

**ПЕРЕКИСНІ ПРОЦЕСИ У КРОВІ ТВАРИН  
ЗА РАЗОВОГО НАДХОДЖЕННЯ ДО ОРГАНІЗМУ  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$**

**Л. І. Маковецька<sup>1</sup>, Ю. П. Гриневич<sup>2</sup>, І. П. Дрозд<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Інститут експериментальної патології, онкології, радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ*

<sup>2</sup>*Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ*

<sup>3</sup>*Інститут проблем національної безпеки РНБО України, Київ*

Досліджено перекисні процеси у крові статевозрілих щурів-самців лінії Wistar за показниками хемілюмінесценції (ХЛ) після разового інтраперитонеального введення  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  активністю 113,9 кБк на тварину. Динаміка їх змін має екстремальний характер з мінімумом на 1 добу та максимумом на 3-тю. Від 7-ї доби значення показників ХЛ лінійно залежать від величини ефективної дози, при цьому для всіх параметрів ( $I_1$ ,  $I_2$  та S), окрім прикінцевої інтенсивності світіння ( $I_k$ ), ця залежність є практично однаковою з коефіцієнтом детермінації  $R^2 = 0,987$ . Для  $I_k$  дозова залежність є оберненою з  $R^2 = 0,918$ . Отримані дані вказують на те, що механізм регуляції перекисних процесів не завжди пояснюється лише виснаженням антиоксидантної системи особливо на ранніх етапах впливу радіації.

### Вступ

Підвищення рівня техногенного (хімічного та радіонуклідного) тиску на довкілля збільшує ризики виникнення негативних наслідків у населення, яке тривалий час зазнає опромінення, у тому числі зумовленого інкорпорованими радіонуклідами, зокрема  $^{137}\text{Cs}$  і  $^{90}\text{Sr}$ . Маючи відносно великий період напіврозпаду (близько 30 років), вони мігрують в атмосфері й біосфері Землі, що становить потенційну загрозу для населення. За дії ушкоджуючих факторів, у тому числі іонізуючого випромінювання, в організмі активізуються процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які є важливою ланкою в регуляції клітинного метаболізму. За фізіологічної норми тканинам властивий низький рівень ПОЛ [1], що підтримується за рахунок збалансованого процесу утворення та елімінації вільних радикалів. Такий баланс може порушуватися за дії різних екзогенних чинників і призводити до накопичення перекисів у тканинах і, як наслідок, викликати зміни в структурі і функціях біологічних мембран [2], що може зумовлювати низку захворювань, зокрема онкологічних [3]. Інтегральним показником перекисних процесів є хемілюмінесценція (ХЛ) - найбільш чутливий метод їх реєстрації, що дозволяє фіксувати не тільки інтенсивність цих процесів, але й кінетику перебігу реакції, пов'язану з наявністю в системі ініціаторів, каталізаторів, субстратів окиснення та факторів регуляції прооксидно-антиоксидної рівноваги [4].

Для з'ясування механізмів формування біологічних ефектів та оцінки розвитку віддалених наслідків опромінення актуальним є проведення модельних експериментів з чітко заданим дозовим навантаженням за різних умов впливу іонізуючого випромінювання. При цьому експериментальні дослідження практично виключають

вплив стресових ситуацій, опосередковано пов'язаних з дією радіаційного фактора, таких як погіршення соціально-економічних умов та бурхливі емоційні прояви, які можуть істотно модифікувати ефекти впливу іонізуючого випромінювання, особливо в малих дозах.

Представлена робота є фрагментом комплексних досліджень особливостей перебігу окисних процесів у системі крові тварин, опромінених за різних доз та режимів. Метою даної роботи було дослідження динаміки цих процесів у крові щурів за показниками індукованої ХЛ за разового інтраперитонеального надходження  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ .

### Матеріали та методи

Робота виконана на 90 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою тіла 130 - 150 г. Тваринам вводили разово інтраперитонеально 0,5 мл розчину  $^{90}\text{SrCl}$  активністю 113,9 кБк/тварину. Дози опромінення щурів визначали за багатокамерною моделлю з використанням пакетів прикладних програм Maple 6 та Excel 2000, де камерами вважали органи й тканини тварин [5, 6]. Дозу, поглинену в органах і тканинах, визначали як [7]

$$D[\text{Гр}] = k \cdot N_t \cdot E_{\text{еф}} / m,$$

де  $k = 1,6 \cdot 10^{-13}$  Дж/МеВ;  $N_t$  - кількість розпадів радіонукліда, що міститься в депо на час визначення дози;  $E_{\text{еф}}$  - ефективна енергія радіонукліда (з урахуванням біологічної ефективності випромінювання), МеВ/розпад;  $m$  - маса органа чи тканини, кг.

Ефективну дозу розраховували як [6]

$$D_{\text{еф}} [\text{Зв}] = \sum_i D_i \cdot w_i,$$

де  $D_i$  - доза, поглинена в  $i$ -му органі, Гр;  $w_i$  - тканинний зважувачий фактор [6].

Кров (10 мкл) брали з хвостової вени, гемолізували в 4 мл дистильованої води. Загальний рівень перекисних процесів у крові досліджували в динаміці впродовж 30 діб (3 год, 1-ша, 3-тя, 7-ма, 16-та, 30-та доби) методом індукованої перекисом водню ХЛ [4] на хемілюмінометрі ХЛМ1Ц-01 з ФЕП-130 у термостатованій кюветі при  $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$ . Визначали кінетичні параметри ХЛ: інтенсивність швидкого “спалаху” (перший пік  $I_1$ , що зумовлений в основному розкладом  $\text{H}_2\text{O}_2$ , іонами металів змінної валентності та пероксидами ліпідів [8]), повільного “спалаху” (другий пік  $I_2$ , що корелює із вмістом у пробах про- і антиоксидантів (антиоксидантна ємність системи)), прикінцеву інтенсивність ( $I_k$  через 300 с від початку реакції, яка лінійно залежить від вмісту антиоксидантів [9]) та світлосуму світіння за 300 с ( $S_{300}$ ). Результати досліджень представлено у відношенні дослід : контроль.

**Результати та обговорення**

Суттєве значення у вивченні механізмів патологічних змін, що виникають в організмі за дії

малих доз радіації, належить функціонально-метаболічному профілю клітин крові як такої, що несе інформацію про процеси, що перебігають не тільки в ній, але й у інших органах та тканинах. Одними з них, як було наведено вище, є вільно-радикальні – ініціатори подальших фізико-хімічних змін в органах і тканинах, мембранах клітин, що можуть призводити до їх інтерфазної загибелі й до різних патологічних станів.

Стронцій – один із найбільш біодоступних остеотропних радіонуклідів, потрапляючи в організм людини і тварини, вибірково накопичується в кістковій тканині і стає постійним джерелом внутрішнього опромінення, що є однією з причин зміни метаболізму, і у віддалений період індукує виникнення остеосарком і лейкозів [10]. Крім того, спостерігаються зміни окисного гомеостазу [11].

Експериментально визначений вміст рівноважної суміші ізотопів стронцію та ітрію в органах і тканинах тварин наведено в табл. 1.

*Таблиця 1. Вміст  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  в органах і тканинах щурів (Бк) за разового надходження 113,9 кБк рівноважної суміші ізотопів*

Орган, тканина	Час після введення ізотопу, доба					
	0,125	1	3	7	16	30
Кров	620 ± 71	151 ± 21	54 ± 8	2,0 ± 0,4	0	0
М'язи	30827 ± 2400	7607 ± 750	5350 ± 520	2660 ± 281	654 ± 94	65 ± 12
Кістки	4657 ± 305	12160 ± 690	11971 ± 580	11620 ± 710	10874 ± 634	9810 ± 610
Печінка	1720 ± 153	585 ± 67	52 ± 10	24 ± 5	7 ± 2	0
Нирки	33 ± 7	109 ± 15	75 ± 13	28 ± 5	5 ± 1	0
Легені	99 ± 19	132 ± 23	92 ± 17	41 ± 8	13 ± 3	1,0 ± 0,3
Селезінка	198 ± 24	198 ± 26	129 ± 31	61 ± 11	7 ± 2	0
Сім'яники	138 ± 21	122 ± 18	83 ± 12	2,0 ± 0,3	0	0
Шлунок	25270 ± 750	1049 ± 107	350 ± 38	74 ± 11	0	0
Кишковик	50956 ± 2500	8475 ± 590	513 ± 50	177 ± 25	9 ± 2	0

Вплив радіації на організм оцінюється ефективною дозою опромінення, що враховує біологічні ефекти опромінення різних органів і тканин, і відображає сумарний ефект опромінення організму. За умов внутрішнього опромінення  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  найбільшого радіаційного навантаження зазнає кістковий мозок, який забезпечує постійне поступання зрілих елементів у периферичну кров, разом з якою він є рівноважною системою клітинного оновлення [12]. Значення ефективних доз опромінення тварин та доз, поглинених у червоному кістковому мозку (ЧКМ) за умов нашого експерименту, наведено в табл. 2.

Результати дослідження розподілу  $^{90}\text{Sr}$  в органах і тканинах щурів упродовж експерименту показали, що через три години після його введення значні активності визначаються в м'яких

*Таблиця 2. Формування поглинених та ефективних доз в організмі щурів за разового надходження 113,9 кБк  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$*

Термін після надходження ізотопу, доба	Ефективна доза, Зв	Доза, поглинена в ЧКМ, Гр
0,125	0,001	0,005
1	0,013	0,04
3	0,038	0,14
7	0,082	0,32
16	0,166	0,65
30	0,250	1,08

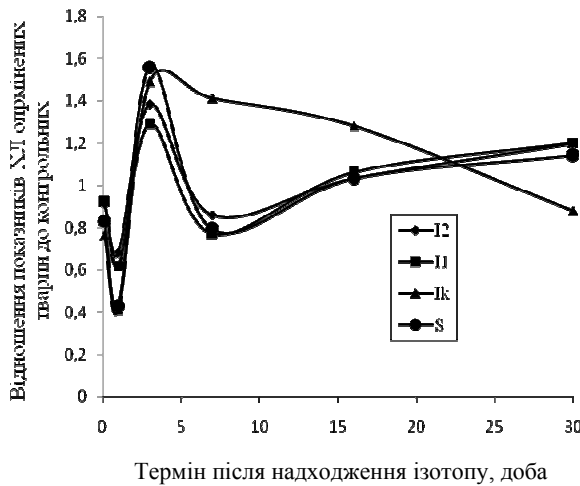
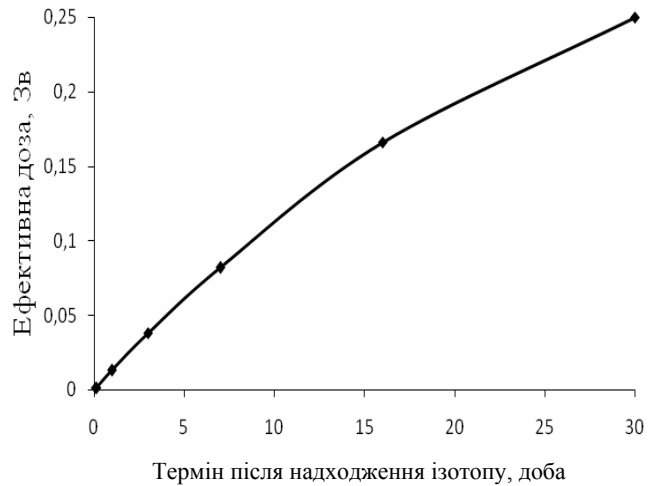
тканинах. Через добу й у подальші терміни спостереження найвищі активності реєструються в кістках, а поглинена в ЧКМ доза зростала й на 30-ту добу становила 1,08 Гр. При цьому склад периферичної крові змінювався молодими фор-

мами еритроцитів, змінювалась еритроцитарна ланка з підвищенням вмісту еритроцитів до 16-ї доби експерименту й подальшим його зменшенням. Загальне число лейкоцитів було зниженим на 25 - 30 % порівняно з контролем за рахунок нейтрофілів і лімфоцитів практично за весь період спостереження [13].

Як було зазначено вище, оцінити динаміку прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, резерви системи антиоксидантного захисту та прогнозувати функціональні можливості організму за дії іонізуючої радіації дозволяє метод ХЛ.

У щурів, яким разово інтраперитонеально вводили радіоактивний стронцій, виявлено зміни вільнорадикальних процесів у крові, що залежали від тривалості опромінення. Відмічені прояви змін у дослідних тварин супроводжувались зни-

женням порівняно з контролем усіх ХЛ характеристик у гемолізатах крові (рисунок, *a*) уже через 3 год від початку введення й досягали мінімальних значень на 1-шу добу. Згідно з даними літератури [11], на 1-шу добу йде мобілізація захисних сил організму, що проявляється в активації антиоксидантної системи, унаслідок чого зменшується інтенсивність світіння. Проте одностороннє зменшення світлосуми й прикінцевої інтенсивності світіння вказує на те, що такий перебіг перекисних процесів може бути наслідком дискоординації дії ферментативного та неферментативного шляхів їх розвитку з подальшим поступовим ушкодженням ферментів продуктами ПОЛ, що створює сприятливі умови для ще більших змін перебігу вільнорадикального окиснення [14].

*a**б*

Динаміка кінетичних параметрів ХЛ гемолізату крові (*a*) та формування ефективної дози опромінення (*б*) за разового інтраперитонеального введення 113,9 кБк  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  щурам-самцям лінії Вістар.

Зниження рівня ХЛ у перші години після опромінення може бути також наслідком надходження в периферичну кров біогенних амінів і глюкокортикоїдів, яким властива антиокисна та антирадикальна активність [11].

Наступний термін спостережень (3-тя доба) характеризується значним підвищенням усіх кінетичних параметрів ХЛ-реакції гемолізатів крові:  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_k$ ,  $S_{300}$  (на 29, 38, 49 і 56 % відповідно) відносно контролю. Інтенсивність перекисних процесів у крові тварин на 7-му добу зменшується. ХЛ показники крові  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $S_{300}$  в цей період нижчі від контрольних (на 23, 14 і 21 % відповідно). Прикінцева інтенсивність світіння ( $I_k$ ) в період з 3-ї до 16-ї доби вища за показники контролю. Слід зазначити, що на 16-ту добу такі досліджувані параметри ХЛ-реакції, як  $I_1$ ,  $I_2$  та  $S_{300}$  (див. рисунок, *a*), наближаються до значень контролю. Зміна перекисних процесів у цей період

очевидно зумовлена ферментативною складовою його регуляції, оскільки у кров'яне русло виходить значна кількість антиоксидантів, на що вказує також підвищене значення  $I_k$ .

На прикінцевому етапі дослідження (30-та доба) показники інтенсивності швидкого та повільного "спалахів", світлосуми світіння в гемолізатах крові дослідних тварин перевищували контрольний рівень, що може бути зумовлене виснаженням антиоксидантної системи (показники прикінцевої інтенсивності світіння (див. рисунок, *a*) нижчі від контрольних). Так відсутність нормалізації процесу ПОЛ через один місяць після зовнішнього гамма-опромінення тварин у малій й високій дозах було виявлено й іншими дослідниками, які, співставивши зміни антиокисної активності ліпідів органів і еритроцитів крові, виявили як високу чутливість параметрів системи ПОЛ до малих доз радіації, так і пошко-

джуючий радіогенний ефект на систему її регуляції [15].

Таким чином, дослідження інтенсивності перекисних процесів за показниками ХЛ крові тварин після разового надходження до організму радіоактивного стронцію показали симбатність змін основних ХЛ характеристик на всіх етапах спостережень. Усі вони на початковому етапі мають екстремуми (мінімум на 1-шу добу та максимум на 3-тю добу), а починаючи з 7-ї доби, їх значення лінійно залежать від величини ефективної дози (див. рисунок). При цьому для  $I_1$ ,  $I_2$  та  $S$  ця залежність є практично однаковою і з коефіцієнтом детермінації  $R^2 = 0,987$  описується виразом  $n = 2,367 D + 0,621$ , де  $n$  – числове значення відношення величин згаданих показників опромінених тварин до відповідних показників контрольних;  $D$  – ефективна доза, Зв. Для  $I_k$  дозова залежність є оберненою й описується виразом  $n = -3,132 D + 1,709$  при  $R^2 = 0,918$ .

Радіаційне навантаження призводить до включення вже на ранніх етапах адаптаційно-компенсаторних механізмів антиоксидантного захисту, що має складний багатofакторний механізм їх розвитку і регуляції.

Аналіз власних і літературних даних [16 - 18] дає підставу стверджувати, що механізм регуляції перекисних процесів не завжди пояснюється лише виснаженням антиоксидантної системи, особливо на ранніх етапах впливу радіації. Очевидно, він зумовлений також зміною перебігу біохімічних і фізико-хімічних процесів, що регулюють окисну рівновагу в тканинах опромінених тварин і людей. Разом з тим дія малих доз радіації на складні біологічні об'єкти (системи) пов'язана як з нелінійною залежністю «доза – біологічний ефект» у системах різного ступеня складності, так і з високою гетерогенністю відповіді системи на слабкі впливи [16 - 18]. Різна чутливість і здатність до нормалізації параметрів фізико-хімічної регуляції перекисних процесів і показників антиоксидантного статусу органів і тканин викликають зміни масштабу направленості кореляційного взаємозв'язку між ними після радіаційного впливу в малих дозах порівняно з аналогічними закономірностями в тканинах та органах контрольних тварин, що й виводить систему ПОЛ на інший рівень регуляції і функціонування.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
2. *Коломийцева И. К.* Радиационная биохимия мембранных липидов. - М.: Наука, 1989. - 181 с.
3. *Липська А. І., Серкіз Я. І.* Природа та закономірності радіаційного канцерогенезу // 36. наук. праць Ін-ту ядерних досл. - 2004. - № 2(13). - С. 114 - 121.
4. *Серкіз Я. І., Дружчина Н. А., Хриенко А. П. и др.* Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии. - К.: Наук. думка, 1989. - 176 с.
5. *Дрозд І. П., Липська А. І., Гриневич Ю. П., Мінчук Г. Я.* Дослідження кінетики обміну  $^{90}\text{Sr}$  +  $^{90}\text{Y}$  та формування поглинутих доз при його одноразовому надходженні до організму щурів у модельному експерименті // 36. наук. праць Ін-ту ядерних досл. - 2003. - № 1(9). - С. 97 - 105.
6. *Липська А. І., Дрозд І. П.* Формування доз опромінення за перорального надходження стронцію до організму щурів // Проблеми Чорнобильської зони відчуження. - К.: Наук. думка, 2006. - Вип. 8. - С. 169 - 178.
7. *Липська А. І., Дрозд І. П.* Розробка експрес-методики розрахунку доз внутрішнього опромінення лабораторних щурів із використанням камерних моделей // Ядерна фізика та енергетика. - 2007. - № 1(19). - С. 123 - 128.
8. *Кузьменко А. И.* Характеристика  $\text{H}_2\text{O}_2$  - инициированного окисления липидов сыворотки крови по кинетическим параметрам хемилюминесценции // Укр. біохім. журн. - 1999. - Т. 71, № 4. - С. 63 - 66.
9. *Кухтина Е. Н., Наумов В. В., Храпова Н. Г.* Особенности хемилюминесцентного метода определения активности природных антиоксидантов // Теоретические и методические основы биохемилюминесценции: Матер. симпоз. "Биохемилюминесценция в медицине и сельском хозяйстве" (Ташкент, 1986). - М.: Наука, 1986. - С. 56 - 59.
10. *Ильин Б. Н., Борисова В. В., Ветух В. А.* Отдаленные биологические эффекты комбинированного действия радионуклидов различной тропности. - М.: Энергоатомиздат, 1991. - 160 с.
11. *Барабой В. А., Орел В. Э., Карнауш И. М.* Перекисное окисление и радиация. - К.: Наук. думка, 1991. - 256 с.
12. *Руководство по радиационной гематологии* (Совместное издание Международного агентства по атомной энергии и Всемирной организации здравоохранения). - М.: Медицина, 1974. - 328 с.
13. *Родіонова Н. К., Липська А. І., Дрозд І. П. та ін.* Особливості змін системи кісткомозкового кровотворення у тварин за одноразового введення  $^{90}\text{Sr}$  // 36. наук. праць Ін-ту ядерних досл. - 2003. - № 2(10). - С. 117 - 123.
14. *Барабой В. А., Олійник С. А., Хмелевський Ю. В.* Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. - 1994. - Т. 64, № 4. - С. 3 - 17.
15. *Полякова Н. В., Шишкина Л. Н.* Воздействие  $\gamma$ -радиации разной мощности на процессы перекисного окисления липидов в тканях мышей // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1995. - Т. 35, № 2. - С. 181 - 188.

16. *Гриневич Ю. П., Дрозд І. П., Серкіз Я. І.* Особливості пероксидазної активності крові щурів за різних доз та режимів опромінення // Зб. наук. праць Ін-ту ядерних досл. - 2003. - № 3(11). - С. 140 - 146.
17. *Шишкіна Л. Н., Кудяшева Н. Г., Загорская Н. Г. и др.* Показатели антиоксидантного статуса в тканях потомков полевок-экономок (*Microtus aeneomus* Pall.) из районов с повышенной естественной радиоактивностью // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2005. - Т. 45, № 4. - С. 474 - 479.
18. *Шишкіна Л. Н., Кушнирева Е. В., Смотряева М. А.* Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Там же. - 2004. - Т. 44, № 3. - С. 289 - 295.

### ПЕРЕКИСНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗОВОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$

Л. И. Маковецкая, Ю. П. Гриневич, И. П. Дрозд

Исследованы перекисные процессы в крови половозрелых крыс-самцов линии Wistar за показателями хемилюминисценции (ХЛ) после разового интраперитонеального введения  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  активностью 113,9 кБк на животное. Динамика их изменений имеет экстремальный характер с минимумом на 1-е сутки и максимумом на 3-и. Начиная с 7-х суток значения показателей ХЛ линейно зависят от величины эффективной дозы, при этом для всех параметров ( $I_1$ ,  $I_2$  и  $S$ ), кроме конечной интенсивности свечения ( $I_k$ ), эта зависимость практически одинаковая с коэффициентом детерминации  $R^2 = 0,987$ . Для  $I_k$  дозовая зависимость обратная с  $R^2 = 0,918$ . Полученные данные указывают на то, что механизм регуляции перекисных процессов не всегда объясняется только истощением антиоксидантной системы, особенно на ранних этапах влияния радиации.

### LIPID PEROXIDATION IN THE RAT BLOOD UNDER THE SINGLE ALIMENTARY INCORPORATION OF $^{90}\text{SR} + ^{90}\text{Y}$

L. I. Makovetska, Yu. P. Grinevich, I. P. Drozd

Lipid peroxidation (LP) following the single  $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$  alimentary injection at the activity of 113,9 kBq per animal in the blood of Wistar adult mail rats by means of chemiluminescence was studied. Dynamics of LP changes was revealed to have the extreme features with minimum on the 1-st day and maximum on the 3-rd day. Since the 7-th day the meanings of chemiluminescence indicators linear depend on the effective doze quantity, moreover for all the meanings ( $I_1$ ,  $I_2$  and  $S$ ), besides the final intensity of luminescence ( $I_k$ ), this dependence practically equals determination coefficient  $R^2 = 0,987$ . For  $I_k$  the doze dependence is inversed to  $R^2 = 0,918$ . Obtained data demonstrate that the radiation loading causes the initiation of antioxidant defence adaptation-compensatory mechanisms at the early period of radiation influence.

Надійшла до редакції 30.07.08,  
після доопрацювання - 17.12.08.