

Матасар І.Т.^{1,2},
Манучехр Ватанха¹,
Чоботько Г.М.¹,
Серкіз Я.І.³

ДОЗОВЫЕ ЗАВИСИМОСТИ РАДИОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КРОВИ КРЫС

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м.Київ)

²ГУ «Научный центр радиационной медицины НАМН Украины»

³Институт ядерных исследований НАН Украины

Резюме. В работе приведены данные о дозовых зависимостях радиогенных изменений содержания продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови крыс линии Wistar после фракционированного и длительного их облучения при различных мощностях дозы в сравнении со стандартным одноразовым тотальным облучением γ -квантами ^{60}Co .

Установлено, что различные режимы облучения животных имеют дозовую зависимость радиационных изменений содержания изучаемых показателей. Показано, что фракционированное облучение животных является более щадящим, в сравнении с пролонгированным, которое вызывает более существенные изменения показателей содержания продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови экспериментальных животных.

Впервые показано, что на ранних стадиях развития реакции организма на воздействие ионизирующего излучения, содержания продуктов перекисного окисления липидов по-разному чувствительны к различным режимам облучения. Характер динамики содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, местонахождения максимумов, на часовой оси имеют определенные особенности, которые являются разными для ДК и МДА.

Ключевые слова: γ -кванты ^{60}Co , одноразовое, фракционированное, длительное облучение, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, перекисное окисление липидов крови крыс.

Ионизирующая радиация, воздействуя на живые организмы, провоцирует возникновение биологических эффектов, различных как по значимости, так и по их длительности не только в отдельных системах, но и в организме в целом. При этом биологические эффекты могут реализовываться как непосредственно после воздействия ионизирующего облучения, так и в отдаленный период, а также у потомства облученных родителей. Безусловно, этиология и патогенез возникновения и развития конкретных отдаленных последствий зависит от радиочувствительности конкретного биологического вида, состояния его организма, условий облучения и т.д. [1]. Сопутствующие ионизирующему излучению негативные факторы окружающей среды усугубляют воздействие ионизирующей радиации на биоту. Учесть их чрезвычайно сложно, поэтому исследователи прибегают к созданию экспериментальных моделей, дающих ответы на вопросы возникновения и развития биологических эффектов радиогенного происхождения [5].

Оценка ранней реакции организма на влияние ионизирующего излучения имеет существенное значение в плане

фундаментального понимания природы радиоиндуцированных изменений в организме [3, 4].

Цель работы — исследование дозовых зависимостей радиогенных изменений содержания продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида) в плазме крови в эксперименте на животных при различных режимах внешнего облучения (одноразовом, фракционированном, длительном).

Материалы и методы

Исследования проведены на половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 130–150 г. Животных подвергали внешнему общему облучению γ -квантами ^{60}Co на установке У-80000 в двух режимах однократного и фракционированного. Однократное облучение проведено в дозах 0,1; 0,5; 1,0; 3,0 и 6,0 Гр при мощности дозы 0,1 Гр/мин. Величина экспозиции составляла соответственно 1, 5, 10, 30 и 60 мин. Номера групп животных в соответствии с полученными дозами облучения были № 2 (0,1 Гр), № 3 (0,5 Гр), № 4 (1,0 Гр), № 5 (3,0 Гр) и № 6 (6,0 Гр). Группой № 1 была биологическая норма —

интактные животные. Этапы наблюдений были: 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 12; 24 и 720 часов после облучения. Фракционированное облучение проведено при мощности излучения 0,2 сГр/мин в дозах 0,5 Гр – 7-я группа животных (5 фракций по 0,1 Гр в каждой с очередностью один раз в 2 дня, величина экспозиции составляла 50 мин для каждой фракции) и 1,0 Гр – 8-я группа животных (10 фракций по 0,1 Гр в каждой с очередностью один раз в 2 дня, величина экспозиции была такой же, как и для дозы 0,5 Гр). Сроками наблюдений были: 12; 18; 24 та 720 часов после облучения.

Для определения диеновых конъюгатов (ДК) (метод И.Д.Стальной с модификацией) [6] использовали реакцию образования двойных связей в процессе перекисного окисления липидов, которые регистрировали по оптическому поглощению при длине волны 233 нм. Малоновый диальдегид (МДА) определяли, используя реакцию конечных продуктов перекисного окисления липидов с тиобарбитуровой кислотой, продукт которой имеет максимум оптического поглощения при длине волны 532 нм [7].

Математическую обработку данных проводили на персональном компьютере при помощи стандартных прикладных программ. Достоверность разницы полученных данных оценивали общепринятыми критериями Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

В научной литературе отсутствуют результаты дозовых зависимостей совокупности показателей системы продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Существующие данные ПОЛ, полученные при одной или ограниченном количестве величин доз, исключает реальную возможность анализа основных радиобиологических характеристик закономерности “доза-время-эффект”, что, как известно, является базовой основой фундаментальной радиобиологии.

Дозовая зависимость ДК в плазме крови на ранних экстремальных этапах развития эффекта (рис. 1) представлена прямопропорциональная линейная зависимость через 2 часа (кривая 1) и аналогичная с небольшим отклонением от линейности при дозах близких к летальным через 4 часа (кривая 2) после тотального облучения животных.

Через 6 час. после облучения нарушения линейности наступает при дозах больше 3,0 Гр (рис. 2, кривая 1), через 12 час. – при дозах больше 1,0 Гр (кривая 2), через 24 час. – при дозах порядка 1,0 Гр (рис. 3, кривая 1). На завершающем этапе (24 час. после облучения) форма кривой сохраняется при существенном снижении амплитуды показателя в изученном диапазоне доз (рис. 3, кривая 2).

Зависимость коэффициента скорости радиогенного увеличения содержания ДК в

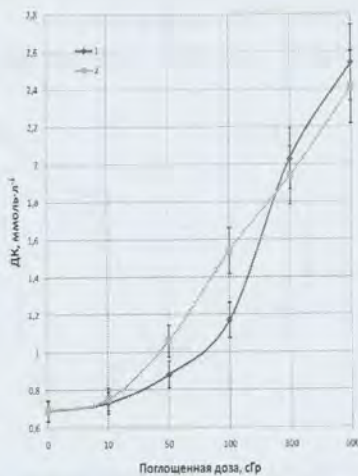


Рис. 1. Дозовая зависимость содержания ДК в плазме крови крыс через 2 часа (1) и 4 часа (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

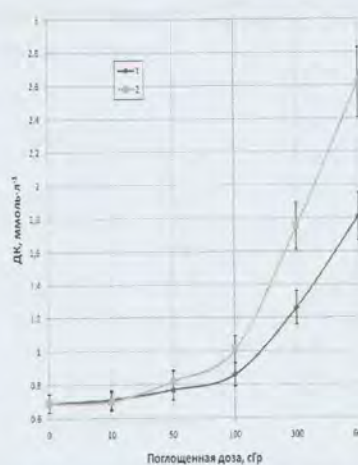


Рис. 2. Дозовая зависимость содержания ДК в плазме крови крыс через 6 часов (1) и 12 часов (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

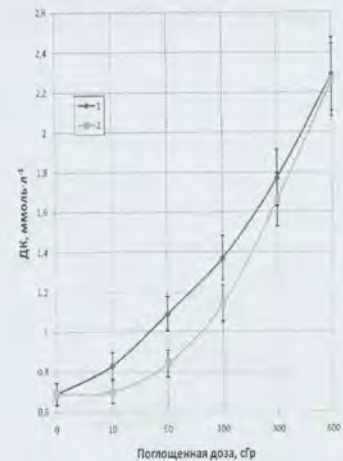


Рис. 3. Дозовая зависимость содержания ДК в плазме крови крыс через 24 часа (1) и 30 суток (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

плазме крови КДК на стадии максимального развития эффекта от дозы ионизирующей радиации имеет строго линейную зависимость (рис. 4). Скорость радиогенного увеличения содержимого ДК в плазме крови на 1 сГр поглощенной дозы радиации ВДК при однократном тотальном облучении в изученном диапазоне доз 0,1 – 6,0 Гр является постоянной (рис. 5). Это свидетельствует о том, что на стадии максимального развития эффекта (2 – 6 часов после облучения) образования промежуточного продукта ПОЛ диеновых конъюгатов является постоянным на каждую единицу поглощенной дозы независимо от суммарной величины дозы.

Поскольку максимум содержания ДК в плазме крови зависит от величины дозы облучения животных и приходится на разные сроки после облучения [5], то важной является дозовая зависимость содержания ДК в плазме крови в максимуме, который изменяется со временем эффекта. Такой зависимостью является экспонента (рис. 6), характер которой указывает на большую чувствительность показателя, на единицу дозы в ее интервале от 0,1 до 1,0 Гр, чем при более высоких дозах.

Сравнительный анализ дозовых зависимостей ДК в плазме крови, при разных способах облучения: фракционированном и длительном (рис. 7, 8 и 9) позволяет заключить, что в разные сроки после облучения форма кривых динамики содержания ДК в плазме крови имеет качественные особенности. Так, через 12 часов после облучения

(стадия развития эффекта близка к максимальным значениям показателя) облучение в диапазоне 0,1 – 1,0 Гр характеризует растущая экспонента (рис. 7, кривая 1), подобная, но меньше выражена кривая, характерная и конечному этапу наблюдений (30 суток по окончании облучения) (рис. 9, кривая 1). В то же время, на стадии формирования эффекта (24 часа после облучения) наблюдается экспонента с насыщением. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что в динамике радиогенных повреждений, которые сопровождаются накоплением промежуточного продукта ПОЛ – ДК, роль разных участников ПОЛ является не постоянным во времени, а величиной переменной. Фракционированное облучение не приносит качественных изменений в характер дозовых зависимостей. Эти данные можно понимать как такие, которые при данных 2-х способах облучения качественных изменений в последовательности участия в процессах ПОЛ разных участников нет (рис. 7, 8 и 9, кривые 2).

Длительное облучение, в отличие от других режимов, через 12 часов после действия радиации приводит к прямопропорционально линейному выходу от дозы, в последующие сроки характеризуется экспоненциальной дозовой зависимостью накопления ДК в плазме крови (рис. 7, 8 и 9, кривые 3). Результаты исследований также указывают на большую эффективность длительного облучения по сравнению с фракционированным при равновеликих дозах по критерию содержимого ДК в плазме крови.

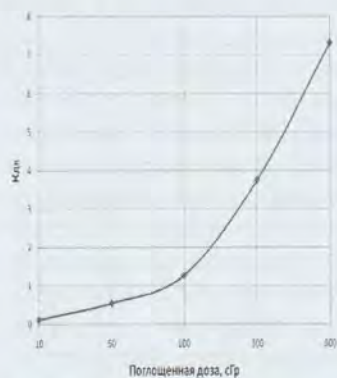


Рис. 4. Дозовая зависимость коэффициента скорости радиогенного возрастания содержания ДК (КДК) плазмы крови крыс на стадии максимального развития эффекта (2-6 часов после действия радиации) при однократном тотальном облучении γ -квантами ^{60}Co .



Рис. 5. Дозовая зависимость скорости изменения содержания ДК плазмы крови крыс на 1 сГр поглощенной дозы (ВДК) на стадии максимального развития эффекта (2-6 часов после действия радиации) при однократном тотальном облучении γ -квантами ^{60}Co .

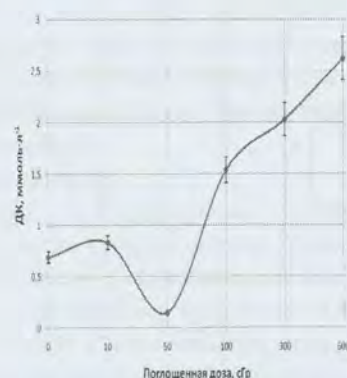


Рис. 6. Дозовая зависимость содержания ДК в плазме крови крыс на максимуме эффекта после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

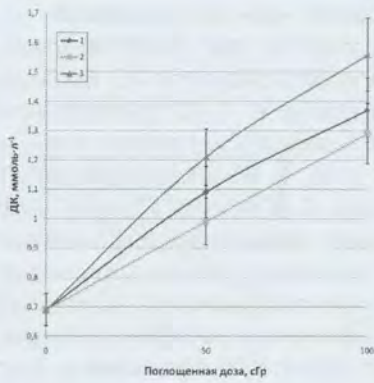


Рис. 7. Дозовые зависимости ДК в плазме крови крыс через 12 часов после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия.

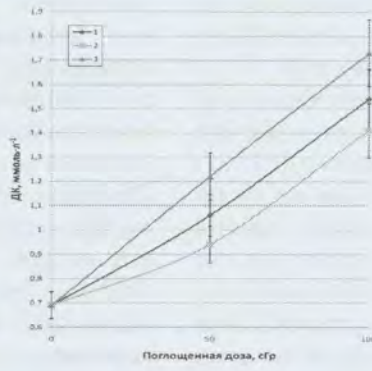


Рис. 8. Дозовые зависимости ДК в плазме крови крыс через 24 часа после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия

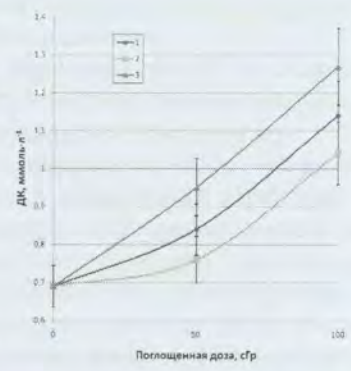


Рис. 9. Дозовые зависимости ДК в плазме крови крыс через 30 суток после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия.

Дозовые зависимости конечного продукта ПОЛ МДА в плазме крови имеют качественно однотипные, но зависящие от сроков наблюдения количественные особенности (рис.10 – 13). Однотипность их определяется экспоненциальной зависимостью, количественные особенности – начальным наклоном кривой и амплитудой. Так, с увеличением срока от момента облучения через 2 и 4 часа (рис. 10, кривые 1 и 2), 6 и 12 часов (рис. 11, кривые 1 и 2) и 24 часа (рис.12, кривая 1) соответственно увеличивается наклон кривой в диапазоне дозы 0,1 – 1,0 Гр, и амплитуда и наклон кривой в диапазоне больших доз радиации (1,0 – 6,0 Гр).

Следует отметить, что на конечном этапе завершения эффекта (30 суток после облуче-

ния) результативная дозовая зависимость МДА, сохраняя экспоненциальную зависимость, приближается к более равномерному распределению эффектов во всем интервале доз (рис. 12, кривая 2).

Характер дозовых зависимостей свидетельствует о том, что в диапазоне доз 0,1 – 1,0 Гр и на первых стадиях развития процесса реализуется существенная часть эффекта накопления МДА, увеличение же дозы облучения, добавку к существующему эффекту делает менее значимой. На завершающей стадии развития эффекта накопления МДА в плазме крови, эффект в широком диапазоне доз радиации выравнивается. Коэффициент скорости радиогенного изменения содержа-

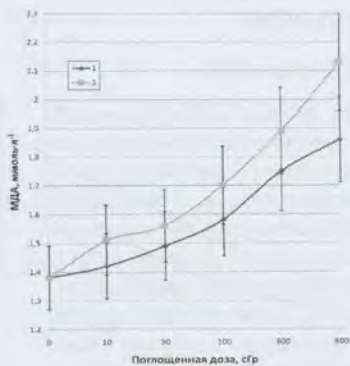


Рис. 10. Дозовая зависимость содержания МДА в плазме крови крыс через 2 часа (1) и 4 часа (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

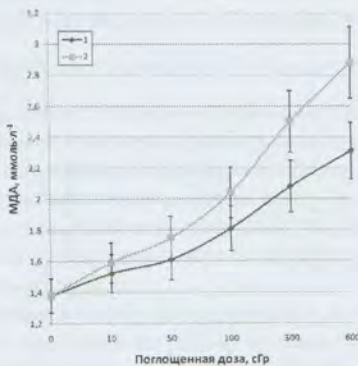


Рис. 11. Дозовая зависимость содержания МДА в плазме крови крыс через 6 часов (1) и 12 часов (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

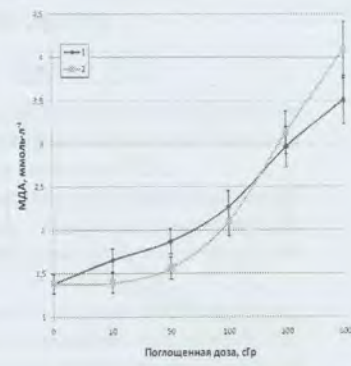


Рис. 12. Дозовая зависимость содержания МДА в плазме крови крыс через 24 часа (1) и 30 суток (2) после однократного тотального облучения γ -квантами ^{60}Co .

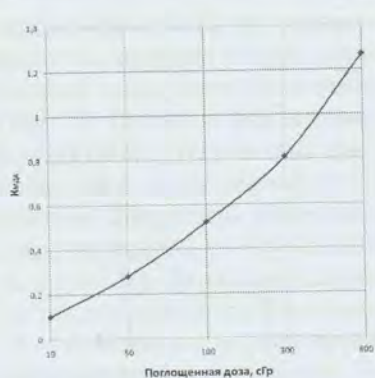


Рис. 13. Дозовая зависимость коэффициента скорости радиогенного изменения содержания МДА (КМДА) плазмы крови крыс на стадии максимального развития эффекта (6 часов облучения) при однократном тотальном облучении γ -квантами ^{60}Co .

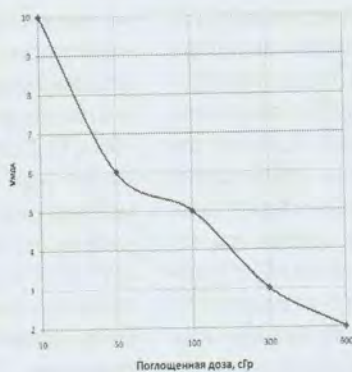


Рис. 14. Дозовая зависимость скорости радиогенного изменения содержания МДА плазмы крови крыс на 1 сГр поглощенной дозы (VMДА) на стадии максимального развития эффекта (6 часов после действия радиации) при однократном тотальном облучении γ -квантами ^{60}Co .

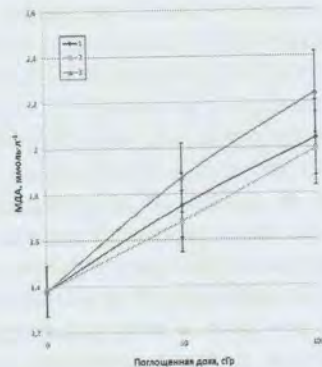


Рис. 15. Дозовые зависимости содержания МДА в плазме крови крыс через 12 часов после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия

ния МДА (КМДА) в зависимости от дозы радиации имеет более выраженную дозовую зависимость в начале дозового интервала (рис. 13), который переходит в линейную при дозах больших 1,0 Гр.

В связи с этим показательной является дозовая зависимость скорости радиогенного изменения содержания МДА плазмы крови крыс на 1 сГр поглощенной дозы радиации (VMДА) (рис. 14). Она представляет классическую экспоненту с резко выраженным увеличением прироста эффекта на единицу дозы и ее уменьшением.

С нашей точки зрения, научный интерес представляет сравнение величин VДК (рис. 15) и VMДА (рис. 14). Если для ДК ско-

рость накопления ДК на 1 сГр поглощенной дозы является постоянной, то для МДА эта величина резко падает с увеличением дозы радиации. Градиент этого спада увеличивается с уменьшением величины поглощенной дозы ионизирующей радиации.

Дозовые зависимости МДА в плазме крови при разных режимах облучения животных (рис. 15, 16, 17) позволяют, как и для ДК отметить разнотипность форм кривых для последовательных стадий развития эффекта во времени. В большинстве случаев это линейные прямопропорциональные зависимости, где при увеличении срока наблюдения растет угол наклона – скорость образования про-

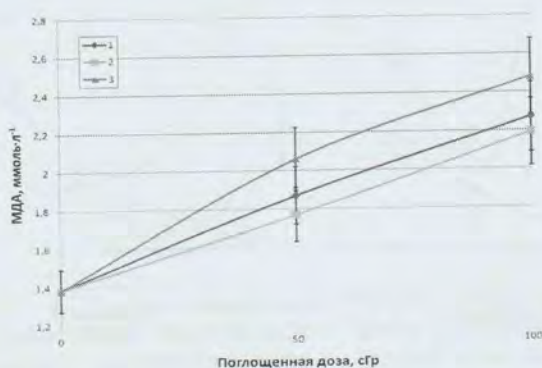


Рис. 16. Дозовые зависимости содержания МДА в плазме крови крыс через 24 часа после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия.



Рис. 17. Дозовые зависимости содержания МДА в плазме крови крыс через 30 суток после окончания однократного (1), фракционированного (2) и длительного (3) радиационного воздействия.

Важними, на наш взгляд, установленными фактами, что на завершающем этапе реакций (30 суток после облучения) дозовые зависимости для и фракционированного общего облучения являются экспонентой с почти невыраженной от дозы начальной частью (рис.17, кривые 1, 2) в то же время как длительному облучению присущая прямопропорциональная линейная зависимость (кривая 3). Это указывает на то, что по критерию МДА в плазме крови малые дозы радиации длительного облучения являются более реакционно-способными.

Таким образом, содержание продуктов ПОЛ в организме является важным критерием интенсивности процесса окисления, а, очевидно, и мерой повреждений, которые вызваны действием радиационного фактора. Характер динамики содержания продуктов ПОЛ в условиях ионизирующего излучения свидетельствует об интенсификации или торможении самого процесса. Дозовые зависимости необходимы для оценки величины повреждающего эффекта ионизирующего излучения с учетом различных режимов облучения, удельного их вклада на единицу поглощенной дозы радиации и для обсуждения базовых радиобиологических закономерностей "доза-время-эффект".

Выводы

1. Дозовые зависимости ДК в плазме крови характеризуются линейной зависимостью в ранние сроки после облучения, а затем трансформируются на последующих стадиях (сроках) развития эффекта в экспоненциаль-

ные и преимущественно линейным участком при больших дозах радиации.

2. Прирост радиогенного ДК в плазме крови на единицу дозы является постоянным для всего исследованного интервала доз.

3. Дозовые зависимости МДА в плазме крови во все сроки наблюдений характеризуются экспоненциальной зависимостью с резким ростом наклона кривых в начальном диапазоне доз с увеличением срока наблюдения. Характер кривой указывает на то, что в начальном диапазоне доз 0,1-1,0 Гр чувствительность показателя до действия радиационного фактора является больше, чем при больших дозах радиации. Результирующая дозовая зависимость МДА в плазме крови (на 30 сутки после облучения) нивелирует эту неравномерность.

4. Прирост радиогенного МДА в плазме крови на единицу поглощенной дозы за соответствующей дозовой зависимостью есть экспоненциальной со значительным показателем, который свидетельствует о существенном увеличении "количества эффекта" на единицу поглощенной дозы радиации с уменьшением ее величины.

5. Фракционированное облучение при равновеликих величинах доз вызывает меньшие радиогенные изменения содержания в плазме крови, как ДК, так и МДА.

6. Длительное облучение животных во все сроки наблюдений приводит к увеличению содержания ДК и МДА.

ДОЗОВІ ЗАЛЕЖНОСТІ РАДІОГЕННИХ ЗМІН ВМІСТУ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ КРОВІ ЩУРІВ

Матасар І.Т., Манучехр Ватанха, Чоботько Г.М., Серкіз Я.І.

Резюме. У роботі наведені дані про дозові залежності радіогенних змін вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів плазми крові щурів лінії Wistar після фракціонованого і тривалого опромінення при різних дозах у порівнянні із стандартним одноразовим тотальним опроміненням γ -квантами ^{60}Co .

Встановлено, що різні режими опромінення тварин мають дозову залежність радіаційних змін вмісту показників, які вивчаються. Показано, що фракціоноване опромінення тварин є більш помірним у порівнянні з пролонгованим, яке викликає більш суттєві зміни показників вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів плазми крові експериментальних тварин.

Вперше показано, що на ранніх стадіях розвитку реакції організму на вплив іонізуючого випромінювання, вміст продуктів перекисного окислення ліпідів по різному чутливий до різних режимів опромінення. Характер динаміки вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду, місцезнаходження максимумів, на годинниковій осі мають певні особливості, які є різними для ДК та МДА.

Ключові слова: γ -кванти ^{60}Co , одноразове, фракціоноване, тривале опромінення, дієнові кон'югати, малоновый діальдегід, перекисне окислення ліпідів крові щурів.

**DOSE DEPENDENCES OF RADIOGENIC CHANGES
OF PEROXIDE OXIDATION OF BLOOD LIPIDS PRODUCTS CONTENT IN RATS**

I. Matasar, Manouchehr Vatankhah, G. Chobotko, Y. Serkiz

Abstract. *The work presents the data on dose dependences of radiogenic changes of content of peroxide oxidization of blood lipids products in Wistar rats after their fractionated and prolomged irradiation at different dose rates in comparison to the standard single total irradiation by γ -quantum of ^{60}Co .*

It is found that different modes of irradiation of animals have dose dependence of radiation changes of content of the studied indices. It is shown that a fractionated irradiation of animals is more sparing in comparison to the prolonged one, which causes more substantial changes of indexes of content of peroxide oxidization of blood lipids products in experimental animals.

It is shown for the first time that at the early stages of development of reaction of organism to exposure to ionizing radiation, content of lipids peroxide oxidization products have varying sensitivity to the different modes of irradiation. The character of dynamics of the content of diene conjugated metabolite and malonic dialdehyde, locations of maximums, on time axis have certain features which are different for diene conjugated metabolite and malonic dialdehyde.

Key words: γ - quantum ^{60}Co , rats, fractionated and prolonged irradiation, blood lipids.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abell L.L., Levy B.B., Brodie B.B. A simplified method for the estimation total cholesterol in serum and demonstration of its specificity // J. Biol. Chem. – 1952. – Vol. 195. – №2. – P. 357 – 366.
2. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 214 с.
3. Липська А.І. Дозоутворення, природа ранніх та ризику віддалених ефектів у тварин за тривалої дії радіонуклідів чорнобильського викиду / Автореф. дис. ... докт. біол. наук. – К. 2008. – 44 с.
4. Природа та закономірності радіаційного канцерогенезу / А.І. Липська, Я.І. Серкіз // 36. наук. праць Ін-ту ядерних досліджень. – К., 2004. – №2(13). – С. 114 – 121.
5. Серкіз Я.І., Пинчук В.Г., Пинчук Л.Б. и др. Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭ. – К.: Наукова думка. 1992. – 172 с.
6. Стальная И. Д. Методы определения некоторых продуктов перекисного окисления липидов в тканях животных // В кн: Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 62 – 70.
7. 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.