УДК 559:323.4 : 613.648 : 543.87

ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПЛАЗМИ КРОВІ ЗА РІЗНИХ СПОСОБІВ ЗОВНІШНЬОГО ОПРОМІНЕННЯ ЩУРІВ γ-КВАНТАМИ ^{60}Co

Манучехр Ватанха[1], А. І. Липська[2], Я. І. Серкіз[2]

[1]Науковий центр радіаційної медицини АМН України, Київ
[2]Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ

Досліджено початкові й кінцеві продукти перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові лабораторних щурів після одноразового, фракціонованого та тривалого їх опромінення γ-квантами ^{60}Co. Уперше встановлено, що на різних стадіях розвитку радіаційно-індукованої пероксидації ліпідів мають місце особливості утворення продуктів окиснення. Показано, що за величинами цих показників при рівних поглинених дозах фракціоноване опромінення є менш ефективним, а тривале більш несприятливим для організму, ніж одноразове.

Ключові слова: щури, γ-кванти ^{60}Co, одноразове, фракціоноване і тривале опромінення, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід.

Пероксидне окиснення ліпідів в організмі є фізіологічним процесом і необхідною складовою окисного гомеостазу. Дія будь-яких зовнішніх та внутрішніх чинників призводить до їх інтенсифікації або інгібування. Найбільш об'єктивним критерієм оцінки величини пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є наявність у системі, що вивчається, продуктів окиснення.

Серед основних продуктів ПОЛ визначають первинні та вторинні. Первинні продукти ПОЛ є результатом окиснення полінасичених вищих жирних кислот на стадії утворення та реалізації вільних радикалів [1]. При цьому утворюються кон'юговані подвійні зв'язки – дієнові кон'югати (ДК). Їх поява є сигналом до утворення гідроперекисів [2, 3].

При подальшому переокисненні поліненасичених жирних кислот, що вже мають декілька дієнових зв'язків, утворюється кінцевий продукт ПОЛ – малоновий діальдегід (МДА). МДА ще називають ТБК – активний продукт, який реагує з 2-тіобітуровою кислотою. Другим класом вторинних продуктів ПОЛ є основи Шиффа.

Біохімічні аспекти утворення первинних та вторинних продуктів достатньо вивчені. Але роль їх в системі гомеостазу «склад ліпідів - ПОЛ - АО система захисту» є недостатньо з'ясованою. Особливо це стосується результатів дії радіації різної інтенсивності та тривалості. Зважаючи на складні взаємовідносини комплексу процесів, що розвиваються в результаті дії малих та сублетальних доз радіації і беручи до уваги, що результати досліджень з цих питань на сьогодні є недостатніми, а значить, і дискутивними, є необхідність постановки комплексного експерименту, у межах якого доцільним є вивчення динаміки утворення та перерозподілу продуктів ПОЛ.

Метою даної роботи є дослідження особливостей динаміки та дозових залежностей вмісту продуктів ПОЛ у плазмі крові лабораторних щурів за різних режимів тотального зовнішнього їх опромінення (одноразовому, фракціонованому та тривалому) γ-квантами ^{60}Co.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводили на лабораторних щурах лінії Vistar. Щурів опромінювали γ-квантами ^{60}Co за одноразового тотального зовнішнього опромінення: діапазон поглинених доз $Д_П$ = 10, 50, 100, 300 і 600 сГр при потужності дози 10 сГр · хв$^{-1}$; фракціонованого 50 сГр (5 фракцій) і 100 сГр (10 фракцій) при потужності дози 0,2 сГр · хв$^{-1}$; тривалого 50 і 100 сГр при потужності дози 0,004 сГр · хв$^{-1}$.

Терміни спостереження після закінчення експозиції тварин становили: одноразове опромінення 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 18, 24, 720 год; фракціоноване – 12, 18, 24, 720 год; тривале – 12, 18, 24, 720 год. Об'єктом дослідження була плазма крові (ПК) щурів. Вимірювали первинні продукти ПОЛ – дієнові кон'югати за методом В. Б. Гаврилова [4] та вторинні продукти ПОЛ – малоновий діальдегід за методом І. Д. Стальної [5].

Розраховували швидкість зміни вмісту ДК і МДА у ПК ($V_{МДА}$ і $V_{ДК}$) як приріст продуктів ПОЛ на 1 сГр поглиненої дози радіації.

Результати досліджень опрацьовано методом варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення

У роботі досліджували динаміку радіогенних змін вмісту ДК і МДА у плазмі крові експериментальних щурів та їх дозові залежності за вищеозначених радіаційних навантажень на тварин.

Динаміка порушень ДК у ПК після одноразового тотального опромінення тварин (табл. 1) характеризується зростанням показника безпосередньо після опромінення, сягаючи максимуму, і в подальшому його зниженням. Величина макси-

Таблиця 1. **Динаміка радіогенних змін вмісту ДК в плазмі крові щурів після одноразового тотального опромінення їх γ-квантами ^{60}Co. Контроль: 0,69 ± 0,05 ммоль·л$^{-1}$**

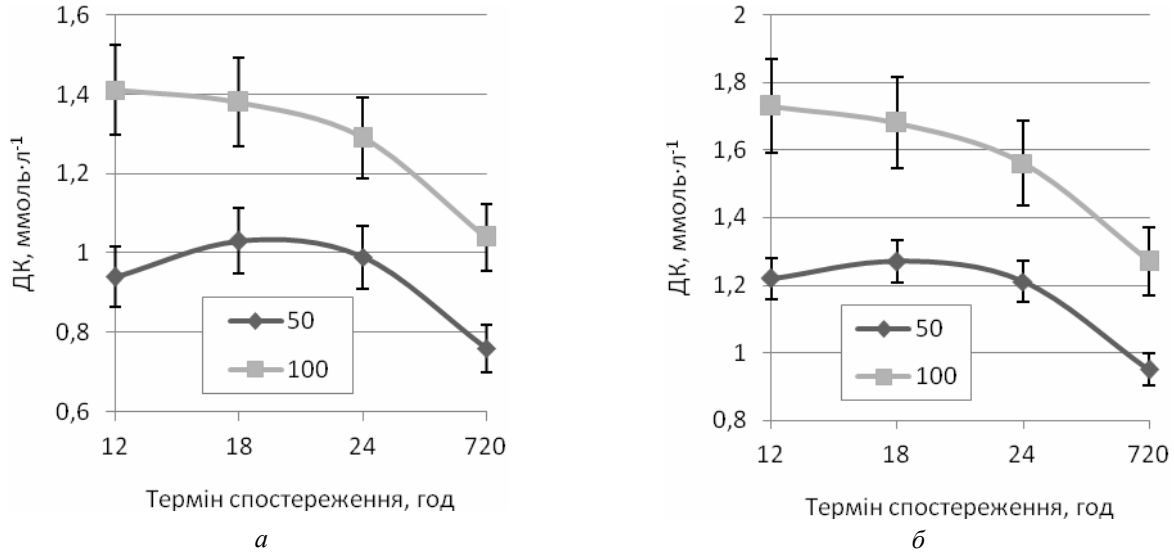
Термін після опромінення, год	Поглинена доза, сГр				
	10	50	100	300	600
	ДК, ммоль/л				
0,5	0,69 ± 0,06	0,73 ± 0,06	0,75 ± 0,06	0,84 ± 0,06*	1,02 ± 0,09*
1	0,69 ± 0,05	0,74 ± 0,06	0,78 ± 0,07	0,93 ± 0,07*	1,27 ± 0,11*
2	0,71 ± 0,06	0,77 ± 0,07	0,86 ± 0,08*	1,26 ± 0,11*	1,81 ± 0,16*
3	0,72 ± 0,07	0,80 ± 0,07	0,95 ± 0,08*	1,51 ± 0,12*	2,25 ± 0,19*
4	0,70 ± 0,06	0,82 ± 0,07*	1,01 ± 0,09*	1,75 ± 0,16*	2,62 ± 0,24*
6	0,73 ± 0,06	0,88 ± 0,09*	1,17 ± 0,10*	2,03 ± 0,17*	2,54 ± 0,23*
12	0,75 ± 0,07	1,06 ± 0,08*	1, 54 ± 0,13*	1,94 ± 0,16*	2,41 ± 0,22*
18	0,81 ± 0,06*	1,15 ± 0,09*	1,48 ± 0,14*	1,85 ± 0,19*	2,32 ± 0,22*
24	0,83 ± 0,07*	1,09 ± 0,10*	1,37 ± 0,12*	1,77 ± 0,15*	2,29 ± 0,19*
720	0,70 ± 0,06	0,84 ± 0,07*	1,14 ± 0,09*	1,66 ± 0,17*	2,26 ± 0,21*

* Різниця з контролем достовірна ($p < 0,05$).

муму збільшується зі зростанням $Д_П$, одночасно зміщується на часовій осі до моменту опромінення. Слід зауважити, що показник вмісту ДК у ПК є досить чутливим критерієм до дії радіаційного чинника, указуючи на те, що радіогенні ушкодження досить тривало зберігаються після закінчення опромінення. Зниження величини показника після максимуму реалізуються за близькою до лінійної залежністю. І лише за $Д_П$ = 600 сГр після тимчасового зниження вміст ДК у ПК залишаються на постійному високому рівні.

Фракціоноване опромінення тварин (рис. 1, *а*) у порівнянні з одноразовим при однакових $Д_П$ не міняє характеру динаміки, водночас приводить до менших змін показника.

Тривале опромінення тварин (рис. 1. *б*) при аналогічних $Д_П$ ініціює значно більші зміни показника у порівнянні з одноразовим.



а *б*

Рис. 1. Динаміка вмісту ДК у плазмі крові після фракціонованого (*а*) та тривалого (*б*) γ-квантами ^{60}Co.

Оскільки радіаційні умови експерименту у варіантах одноразового та тривалого опромінення були ідентичними й відрізнялися лише потужністю випромінення, то отриманий ефект ми відносимо на рахунок різної біологічної ефективності, що залежить від тривалості експозиції.

Динаміка радіогенних змін вмісту МДА у ПК за різних режимів опромінення має також певні особливості. Одноразова дія радіації (табл. 2) викликає збільшення вмісту МДА із максимумом на 24 год, що є постійним у часі при усіх використаних $Д_П$. На відміну від вмісту ДК кількість МДА у ПК має тенденцію до зниження після максимуму лише за доз 10 -100 сГр. При більших $Д_П$ рівень МДА після досягнення максимуму продовжує зростати.

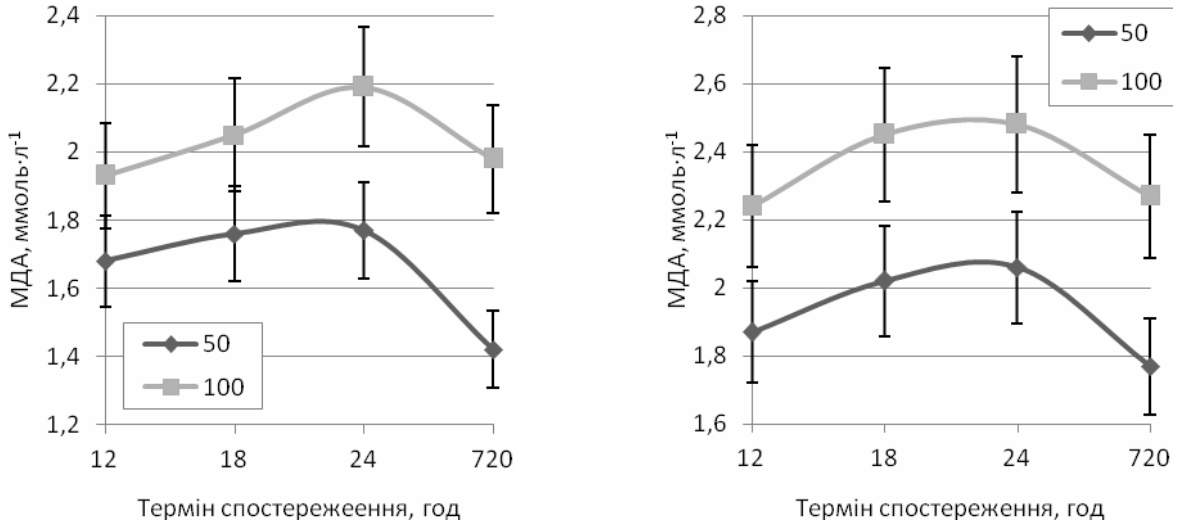
Особливості накопичення МДА у ПК при фракціонованій та тривалій дії радіації (рис. 2) полягають у наступному. Фракціоноване опромінення тварин викликає меншу різницю в ефективності (у порівнянні з одноразовим опроміненням), ніж на рівні утворення первинних і проміжних продуктів ПОЛ.

Як було зазначено, дослідження радіогенних

Таблиця 2. **Динаміка радіогенних змін вмісту МДА у плазмі крові щурів після одноразового тотального опромінення їх γ-квантами ^{60}Co. Контроль: 1,38 ± 0,12 ммоль·л$^{-1}$**

Термін після опромінення, год	Поглинена доза, сГр				
	10	50	100	300	600
	МДА, ммоль/л				
0,5	1,38 ± 0,13	1,41 ± 0,14	1,50 ± 0,13	1,56 ± 0,13	1,58 ± 0,15
1	1,39 ± 0,12	1,46 ± 0,12	1,53 ± 0,14	1,62 ± 0,15	1,69 ± 0,14*
2	1,42 ± 0,14	1,49 ± 0,13	1,58 ± 0,14	1,75 ± 0,14*	1,86 ± 0,17*
3	1,47 ± 0,13	1,53 ± 0,14	1,65 ± 0,14*	1,82 ± 0,17*	2,0 ± 0,19*
4	1,51 ± 0,14	1,56 ± 0,13	1,70 ± 0,16*	1,89 ± 0,18*	2,13 ± 0,22*
6	1,52 ± 0,13	1,61 ± 0,15	1,81 ± 0,17*	2,08 ± 0,19*	2,32 ± 0,20*
12	1,59 ± 0,14	1,75 ± 0,15*	2, 04 ± 0,19*	2,50 ± 0,23*	2,88 ± 0,27*
18	1,61 ± 0,17	1,84 ± 0,17*	2,21 ± 0,20*	2,96 ± 0,27*	3,51 ± 0,34*
24	1,65 ± 0,12*	1,87 ± 0,16*	2,27 ± 0,19*	1,77 ± 0,15*	2,29 ± 0,19*
720	1,39 ± 0,13	1,56 ± 0,13	2,10 ± 0,21*	3,13 ± 0,28*	4,09 ± 0,38*

* Різниця з контролем достовірна ($p < 0,05$).



а *б*

Рис. 2. Динаміка вмісту МДА у плазмі крові після фракціонованого (*а*) та тривалого (*б*) опромінення γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

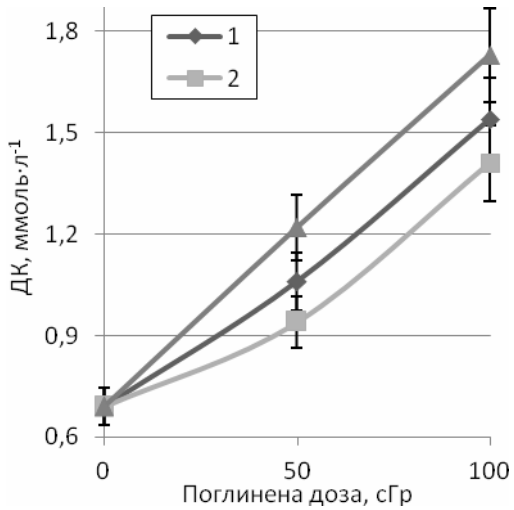


Рис. 3. Дозові залежності вмісту ДК у плазмі крові щурів через 12 год після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення їх γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

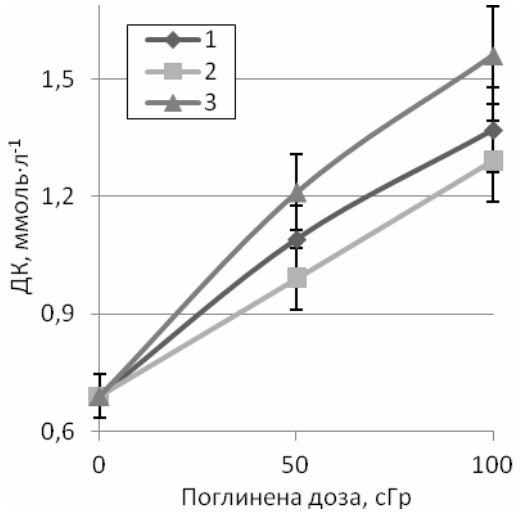


Рис. 4. Дозові залежності вмісту ДК у плазмі крові щурів через 24 год після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення їх γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

змін показників ПОЛ за одноразового опромінення тварин проводилося в широкому діапазоні доз $Д_П$ = 10 - 600 сГр, а фракціонованого і тривалого – лише при дозах 50 і 100 сГр. Тому подальше обговорення дозових залежностей ДК і МДА проводимо при всіх вивчених дозах, а окремі ілюстрації їх (рис. 3 - 5 та рис. 6 - 8) для зручності порівняння наводимо лише для доз 50 і 100 сГр. Дозові залежності вмісту ДК у ПК (рис. 3, 4, 5) на ранній стадії розвитку ефекту (2 год) при малих дозах представлено прямопропорційною лінійною залежністю та аналогічною з невеликим відхиленням від лінійності при дозах, близьких до летальних (через 4 год) після одноразового тотального опромінення тварин. Через 6 год після опромінення порушення лінійності наступає при $Д_П$ > 300 сГр, через 12 год – при $Д_П$ > 100 сГр, через 24 год – при $Д_П$ > > 100 сГр. На завершальному етапі (24 год після опромінення) форма кривої зберігається при істотному зниженні амплітуди показника в досліджуваному діапазоні доз.

Порівняльний аналіз дозових залежностей вмісту ДК у ПК при різних способах опромінення тварин дає змогу визначити наступне. У різні терміни після опромінення форма кривих має якісні особливості. Результати цих досліджень свідчать про те, що в динаміці радіогенних пошкоджень, які супроводжуються накопиченням ДК, роль різних учасників ПОЛ є величиною змінною в часі.

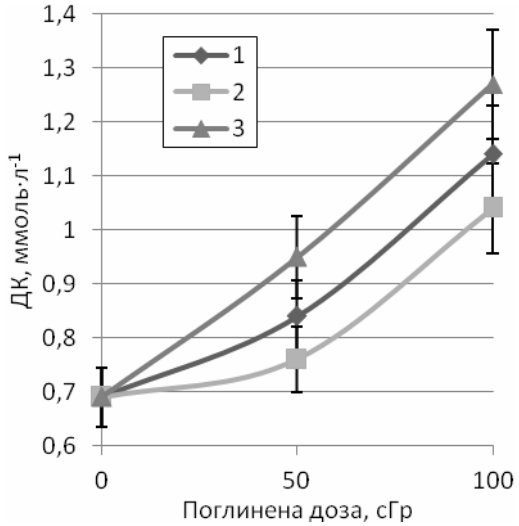


Рис. 5. Дозові залежності вмісту ДК у плазмі крові щурів через 30 діб після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення їх γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

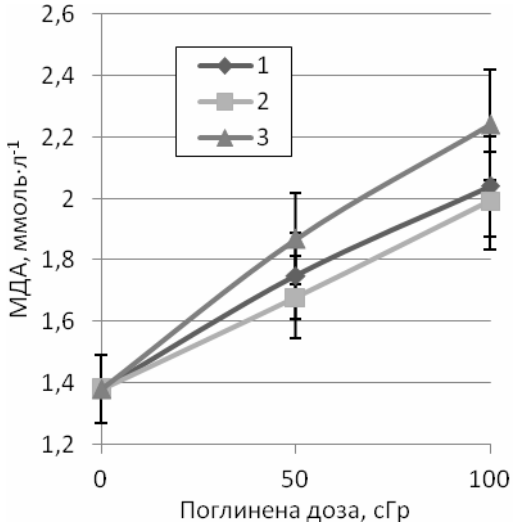


Рис. 6. Дозові залежності вмісту МДА в плазмі крові щурів через 12 год після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

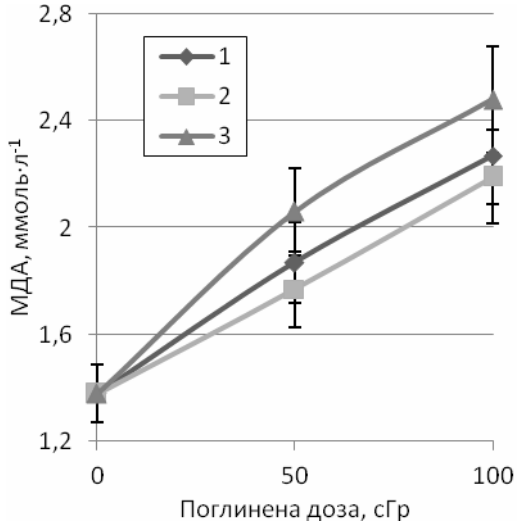


Рис. 7. Дозові залежності вмісту МДА в плазмі крові щурів через 24 год після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

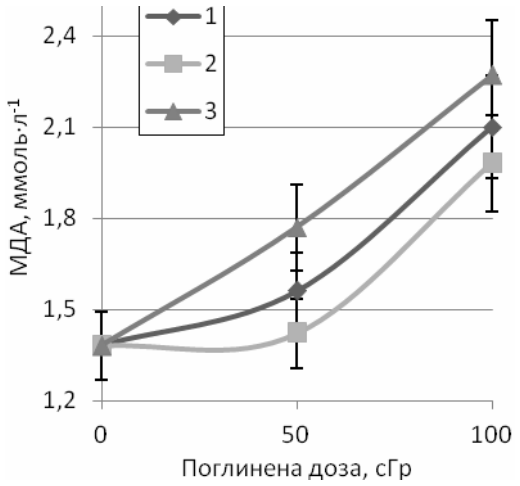


Рис. 8. Дозові залежності вмісту МДА в плазмі крові щурів через 30 діб після тотального одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

Фракціоноване опромінення (див. рис. 3 - 5) не привносить якісних змін у характер дозових залежностей. Тривале опромінення, на відміну від перших двох режимів, через 12 год після дії радіації приводить до прямопропорційної залежності, а в подальші терміни форма кривої трансформується в експоненту. Ці результати за показником вмісту ДК у ПК засвідчують більшу біологічну ефективність тривалого опромінення в порівнянні з одноразовим та фракціонованим при дії однакових $Д_П$.

Дозові залежності вмісту кінцевого продукту ПОЛ МДА у ПК (рис. 6 - 8) мають якісну однотипність, але залежні від термінів спостереження кількісні особливості. Однотипність їх визначається експоненційною залежністю, а кількісні особливості – початковим нахилом та амплітудою. Слід зауважити, що на кінцевому етапі завершення ефекту (30 діб після опромінення) дозова залежність вмісту МДА, зберігаючи експоненційний вигляд, супроводжується більш рівномірним розподілом ефектів в усьому інтервалі величини $Д_П$.

Характер дозових залежностей свідчить про те, що в діапазоні доз 10 - 100 сГр та на перших стадіях розвитку процесу реалізується значна частина ефекту накопичення МДА.

Збільшення дози опромінення приводить до менш значимої добавки до уже сформованого ефекту. На завершальній стадії розвитку ефекту за величиною накопичення МДА у ПК радіогенні зміни нівелюються в широкому діапазоні $Д_П$.

Дозова залежність швидкості зміни вмісту МДА у ПК на 1 сГр $Д_П$ представляє експоненту з різко вираженим збільшенням приросту ефекту при зменшенні $Д_П$ (рис. 9).

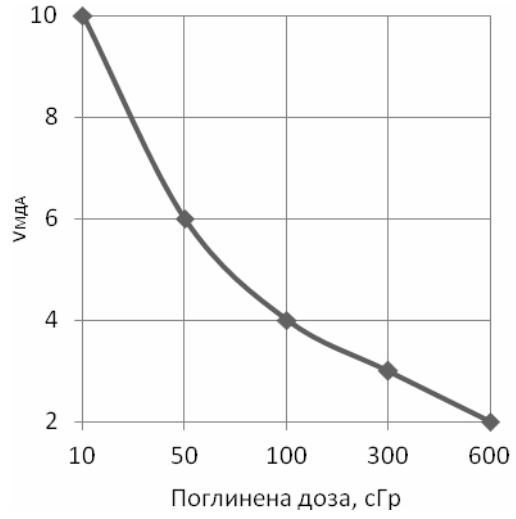


Рис. 9. Дозова залежність швидкості радіогенного зростання вмісту МДА плазми крові щурів на 1 сГр поглиненої дози ($V_{МДА}$) на стадії максимального розвитку ефекту (6 год після дії радіації) при одноразовому тотальному опроміненні γ-квантами ^{60}Co ($p < 0,05$).

Важливий висновок випливає з порівняння величин $V_{МДА}$ і $V_{ДК}$. Якщо для ДК швидкість накопичення продукту є постійною на 1 сГр, то для МДА ця величина різко зменшується зі збільшенням дози іонізуючої радіації. Для різних режимів опромінення тварин характерним є різнотипність форм кривих для послідовних стадій розвитку ефекту в часі. У переважній більшості випадків це лінійні прямопропорційні залежності, де при збільшенні терміну спостереження збільшується кут нахилу кривих – швидкість утворення продукту ПОЛ.

Важливим, на наш погляд, є встановлені факти про те, що на завершальному етапі реакції (30 діб після опромінення) дозові залежності для одноразового та фракціонованого опромінення є експонентами з майже незалежною від дози початковою частиною, у той час як тривалому опроміненню притаманна прямопропорційна лінійна залежність. Це свідчить про те, що за критерієм вмісту МДА у ПК малі дози радіації за тривалого опромінення є більш реакційно здатними в порівнянні з одноразовим та фракціонованим способами опромінення.

Висновки

1. Зовнішнє тотальне опромінення тварин при всіх способах реалізації $Д_П$ (одноразовому, фракціонованому і тривалому) приводить до характерного збільшення первинних і кінцевих продуктів ПОЛ, яке утримується на завищеному рівні залежно від величини $Д_П$ в межах досліджуваних термінів спостереження.

2. Особливостями динаміки є початковий інтенсивний ріст вмісту продуктів ПОЛ у ПК, досягнення максимального значення й у подальшому зниження показників до норми при відносно малих дозах іонізуючого випромінення або незначне продовження збільшення їх при сублетальних $Д_П$. Характер зростання, зниження та місцезнаходження максимуму на часовій осі є різними для ДК та МДА.

3. Статистично достовірне збільшення вмісту ДК у ПК настає в більш ранні терміни та при менших $Д_П$, ніж для МДА. Так, достовірна різниця вмісту ДК у ПК з інтактним контролем реєструється уже при дозах 10, 50, 100 і 300 сГр відповідно на 18, 4, 2 і 0,5 год після опромінення, у той час як для МДА на 24, 12, 3 і 2 год після дії радіаційного фактора.

4. Максимальні радіогенні зміни вмісту ДК у ПК наступають у більш ранні терміни після експозиції тварин, ніж зміни вмісту МДА. Максимум вмісту ДК у ПК зі збільшенням $Д_П$ зміщується в більш ранні терміни, для МДА характерним є по-

стійне місцезнаходження максимуму, що спостерігається на 24-ту годину після опромінення для величини $Д_П$ = 10 - 100 сГр, при більших дозах вміст МДА продовжує експоненційно зростати.

5. Форма дозових залежностей вмісту ДК у ПК від лінійної в найближчі післярадіаційні терміни трансформуються на подальших стадіях розвитку ефекту в експоненційну з переважаючою лінійною ділянкою при сублетальних $Д_П$.

6. Дозові залежності вмісту МДА у ПК в установлені терміни спостереження мають експоненційний вигляд, водночас засвідчуючи істотно високий вихід продуктів ПОЛ на початковій стадії розвитку ефекту вже при дозах 10 - 100 сГр. Сумарний вихід продуктів ПОЛ на 30-ту добу після опромінення тварин нівелює дану нерівномірність чутливості показника в широкому інтервалі доз.

7. Фракціонований спосіб опромінення при рівних $Д_П$ викликає менші радіогенні зміни як ДК, так і МДА.

8. Тривале опромінення тварин в усі терміни спостереження приводить до збільшення вмісту ДК та МДА в порівнянні з одноразовою та фракціонованою експозицією тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов биологических мембран. - М.: Наука, 1972. - 259 с.
2. *Бурлакова Е. Б., Голощапов А. Н., Горбунова Н. В. и др.* Особенности биологического действия малых доз облучения // Радиац. биол. радиоэкол. - 1996. - Т. 36, вып. 4. - С. 610 - 631.
3. *Серкиз Я. И., Пинчук В. Г., Пинчук Л. Б. и др.* Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС / Под ред. В. А. Барабой. - К.: Наук. думка, 1992. - 172 с.
4. *Гаврилов В. Б., Гаврилова Л. Б., Хмара Н. Ф.* Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропиленовых экстрактов // Лаб. дело. - 1988. - № 2. - С. 60 - 63.
5. *Стальная И. Д.* Методы определения некоторых продуктов перекисного окисления липидов в тканях животных // Современные методы в биохимии. - 1977. - С. 62 - 70.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПОСЛЕ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ВНЕШНЕГО ОБЛУЧЕНИЯ КРЫС γ-КВАНТАМИ ^{60}Co

Манучехр Ватанха, А. И. Липская, Я. И. Серкиз

Исследованы начальные и конечные продукты перекисного окисления липидов в плазме крови лабораторных крыс после однократного, фракционированного и длительного их облучения γ-квантами ^{60}Co. Впервые установлено, что на разных стадиях развития радиационно-индуцированной пероксидации липидов имеют место особенности образования продуктов окисления. Показано, что по величине этих показателей при равных поглощенных дозах фракционированное облучение является менее эффективным, а длительное - более неблагоприятным для организма, чем однократное.

Ключевые слова: крысы, γ-кванты ^{60}Co, однократное, фракционированное и длительное облучение, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид.

PEROXIDATION OF BLOOD PLASMA LIPIDS AFTER VARIOUS REGIMES OF EXTERNAL IRRADIATION OF RATS BY ^{60}Co GAMMA-RAYS

Manouchehr Vatankhan, A. I. Lypska, Ya. I. Serkiz

Peroxidation products of lipids in blood plasma of laboratory rats are studied after one-time, fractional and long-term external irradiation of the rats by ^{60}Co gamma-rays. It was found, that different modes of a total external irradiation of rats lead to prominent features of dynamics and dose dependences of radio gene changes of the content of peroxidation products of lipids in blood plasma. It was shown that fractional irradiation is less effective for an organism, whereas long-term irradiation causes essentially big radiation induced changes than one-time action of radiation.

Keywords: rats, ^{60}Co gamma-rays, one-time irradiation, fractional and long-term irradiation, diene conjugates, malonic dialdehyde.

Надійшла до редакції 24.11.09,
після доопрацювання - 17.12.09.