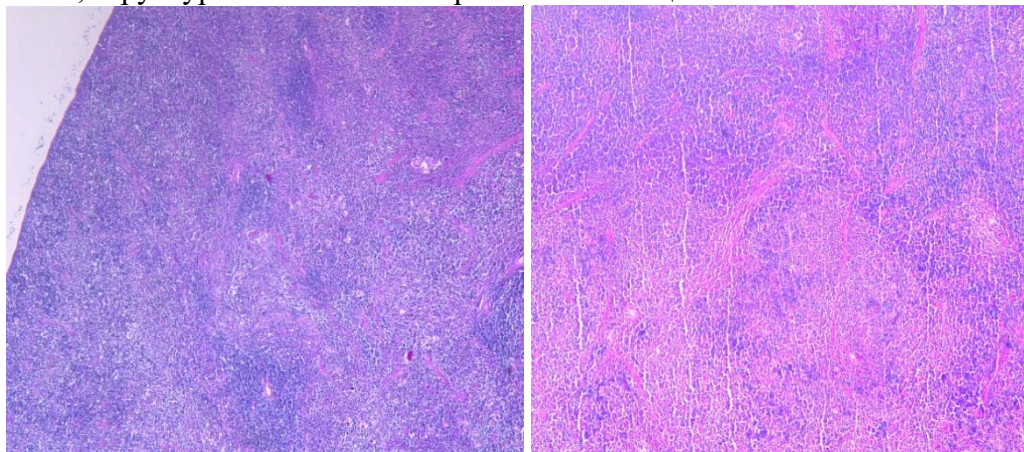


Рис. 14. Интактная селезенка. Справа селезенка, облученная дозой 3 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x100

У животных, облученных дозой -3 Гр. в селезенке гистоструктура также неравномерная, как и в группах, облученных дозой в 1 и 2 гр. соответственно, то есть в белой пульпе слабая, в красной пульпе в целом реакция умеренная, наблюдается более интенсивное прокрашивание гематоксилин-эозином (рис.14).

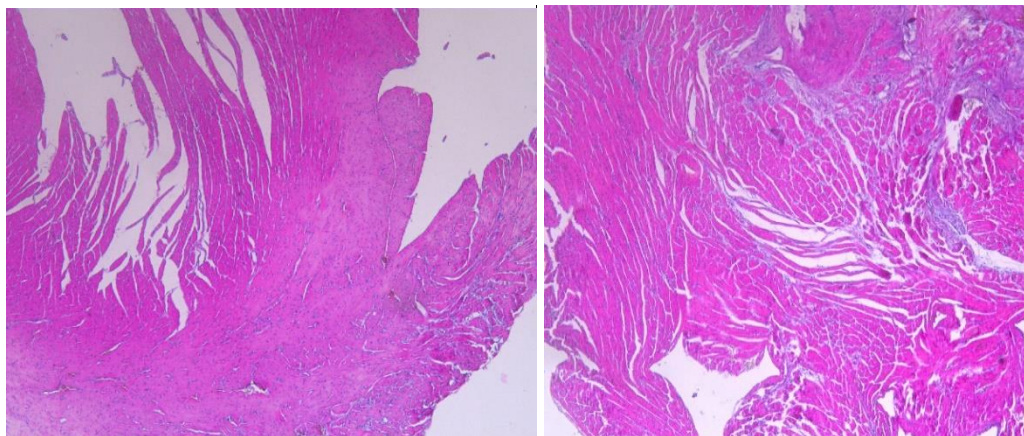


Рис. 15. Слева интактная ткань сердечной мышцы. Справа ткань сердечной мышцы, облученная дозой 3 Гр. Окраска гематоксилин — эозином, x10

У животных, облученных дозой 3 гр. так же наблюдается усиление интенсивности окрашивания кардиомиоцитов гематоксилин — эозином как в группе животных, облученных дозой в 1 и 2 гр. соответственно. Отмечается разрыхление мышечных волокон. Выраженных деструктивных изменений в самих клетках сердечной мышцы не выявлено (рис.15).

Результаты и обсуждение. В зависимости от дозы облучения групп органов нами была выявлена прямая зависимость снижения содержания остаточной глюкозы в питательной среде через 6 часов после облучения. И обратно пропорциональная зависимость содержания глюкозы через 24 часа после облучения

1. Наиболее сильная проникающая способность 5% глюкозы наблюдается при облучении дозой радиации-2 Гр.
2. Под воздействием ионизирующей радиации, клетки мишени более интенсивно окрашивались гематоксилин- эозином, чем интактные ткани, вне зависимости от дозы облучения.

Заключение. Таким образом, проведенное In vitro исследование отражает, как изменение уровня содержания остаточной глюкозы в питательной среде, без активного участия белков переносчиков глюкозы и инсулина, так и внутриклеточные изменения под воздействием на клетки органов животных повреждающих факторов ионизирующей радиации. Данные процессы в тканях можно соотнести и с процессами, происходящими в макро организме, где всегда есть определенный уровень глюкозы так и любые другие повреждающие факторы, встречающихся в повседневной жизни, такие как биологические (вирусы, бактерии), химические, термические и т.д. Данный механизм повреждающего воздействия избыточным количеством глюкозы может быть пусковым в канцерогенезе.

Литература

1. Долгова В.В. Клиническая лабораторная диагностика: учебник / Под ред. В.В. Долгова, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования». – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2016 – 668 с. ISBN 978-5-7249-2608-9
2. Кофтун Л.А. Лабораторная верификация клеточного повреждения головного мозга с помощью определения белков крови при легких черепно-мозговых травмах. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. С Пб – 2021. –142 с.
3. Терентьев А.А. Биохимия мышечной ткани: учебное пособие / А.А. Терентьев. М.: ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2019. —76 с.
4. Емельянов В.В. Биохимия : [учеб. пособие] / В. В. Емельянов, Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2016 – 132 с.
5. David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of biochemistry. — Fifth edition. — New York: W. H. Freeman and company, 2008. — 1158 p.
6. Halperin E.C., Wazer D.E., Perez C.A., Brady L.W. Principles and Practice of Radiation Oncology // Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.- 2013.- P.7-11.
7. Henry R.J., Chiamori N., Berkman S. Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase // Amer. J. Clin. Pathol. 1960. V. 34. P. 381–387.

УДК:575:191:616:056.7:616.853-071

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ СИНДРОМА МАРТИНА-БЕЛЛА

Туйчибаева Нодира Мираталиевна ^{1,a}, Алимходжаева Фарогат Рустамовна ^{2,b},
Губайдулина Камила Равильевна ^{3,c}, Ганиев Бобур Бахтиёр угли ^{4,d}, Расулова
Ирода Тубли кизи ^{5,e}