

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ НАРУШЕНИЕМ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
И РАЗВИТИЕМ ВОСПАЛЕНИЯ В ТОНКОЙ КИШКЕ
КРЫС ПОСЛЕ ВНЕШНЕГО ОБЛУЧЕНИЯ**

Мышковац Н.С.¹, Петренёв Д.Р.², Бабенко А.С.³, Алексейко Л.Н.¹

¹Гомельский государственный медицинский университет,
г. Гомель, Республика Беларусь

²Институт радиобиологии НАН Беларуси,
г. Гомель, Республика Беларусь

³Республиканский научно-практический центр "Кардиология",
г. Минск, Республика Беларусь

**THE RELATIONSHIP BETWEEN THE DISRUPTION OF ENERGY PROCESSES AND
THE DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY REACTIONS IN THE SMALL INTESTINE
OF RATS AFTER EXTERNAL IRRADIATION**

Myshkavets N.S.¹, Petrenyov D.R.¹, Babenka A.S.², Alekseiko L.N.³

¹Gomel State Medical University,
Gomel, Belarus

²Institute of Radiobiology,
Gomel, Belarus

³Republican Scientific and Practical Center "Cardiology",
Minsk, Belarus
jasjan@mail.ru

Abstract. In an experiment on rats, the state of mitochondrial respiration of small intestine tissue after exposure to a single gamma radiation dose of 1 Gy was studied by polarographic method. The total metabolic activity of cells for the reduction of tetrazolium salts (MTT test) was evaluated for the biochemical determination of phagocyte infiltration. The relationship between disturbances of energy processes in the intestinal tissue and the development of inflammatory reactions in the early stages after external irradiation has been revealed.

Иммунный статус напрямую связан с нормальным функционированием кишечника. Баланс между микрофлорой и клетками иммунной системы, локализованными в слизистой оболочке кишечника, определяет реактивность организма. Большинство патологических состояний кишечника связано с нарушением этого баланса и развитием воспаления. Важнейшим этапом развития подобных состояний является привлечение клеток иммунной системы и формирование воспалительного очага. В норме подобные реакции разрешаются в течение нескольких суток, однако при хронизации процесса могут наступать необратимые изменения внутриклеточного и тканевого метаболизма, что ассоциировано с рядом заболеваний и увеличением рисков возникновения опухолей. Поддержание нормальной функции эпителиального кишечного барьера во многом зависит от метаболических и сигнальных путей, контролируемых митохондриями. Наиболее важными в данном контексте считаются энергетическая функция митохондрий, выраженная в продукции необходимого количества АТФ, а также способность митохондрий продуцировать активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА). АФК и АФА, а также гидролитические ферменты, выделяемые активированными фагоцитами, становятся ведущими патогенетическими и биохимическими факторами в развитии воспаления. Дополнительным фактором, подтверждающим взаимосвязь между митохондриями, кишечным барьером и воспалением, является процесс апоптоза, который контролируется митохондриями и запускается при действии негативных факторов, в том числе, внешним облучением ионизирующим излучением.

Целью исследования было оценить связь между энергетической функцией и воспалением в кишечнике на 3, 10, 30 и 60 сутки после однократного внешнего облучения ионизирующим излучением.

Материал и методы: использовали 2 группы лабораторных крыс (самцов в возрасте 4 месяца), которых однократно облучали на установке "ИГУР-1", источник ^{137}Cs , мощность дозы 0,92 Гр/мин. Животные контрольной и облучённой в дозе 1 Гр групп выводили из эксперимента на 3, 10, 30 и 60 сутки после облучения мгновенной декапитацией. Фрагменты тонкой кишки промывали, выворачивали наизнанку и помещали в охлаждённый раствор Хенкса. Изучение параметров тканевого дыхания проводили полярографическим методом на устройстве "Record-4" (РФ) в ячейке объёмом 2 мл закрытым платиновым электродом Кларка при 25 °С. Для биохимического определения инфильтрации фагоцитов применяли метод определения суммарной метаболической активности клеток по восстановлению солей тетразолия (МТТ-тест). Статистически результаты обрабатывали с использованием непараметрических критериев (программа GraphPad Prism 4).

Результаты и выводы: установлен высокий уровень дыхательной активности фрагментов слизистой оболочки тонкой кишки контрольной группы животных, которая составила $10,08 \pm 2,07$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка. В ранние сроки после облучения выявлено угнетение дыхательной активности на эндогенных и экзогенных субстратах с последующей активацией изучаемых параметров на 10 сутки после облучения, при этом показатель эндогенного дыхания возрастал до $14,87 \pm 3,84$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка. Вероятно, это связано с увеличением кровоснабжения и оксигенации кишечника из-за усиления репаративных процессов в указанные после облучения сроки. На 30 сутки отмечается повторное снижение интегрального показателя ($V_{\text{энд}} = 9,13 \pm 1,25$ нмоль $\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка) с последующей тенденцией к увеличению на 60 сутки после облучения, а также существенные изменения параметров митохондриального окисления в тканях кишечника на экзогенных субстратах и при введении разобщителя 2,4-динитрофенола. Восстановление популяции клеток ворсинок тонкой кишки происходит за счёт неповреждённых стволовых клеток кишечных крипт. Ответной реакцией на ионизирующее излучение является задержка митозов в клетках кишечных крипт в ранние сроки и апоптоз энтероцитов ворсинок, с последующей элиминацией, что соответствует наблюдаемым нарушениям энергетических процессов в слизистой оболочке тонкой кишки.

В контрольных образцах коэффициент стимуляции был близок к единице ($0,9946 \pm 0,1380$, $M \pm SD$), а в опытных наблюдали изменение этого показателя в различные сроки после облучения. В ранние сроки (3 сутки) наблюдали увеличение инфильтрации лейкоцитами и увеличение коэффициента стимуляции ($1,102 \pm 0,1122$). Очевидно, этот эффект напрямую связан с массовой гибелью клеток и привлечением фагоцитов для утилизации некротических и апоптотических тел. На 10 сутки наблюдали нормализацию этого показателя, так коэффициент стимуляции был даже ниже контрольных значений ($0,9309 \pm 0,1656$), что может свидетельствовать о высокой чувствительности восстанавливающихся тканей в этот период. Повторное нарастание показателя фиксировали в отдалённые сроки после облучения. Коэффициент стимуляции на 30 и 60 сутки составил $1,047 \pm 0,1389$ и $1,106 \pm 0,1228$ соответственно. При этом в первичных культурах перитонеальных макрофагов регистрировали повышенные уровни базальной продукции АФА и АФК, что свидетельствует об активации этих клеток. Сопоставляя эти результаты с полученными данными о наличии инфильтрации фагоцитов в тканях кишечника, можно предположить, что на этом этапе развивается вторичное поражение тканей за счёт усиления эндогенной продукции свободных радикалов.

Очевидно, что нарушение энергетической функции митохондрий приводит к снижению выработки АТФ и способствует развитию воспаления в слизистой оболочке кишечника, а также увеличению проницаемости эпителия для бактерий. Низкий уровень АТФ замедляет способность кишечного эпителия к самообновлению, что влияет на интенсивность регенерации тканей после облучения. Между энергетической функцией и воспалением в тканях кишечника существует взаимосвязь, которая подтверждается экспериментально в ранние сроки после облучения, однако наблюдаемые отдалённые эффекты требуют дальнейшего детального изучения.