

**ОСОБЛИВОСТІ ПЕРОКСИДАЗНОЇ АКТИВНОСТІ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА РІЗНИХ ДОЗ ТА РЕЖИМІВ ОПРОМІНЕННЯ****Ю. П. Гриневич¹, І. П. Дрозд², Я. І. Серкіз¹, С. В. Телецька¹, В. І. Ісаєнко¹**¹ *Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ*² *Український інститут досліджень навколишнього середовища і ресурсів при РНБО, Київ*

Вивчено особливості пероксидазної активності крові білих нелінійних щурів-самців методом хемілюмінесценції за різних доз та режимів опромінення: зовнішнього тривалого опромінення гамма-квантами ⁶⁰Co в сумарній дозі 0,73 Гр, внутрішнього тривалого опромінення ¹³⁷Cs в сумарній дозі 0,22 Гр, зовнішнього одноразового опромінення ⁶⁰Co в дозах 3,5 і 9,0 Гр та швидкими нейтронами (E = 6 MeV) в дозах 1,5 і 5,0 Гр. Виявлено коливальний характер змін хемілюмінесцентних показників крові та їх залежність від величини дози радіації. Найбільш характерні відхилення від контролю реєструються на першу - четверту добу від початку опромінення як у великих, так і малих дозах. Показано, що зовнішнє та внутрішнє опромінення у малих дозах викликає протилежно направлені зміни як інтенсивності, так і світлосуми свічення впродовж першого місяця спостереження. Різноманітність хемілюмінесцентних показників крові на ранніх етапах радіаційного впливу є характерною також і для нейтронного опромінення в дозі 1,5 Гр.

Однією з актуальних проблем сучасної радіобіології є дослідження біологічних ефектів дії іонізуючих випромінювань різної якості в широкому діапазоні доз, визначення особливостей радіогенних функціональних порушень у біологічних системах, виявлення загальних та відмінних ознак у механізмі дії. Важливим патогенетичним ланцюгом розвитку променевої патології є перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), яке для інтактних клітин є фізіологічно необхідним процесом, але вийшовши з-під контролю регулюючих систем за дії радіаційного чинника починає виконувати ушкоджувальну функцію. Ініціювання вільнорадикальних процесів, пов'язаних з ПОЛ, у мембранах клітин викликає ушкодження більшості біологічних структур: розриви ДНК, окиснення SH-груп, зшивки поліпептидних ланцюгів у білках, інактивацію ферментів, полімеризацію вуглеводів тощо. Порушення функціональної погодженості системи ПОЛ призводять до структурних змін у ліпід-білкових комплексах та ферментних системах, зміни мікрров'язкості мембран і, очевидно, до їх функціональних порушень [1 - 3], що у свою чергу може обумовити злякисне переродження клітин. Захист клітини від ушкоджуючої дії ПОЛ здійснюють ферментні системи, антиоксиданти та антиокисна активність ліпідів (АОА), тобто здатність останніх пригнічувати окисні процеси. Система "ПОЛ - ліпіди - антиокисний захист" є основною в регуляції клітинного метаболізму й дуже чутливою до дії різних екзо- та ендогенних чинників, особливо радіаційного [4 - 7].

Серед важливих проблем радіобіології як в області великих, так і малих доз є виявлення ступеню причетності біологічних ефектів, що проявляються через систему ПОЛ, до дії радіаційного фактора та пізнання механізму радіогенних ушкоджень, обумовлених як тривалим надходженням радіонуклідів до організму, так і його хронічним зовнішнім й одноразовим опроміненням. Узагальнення результатів таких досліджень ускладнюється недостатньою кількістю даних з питань, що стосуються ефектів порівняльного впливу радіаційних чинників різної природи в широкому діапазоні доз та оцінки ефективності їх дії за виявленими змінами окремих ланок регуляції ПОЛ при різних режимах та способах опромінення тварин.

Метою роботи є визначення особливостей ферментативної (пероксидазної) активності регуляції ПОЛ за одноразового зовнішнього та тривалого зовнішнього і внутрішнього опромінення тварин у різних дозах рідко- та щільноіонізуючого випромінювання.

Матеріали та методи

Загальна пероксидазна активність крові білих безпородних щурів-самців визначалась за методом хемілюмінесценції (ХЛ) [8]. Тварин опромінювали в різних режимах і дозах: зовнішнє тривале гамма-опромінення ^{60}Co в сумарній дозі 0,73 Гр; внутрішнє тривале опромінення ^{137}Cs при пероральному його надходженні до організму в сумарній дозі 0,22 Гр; зовнішнє одноразове опромінення ^{60}Co в дозах 3,5 і 9,0 Гр та нейтронами в дозах 1,5, і 5,0 Гр.

Досліди з одноразового впливу великих доз радіації проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 180 ± 20 г. Одноразове зовнішнє опромінення швидкими нейтронами ($E_{\text{ср}} = 6$ MeV) здійснювали в спеціально виготовлених пеналах з органічного скла тотально двома зустрічними полями на медико-біологічному комплексі (МБК) циклотрона У-120. Потужність дози складала 0,2 Гр/хв. Контроль доз здійснювали за допомогою клінічного дозиметра VA-J-12 зі сферичною камерою VAK-253 та сірчаними активаційними детекторами, що фіксувалися в центрі зовнішньої поверхні пеналів з двох протилежних сторін. Було використано 230 щурів-самців, розподілених на три групи: перша група (120 тварин) опромінювалася у дозі 1,5 Гр, друга - у дозі 5,0 Гр (40 тварин), третя - контроль (70 тварин).

Другу частину тварин (три групи по 15 щурів-самців у кожній) опромінювали тотально одноразово гамма-квантами ^{60}Co в дозах 3,5 і 9,0 Гр при потужності дози 2,95 - 3,5 сГр/хв у пеналах з органічного скла. Четверта група була інтактним контролем (10 тварин).

Дослідження впливу малих доз проводили на трьох групах щурів-самців масою 180 ± 20 г. Перша група (40 тварин) опромінювалася точковим джерелом ^{60}Co з потужністю дози $5,06 \cdot 10^{-8}$ Гр/хв. Другій групі (36 тварин) щоденно дозовано індивідуально вводили перорально розчин хлористого ^{137}Cs активністю 15 кБк/добу впродовж 45 діб. Третя група (45 тварин) була інтактним контролем. Динаміку накопичення дози за вказаних варіантів опромінення наведено на рис. 1.

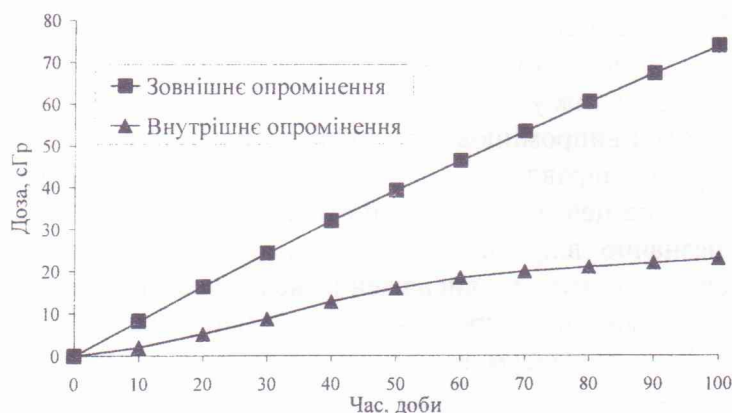


Рис. 1. Динаміка формування поглинутої дози за тривалого зовнішнього опромінення тварин гамма-квантами ^{60}Co та надходження до організму радіонуклідів ^{137}Cs .

Використані в роботі види випромінювання та режими опромінення тварин дають змогу виконати порівняльну оцінку ефективності їх впливу як за тривалістю експозиції, так і залежно від щільності випромінювання.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакета прикладних програм MS Exsel 2000.

Результати експериментів та їх обговорення

Зовнішнє разове гамма-опромінення тварин ^{60}Co викликає однонаправлені зміни пероксидазної активності крові за всіх величин дози радіації (рис. 2). Максимальні значення інтенсивності свічення крові у всіх опромінених груп тварин спостерігаються в перші дві доби від початку опромінення, поступово зменшуючись до четвертої та восьмої при дозах

3,5 та 9,0 Гр відповідно. Як відомо, наслідком порушення рівноваги в системі “вільнорадикальні процеси - біоантиоксиданти” є інтенсифікація вільнорадикального окислення, що є пусковим механізмом для розвитку злоякісних новоутворень та інших патологічних процесів, що призводять до скорочення тривалості життя [2, 3, 9].

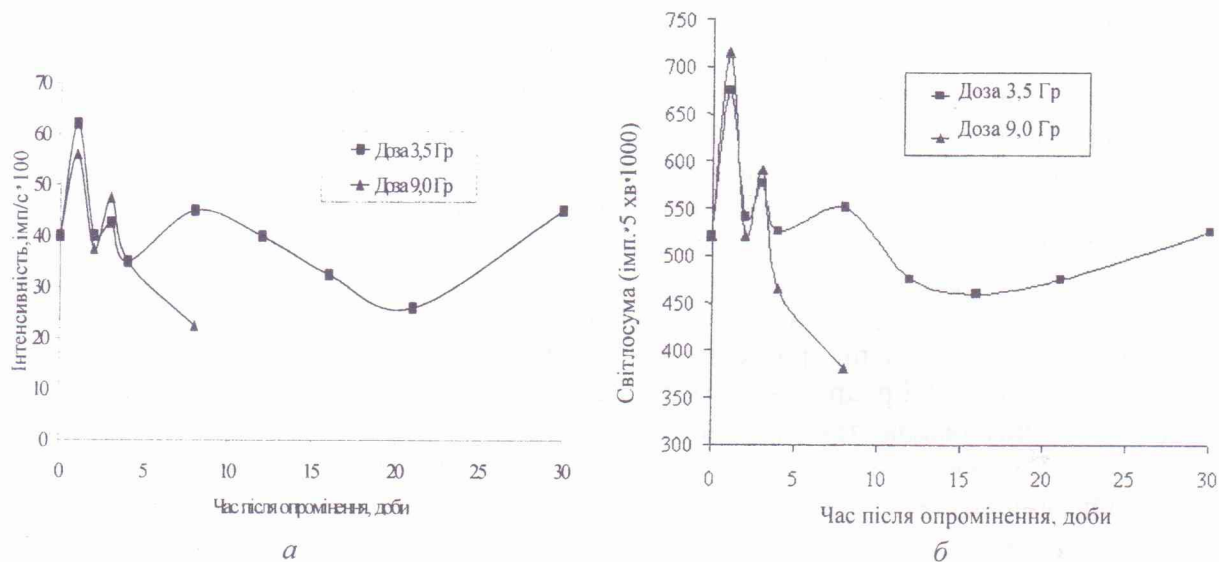


Рис. 2. Інтенсивність (а) та світлосума (б) свічення крові за разового тотального опромінення гамма-квантами щурів ^{60}Co в дозах 3,5 і 9,0 Гр.

Перше підвищення пероксидазної активності крові можна розглядати як мобілізацію компенсаторно-захисних реакцій організму, зокрема в його окисно-відновному гомеостазі. У наступні терміни спостережень (до 30 діб) не виявлено суттєвих коливань рівня як інтенсивності, так і світлосуми свічення. Проте слід зазначити, що в групі тварин, опромінених у дозі 3,5 Гр, пероксидазна активність крові починала відновлюватись вже на шосту - восьму добу, тоді як у групі тварин, опромінених у дозі 9,0 Гр, вона була в цей період майже вдвічі меншою, ніж у контролі.

На відміну від гамма-випромінювання дія на організм нейтронного випромінювання в дозі 1,5 Гр викликає різнонаправлені зміни інтенсивності свічення та його світлосуми на другу добу (рис. 3). Так, на цей час інтенсивність свічення досягає максимальних значень, тоді як світлосума незначно відрізняється від контрольних даних. У подальшому фаза стимуляції змінюється пригніченням: виснаження компенсаторних процесів призводить до наростання патологічних змін, що й проявляється в більш різкому зменшенні інтенсивності свічення порівняно з його світлосумою, які на 14-ту добу досягають своїх мінімальних значень. Починаючи з цього часу, пероксидазна активність крові поступово відновлюється з наближенням до значень контролю на 30-ту добу. У той же час зміни інтенсивності та світлосуми свічення крові тварин, опромінених у дозі 5,0 Гр, є однонаправленими й монотонно зменшуються від початку опромінення до моменту їх загибелі майже вдвічі (2,1 рази – інтенсивність свічення, 1,7 рази – світлосума).

Тривале тотальне опромінення тварин гамма-квантами ^{60}Co в сумарній дозі 0,73 Гр обумовлює коливальний однонаправлений характер змін максимальної інтенсивності свічення (рис. 4, а) та його світлосуми (рис. 4, б) упродовж 100 діб спостереження. Динаміка цих змін є стабільною, для неї характерні незначні зміни екстремальних амплітуд хемілюмінесцентних показників із невеликими періодами коливань. Підвищена пероксидазна активність крові порівняно з контрольним рівнем відмічалась на першу та 70-ту доби, а її зменшення – на 30-ту та 100-ту. Слід відзначити, що зміни світлосуми є менш вираженими, ніж інтенсивності свічення.

Внутрішнє тривале опромінення ^{137}Cs спричиняє однонаправлені екстремальні зміни пероксидазної активності крові впродовж перших 10 діб спостережень. Через одну добу від початку опромінення в даній групі тварин незначно зменшується як інтенсивність свічення

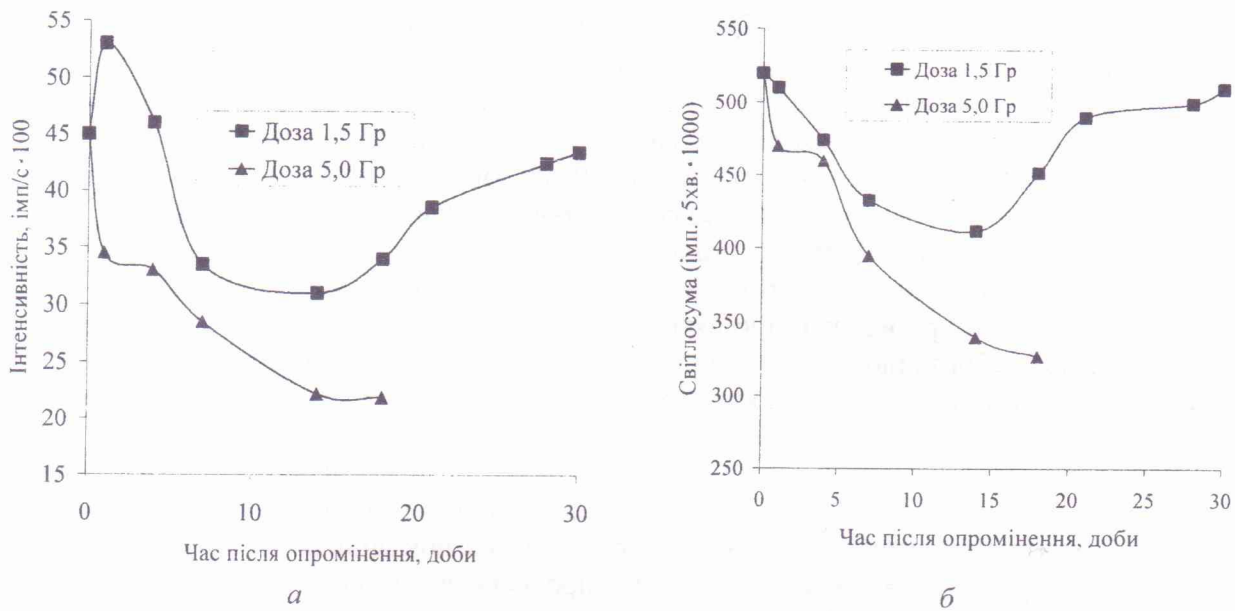


Рис. 3. Інтенсивність (а) та світлосума (б) свічення крові за разового тотального опромінення щурів нейтронами ($E_{cp} = 6 \text{ MeV}$) у дозах 1,5 і 5,0 Гр.

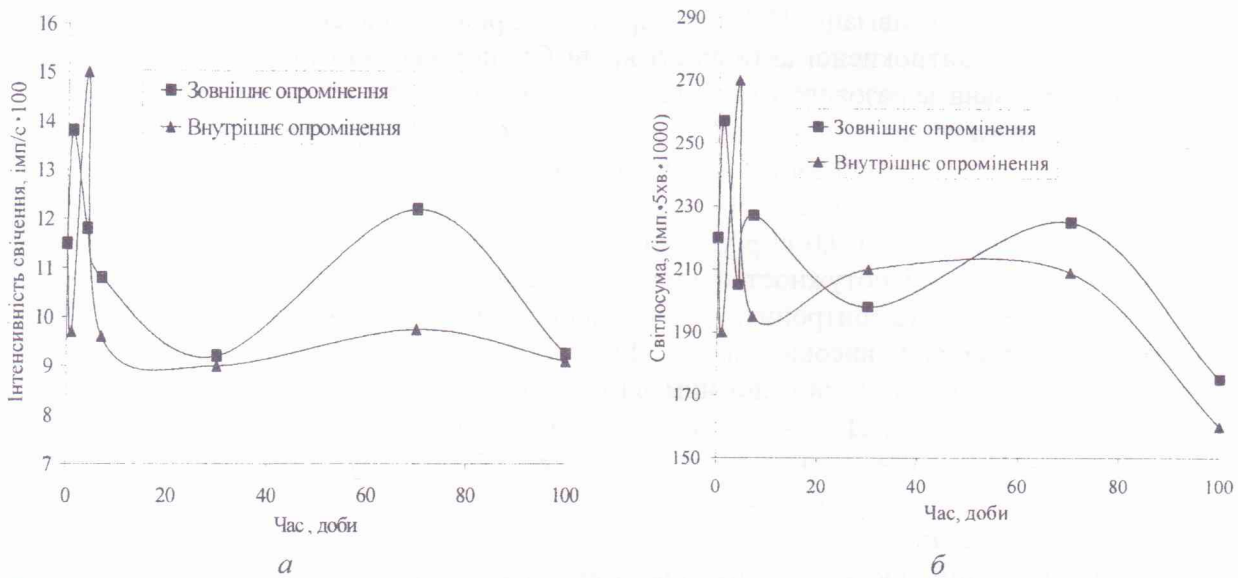


Рис. 4. Інтенсивність (а) та світлосума (б) свічення крові за тривалого зовнішнього опромінення щурів гамма-квантами ^{60}Co та внутрішнього (надходження до організму радіонуклідів ^{137}Cs) опромінення. Дозовий супровід подано на рис. 1. На осі абсцис – час від початку експозиції.

крові (див. рис. 4, а), так і світлосуми (див. рис. 4, б) порівняно з вихідними показниками. На четверту добу рівень свічення зростає в 1,24 рази з наступним монотонним зменшенням на 30-ту. Друге незначне підвищення пероксидазної активності крові відмічалось на 70-ту добу, але його значення було меншим від нижньої межі норми. Цікавим є той факт, що на 30-ту та 100-ту добу спостереження кількісні значення пероксидазної активності крові майже не відрізнялися і були приблизно в 1,2 рази меншими порівняно з вихідними даними. Після восьмої - десятої доби спостереження інтенсивності свічення та світлосума характеризуються протифазністю. На відміну від інтенсивності свічення світлосума в цей період практично не змінюється й знаходиться поблизу нижньої межі норми до 70-ї доби. У подальшому (до 100 діб) пероксидазна активність крові тварин зменшується в 1,4 рази порівняно з вихідними даними.

Отже, тривале внутрішнє опромінення тварин за рахунок радіонуклідів ^{137}Cs впливає на пероксидазну активність крові таким чином, що характер радіогенних змін її показників на ранньому етапі радіаційного впливу є подібним результатам дії щільноіонізуючого випромінювання (швидкі нейтрони, доза 5,0 Гр).

Аналіз змін ХЛ пероксидазного окиснення крові та показників ХЛ плазми тварин за одноразової та тривалої дії малих доз радіації з низькою інтенсивністю вказує на тривалу інтенсифікацію вільнорадикального окиснення. Розвиток його характеризується істотною варіабельністю значень параметрів ХЛ відповіді крові, можливо менш інтенсивною, ніж за одноразового опромінення [9]. Варто зазначити, що в ранні терміни після одноразового та тривалого опромінення тварин зареєстровано істотні фазні зміни ХЛ відповіді крові. Коливальний їх характер свідчить про активізацію захисних сил організму, спрямовану на вирівнювання та стабілізацію окисно-відновного гомеостазу, на що вказує зміна каталазної, супероксиддисмутазної, глутатіонпероксидазної [9, 10] та пероксидазної активностей крові.

Отримані результати дали змогу зробити висновок про те, що досліджувані ХЛ показники є досить чутливими і вже на першу добу після радіаційного впливу дають інформацію про наявність біохімічних порушень у ланцюзі первинних фізико-хімічних реакцій, викликаних опроміненням. Особливістю змін цих показників є їх фазний характер, що відображає порушення окисно-відновних процесів в організмі за дії іонізуючого випромінювання. Параметри фазного процесу залежать від виду радіації, режиму опромінення та величини поглинутої дози.

Зменшення амплітуди інтенсивності свічення цільної крові тварин відразу після гамма-опромінення в дозах 5,16 і 15,48 Кл/кг виявлено також іншими дослідниками [11], а хвилеподібна реакція активізації ПОЛ у сироватці крові з паралельним хвилеподібним зниженням загальної антиокисної активності крові без нормалізації цих показників до 20-ї доби [12] зареєстрована за разового тотального опромінення щурів у дозі 4 Гр.

Однотипний характер змін антиоксидантного захисту встановлено за тривалого знаходження щурів у 30-кілометровій зоні ЧАЕС і в людей, які мешкають у зоні відчуження [13].

Однотипність змін показників ПОЛ виявлено за умов дії гамма-радіації в дозі 15 сГр з потужностями доз 0,01, 0,02 і 9,0 сГр/хв у органах і крові мишей [14]. Найбільші їх зміни зареєстровано при низькій потужності випромінювання (0,01 сГр/хв), при цьому величина змін АОА мозку, печінки та еритроцитів крові відповідає масштабності змін цього показника за гострого опромінення у високих дозах. Для гострого опромінення в сублетальних та летальних дозах було встановлено, що чим важче променеве ураження, тим більш значне зменшення АОА ліпідів [3]. Це дає змогу припустити, що опромінення в малих дозах при низьких потужностях може здійснювати сильніший або такий же вплив, як і гостре опромінення у великих дозах при високих інтенсивностях випромінювання, що підтверджується оберненою залежністю між інтенсивністю процесів ПОЛ і потужністю дози [15]. Відсутність нормалізації досліджуваних показників ПОЛ через місяць після опромінення [14], а також співставність величини змін АОА ліпідів органів й еритроцитів крові за опромінення тварин у малих і великих дозах свідчать як про чутливість параметрів ПОЛ до дії радіації, так і про суттєвий вплив малих доз на систему його регуляції. Відсутність монотонності змін антиокисної активності ліпідів і кількості продуктів ПОЛ залежно від потужності дози, а в крові тварин і більш значних змін параметрів перекисного окислення ліпідів після дії випромінювання з потужністю дози 0,01 сГр/хв порівняно з гострим у малій дозі у свою чергу підтверджують велику вразливість мембран за низькопотужного випромінювання. Звертає на себе увагу й той факт, що зміни антиокисної активності ліпідів мозку, печінки, еритроцитів у крові при опроміненні тварин у дозі 15 сГр і після впливу летальних і сублетальних доз однонаправлені за величиною й характером [15 - 17].

Результати власних досліджень, представлених у роботі, вказують на коливальний характер змін ХЛ показників крові і його залежність від величини дози радіації (див. рис. 2 - 4). Найбільш характерні відхилення від вихідних показників та контролю реєструється на

першу - четверту добу від початку впливу як малих, так і великих доз радіації. При цьому характер змін пероксидазної активності крові (за максимальною інтенсивністю свічення) за дії малих доз внутрішнього опромінення аналогічний дії 6 MeV нейтронів у дозі 1,5 Гр. Зовнішнє та внутрішнє опромінення тварин у малих дозах викликає протилежно направлені зміни як інтенсивності, так і світлосуми свічення впродовж першого місяця спостереження. Різноманітність ХЛ показників крові на ранніх етапах радіаційного впливу характерна також і для великих доз зовнішнього нейтронного та гамма-опромінення.

Таким чином, результати виконаних експериментальних досліджень та літературні дані [10, 12 - 18] залишають відкритим питання про "нешкідливість" малих доз радіації для біологічних об'єктів. Імовірно, високий рівень інтенсивності вільнорадикальних реакцій є важливим (а, можливо, і основним) фактором, що збільшує ймовірність малігнізації тканин, зміну метаболізму, виснаження захисно-компенсаторних функцій, а фактор часу в умовах постійного (хронічного) впливу радіації низьких інтенсивностей є визначальним у біологічній дії іонізуючих випромінювань у порівняно малих дозах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов биологических мембран. - М.: Наука, 1972. - 249 с.
2. *Козлов Ю.П.* Свободные радикалы и их роль в нормальных и патологических процессах. - М.: Мир, 1973. - 173 с.
3. *Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М. и др.* Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. - М: Наука, 1975. - 214 с.
4. *Серкиз Я.И.* Оценка биологической эффективности радиационного воздействия в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Докл. АН Украины. - 1992. - № 1. - С. 162 - 170.
5. *Барабой В.А., Орел В.Ч., Карнаух И.М.* Перекисное окисление и радиация. - Киев.: Наук. думка. - 1991. - 256 с.
6. *Мойсеєнко М.І.* Дозозалежність динаміки вмісту складових ліпідів у тканинах тварин після одноразового тотального опромінення гамма-квантами ¹³⁷Cs // Галицький лікарський вісник. - 1996. - Т. 3, № 2. - С. 19 - 22.
7. *Серкіз Б.Я., Петрина Л.Г., Серкіз Я.І.* Динаміка радіогенних змін складових ліпідів та ліпопротеїнів плазми крові, що викликані різними режимами опромінення тварин // Гигиена населенных мест. - 2000. - Вып. 36, ч. 2. - С. 251 - 273.
8. *Sonia de Toledo et al.* Peroxidase and Hydrogen Peroxidase detection by a Bioenergizet Method // Anal. Biochemistry. - 1980. - Vol. 105-1. - P. 162 - 170.
9. *Серкиз Я.И., Пинчук В.Г., Пинчук Л.Б. и др.* Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС. - Киев: Наук. думка, 1992. - 172 с.
10. *Данко І.М., Данко М.Й.* Інтенсивність процесів перекисного окислення та активність ферментів антиоксидантної системи крові тварин, що зазнали тривалого впливу низьких доз радіації // Доп. НАН України. - 1999. - № 8. - С. 149 - 152.
11. *Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., Грудина Н.В.* Хемилюминесцентный метод при обследовании животных, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - Т. 121, № 1. - С. 39 - 40.
12. *Мойбенко А.А., Барабой В.А., Марченко Г.И., Коцюба В.Н.* Перекисное окисление липидов и содержание простаглицина и тромбосана в крови крыс при действии ионизирующей радиации и иммобилизационного стресса // Радиобиол. съезд, Киев, 20 - 25 сент., 1993: Тез. докл., т. 2. - Пушино, 1993. - С. 687 - 688.
13. *Морозкина Т.С., Кухта В.К., Захаревский А.С. и др.* Состояние системы антиоксидантной защиты организма, помещенных в зоны радиоактивного загрязнения // Там же. - С. 689 - 690.
14. *Полякова Н.В., Шишкина Л.Н.* Воздействие γ -радиации разной мощности на процессы перекисного окисления липидов в тканях мышей // Радиаци. биол., радиоэкол. - 1995. - Т. 35, № 2. - С. 181 - 188.
15. *Kale R.K., Sitasawad S.Z.* // Indian J. Exp. Biol. - 1981. - Vol. 29. - P. 778 - 781.

16. Шишкина Л.Н., Полякова Н.В., Таран Ю.П. Анализ параметров системы регуляции перекисного окисления липидов в органах мышей в отдаленные сроки после острого облучения // Радиобиол. радиозкол. - 1994. - Т. 34, вып.3. - С. 362 - 367.
17. Шарыгин В.Л., Шишкина Л.Н., Рождественский Л.Н. и др. Быстрые метаболические изменения в крови и органах крыс под влиянием импульсного излучения электронов в сверхвысоких дозах // Изв. РАН. Сер. биол. - 1994. - № 3. - С. 254 - 270.
18. Нікітченко Ю.В., Романько М.Є., Дзюба В.М., Фукс П.П. Пероксидне окислення ліпідів і його регуляція у крові та печінці щурів за умов експериментального аліментарного радіонуклідного впливу // Укр. біохім. журн. - 2001. - Т. 73, № 5. - С. 43 - 48.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ И РЕЖИМАХ ОБЛУЧЕНИЯ

Ю. П. Гриневич, И. П. Дрозд, Я. И. Серкиз, С. В. Телецкая, В. И. Исаенко

Изучены особенности пероксидазной активности крови белых нелинейных крыс-самцов методом хемилюминесценции при различных дозах и режимах облучения: внешнем длительном гамма-облучении ^{60}Co в суммарной дозе 0,73 Гр, внешнем длительном облучении ^{137}Cs в суммарной дозе 0,22 Гр, внешнем однократном облучении ^{60}Co в дозах 3,5 и 9,0 Гр и быстрыми нейтронами ($E_{\text{cp}} = 6$ Мэв) в дозах 1,5 и 5,0 Гр. Обнаружен колебательный характер изменений хемилюминесцентных показателей крови и их зависимость от величины дозы радиации. Наиболее характерные отклонения от контроля регистрируются на первые - четвертые сутки от начала облучения как при больших, так и малых дозах. Внешнее и внутреннее облучение в малых дозах вызывает противоположно направленные изменения как интенсивности, так и светосуммы свечения на протяжении первого месяца наблюдений. Разнонаправленность хемилюминесцентных показателей крови на ранних этапах радиационного воздействия характерна также для нейтронного облучения в дозе 1,5 Гр.

PECULIARITIES OF THE RAT BLOOD PEROXIDASE ACTIVITY UNDER THE DIFFERENT CONDITIONS OF IRRADIATION

Yu. P. Grynevich, I. P. Drozd, Ya. I. Serkiz, S. V. Teletskaya, V. I. Isaenko

The peculiarities of the white rat of non-bred blood peroxidase activity under the different conditions of irradiation have been investigated using the chemiluminescence method. Conditions of exposure: external protracted gamma-irradiation (^{60}Co , total dose 0.73 Gy); internal protracted irradiation (^{137}Cs , total dose 0,22 Gy); external acute irradiation (^{60}Co , with doses 3.5 and 9.0 Gy); exposure to neutrons (6 MeV, with doses 1,5 and 5,0 Gy). Nonlinear dose dependence of the blood chemiluminescence indices has been detected. The most considerable differences in comparison to control data have been observed 1 - 4 days after the beginning of exposure either high or low doses. External and internal irradiation with low doses causes opposite changes in chemiluminescence intensity during the first month of investigation. The direction variety of chemiluminesced blood indices during the early period of irradiation influence is also typical for the neutron irradiation with dose rate 1,5 Gy.

Надійшла до редакції 05.08.03,
після доопрацювання – 29.12.03.