УДК 577.152.34; 577.349

Чорна В.І., Лянна О.Л.

ОЦІНКА І ПРОГНОЗ МЕДИЧНИХ РАДІОЛОГІЧНИХ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС

Установлено дисбаланс в системі ПОЛ-АОС у сироватці крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС. Залежно від дози опромінення визначено підвищення процесів пероксидації, вмісту ліпопротеїнів низької густини. У ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС відбуваються порушення в системі протеолізу, які виявляються в активації лізосомних цистеїнових катепсинів B і L та зниженні рівнів інгібіторів α2-макроглобуліну і α1-антитрипсину у сироватці крові. Встановлена залежність між інтенсивністю ПОЛ та ступенем дисбалансу протеїназно-інгібіторної системи крові, яка свідчить про негативний вплив малих доз іонізуючої радіації.

Ключові слова: *система ПОЛ-АОС, доза опромінення, пероксидація, ліпопротеїни, система протеолізу, протеїназно-інгібіторна система крові.*

Установлен дисбаланс в системе ПОЛ-АОС в сыворотке крови ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. В зависимости от дозы облучения определено повышение процесов пероксидации, содержание липопротеинов низкой плотности. У ликвидаторов последсвий аварии на ЧАЭС наблюдается ухудшения в системе протеолиза, которые состоят в активации лизосомных цистеиновых катепсинов B и L, а также в снижении уровней ингибиторов α2-макроглобулина і α1-антитрипсина в сыворотке крови. Установлена зависимость между интесивностью ПОЛ и степенью дисбаланса протеиназно-ингибиторной системы крови, которая свидетельствует о негативном влиянии малых доз ионизурующей радиации.

Ключові слова: *система ПОЛ-АОС, доза облучения, пероксидация, липопротеины, система протеолиза, протеиназно-ингибиторная система крови.*

The misbalance of POL-AOS system in blood serum of population affected after the Chernobyl accident. Depending on the irradiation dose, the increasing of peroxide processes, lipoproteins of low density concentration were established. The population affected after Chernobyl accident has disfunction of proteolytic system, that occurs in activation of lysosomal cysteine cathepsins B and L and decreasing of inhibitors levels of α2-macroglobulin and α1-antitripsin in blood serum. The dependence between intensiveness of POL and extent of protease-inhibitor blood system misbalance was determined, that testified to negative influence of low doses radiation.

Key words: *POL-AOS system, irradiation dose, peroxide processes, lipoproteins, proteolytic system, protease-inhibitor blood system.*

Вступ. Визначення медичних радіологічних наслідків катастрофи на Чорнобильській атомній електростанції (ЧАЕС) залишається однією з ключових проблем при обранні оптимальної стратегії довгострокових реабілітаційних заходів.

Клініко-біохімічні обстеження ліквідаторів наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (встановлені дози складають 0,01-0,6 Гр), свідчать про те, що погіршення психо-емоційних показників супроводжуються активацією процесів ПОЛ (збільшення проміжних та кінцевих продуктів пероксидації) та пригнічення функції антиоксидантної системи (зниження активності ключових ферментів – супероксидисмутази (СОД) та церулоплазміну). Такій кореляції надається великого значення, як головного й універсального чинника в патогенезі порушень функцій ЦНС.

Важливими є дані про мінімальні дози іонізуючої радіації, яка спричиняє достовірну активацію ПОЛ (перекисного окиснення ліпідів). Спеціальні дослідження за умов тотального зовнішнього фракціонованого опромінення щурів показали,

що вірогідна активація ПОЛ (на 17-25 %), яку визначали за вмістом у крові МДА й інших продуктів, спостерігається після сумарної дози 1 Гр. Менші сумарні дози також викликають коливальну реакцію показників ПОЛ, але амплітуда коливань наближується до фізіологічної [1].

В роботах [2,3] також вивчали динаміку перекисного окиснення в крові та органах щурів при рентгенівському опроміненні в низьких дозах (0,5¸4 Гр за потужності опромінення 0,5 Гр/хв). Безпосередньо після опромінення кількість ендогенних пероксидів у тканинах мозку значно зростає вже за дози 0,5 Гр – майже на 35 %. Загалом же ефект був залежним від дози. Рівень збільшення малонового діальдегіду (МДА) був вищим у 2,8 рази за дози 0,5 Гр та у 3,5 рази за дози 4 Гр. Разом з тим, уже через 15 хвилин після опромінення спостерігається зниження продуктів перекисного окислення. Через добу після загального опромінення вміст компонентів, реактивних з тіобарбітуровою кислотою, у мозку підвищувався більш як у 15 разів. Через 3 доби після опромінення вміст МДА в мозку був підвищений у 4 рази. Більше того, у віддалені строки вміст МДА в мозку не нормалізується, але зберігається на такому ж підвищеному рівні. Таким чином, навіть за дози 0,5 Гр ефект опромінення на центральну нервову систему є значним і з часом не зникає [3].

Активація ПОЛ у мембранах клітин тварин, опромінених малими дозами й інтенсивностями, проявляється, перш за все, в підвищенні проникності мембран (головним чином пасивної) для електролітів і метаболітів [4, 5]. Volpe et al. [6] встановили, що на молекулярному рівні першим наслідком перекисного окиснення ліпідів є проникність води у внутрішні гідрофобні шари мембран (рис. 1), що зумовлює зміни бар'єрних властивостей, а також функціональні порушення білків і ферментів.

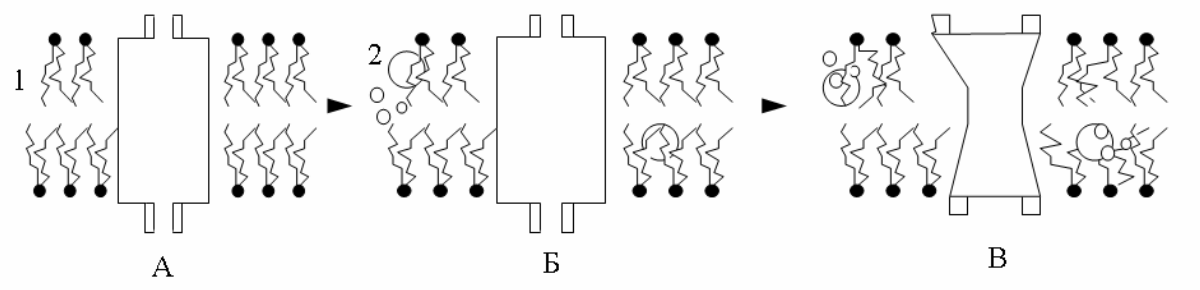

Рис. 1

В основі типових для наслідків Чорнобильської катастрофи церебральних і цереброваскулярних порушень лежать дискоординація активностей ферментів, зміни вмісту катехоламінів і їх дії на нейрони через аденілатциклазну систему [1, 7]. Радіація в дозі 250 мГр при тривалій дії індукує специфічні ушкодження хромосом, які є не тільки біомаркерами мутагенної дії іонізуючих випромінювань на людину, але, порушуючи функціонування клітини мішені, можуть бути в основі стохастичних і, можливо, деяких нестохастичних пострадіаційних ефектів [8]. При затравці щурів радіонуклідами ^{137}Cs; ^{85}Sr упродовж 1-3 місяців (сумарна поглинута доза 0,03-0,11 Гр) встановлена закономірна активація ПОЛ в тканинах головного мозку з порушенням структури мембран нейронів і гліоцитів, особливо в гіпоталамусі, з розвитком дистрофічно-деструктивних процесів за типом енцефалопатії [1]. У віддалені строки виникає дискоординація медіаторних взаємовідносин у ряді структур ЦНС, яка полягає в основі прояву диенцефального синдрому [9].

Більш резистентними до дії іонізуючої радіації виявилися лізосоми. В ранні терміни після опромінення починається масове утворення лізосом, при чому їх завжди більше в зоні апарата Гольджі. Маніна А.А. описала всі стадії формування лізосом у нейроцитах при рентгенівському опроміненні [10]. За даними електронної мікроскопії, лізосоми розташовані поодинці чи групами і знаходяться у різних функціональних станах. Цим органелам належить важлива роль у підтримці внутрішньоклітинної організації [11].

У результаті дії іонізуючої радіації на мембрани лізосом або в результаті вторинного впливу на мембрани токсичних речовин, що виникають у цитоплазмі (пероксиди, хінони, семіхінони та ін.), проникливість мембран може суттєво змінюватися. Це призводить до вивільнення гідролаз та прояву ними літичної активності в цитоплазмі клітин [12, 13].

Малі дози випромінювань суттєво не впливають безпосередньо на білки мембран, але здатні викликати оксидацію ліпідів [14]. Наслідками структурних і динамічних змін стану ліпідів можуть бути порушення конформаційних і функціональних властивостей клітинних мембран.

Метою даної роботи є визначення зв'язку між рівнем пероксидного окиснення ліпідів та ступенем дисбалансу протеїназно-інгібіторної системи крові ліквідаторів аварії на ЧАЕС.

Матеріали та методи. Нами проведено дослідження на людях, які були опромінені внаслідок аварії на ЧАЕС. Обстежено 103 пацієнта. Це чоловіки у віці 40-49 років, які працювали в зоні аварії у 1986 та 1987 рр. При проведенні обстеження, залежно від дози опромінення усі пацієнти, ліквідатори наслідків аварії на ЧАЕС, були розділені на дві групи. Дози опромінення, для ліквідаторів I групи були в межах 0,11-0,20 Гр, II групи – 0,21-0,30 Гр. У якості контролю служила сироватка крові 20 донорів.

Рівень малонового діальдегіду у сироватці крові визначали за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [15].

Ліпопротеїни низької густини (ЛНГ) визначали за методом [16].

Загальну антиоксидантну активність (ЗАОА) визначали у сироватці крові за методом [17].

Пероксидазну резистентність еритроцитів (ПРЕ) визначали за стандартною методикою [18].

Інгібіторну активність сироватки крові визначали за рівнями альфа 1-антитрипсину (a_1-AT) та альфа 2-макроглобуліну (a_2-MG) за методом [19].

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у групах ліквідаторів іонізуюче опромінення викликає значні і довготривалі зміни параметрів пероксидації, антиоксидантної і протеїназно-інгібіторної систем сироватки крові. Це означає, що зміни в активності ферментів носять виключно вторинний характер.

Сучасні норми основних лабораторних показників інтенсивності вільнорадикального окиснення (за даними Казимирко В.К. та ін. [20]) представлені у табл. 1:

Таблиця 1

Норма основних лабораторних показників інтенсивності вільнорадикального окиснення

Показник	Норма	Коментарій
Спонтанна хемілюмінесценція	2,15 ± 0,11 ум.од.	Показники інтенсивності перекисного окиснення ліпідів в організмі в цілому
Ініційована хемілюмінесценція	3,35 ± 0,21	
Дієнові кон'югати	6,4 ± 0,5 мкмоль/л	Збільшуються при перекисному окисненні поліненасичених та вільних жирних кислот у біологічних мембранах
Малоновий диальдегід	3,2 ± 0,3 мкмоль/л	
Гідроперекиси ліпідів	1,23 ± 0,3 нмоль/г 1,56 ± 0,05 од.	
Основи Шиффа в ліпідах еритроцитів	0,056 ± 0,004 ОД/мл	Збільшуються при вільно радикальному пошкодженні білкових молекул
Глутатіон загальний	22,6 ± 1,0 ммоль/л	Відображають активність відповідних систем антиоксидантного захисту організму. Збільшення може непрямим чином свідчити про підвищення інтенсивності процесів вільно-радикального окиснення в організмі, зниження – про виснаження відповідної ланки антиоксидантного захисту
Глутатіон відновлений	13,4 ± 0,8 ммоль/л	
Глутатіон окиснений	9,24 ± 1,1 ммоль/л	
Глутатіон-пероксидаза	2,9 ± 0,17 од/мл	
Глутатіон-редуктаза	1,64 ± 0,17 од/мл	
Каталаза	382 ± 2,1 МОД/мг Hb	
Супероксиддисмутаза	28,3 ± 3 ,3 МОД/мгHb, 42 ± 0,2 од/мл	
Перекисна резистентність еритроцитів	3,9 ± 0,2 %	
Ендогенний α-токоферол	30,7 ± 0,47 ммоль/л	

Негативний вплив іонізуючого випромінювання призводить до поглиблення дисбалансу в системі ПОЛ-АОС у сироватці крові ліквідаторів, а тривала інтенсифікація ПОЛ може бути суттєвим механізмом хронізації запальних процесів. Так із аналізу даних, наведених на рис. 2, випливає, що у сироватці крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС спостерігається підвищення процесів пероксидації, яке залежить від дози опромінення, і некомпенсоване посилення процесів ПОЛ, що свідчить про розвиток дезадаптації.

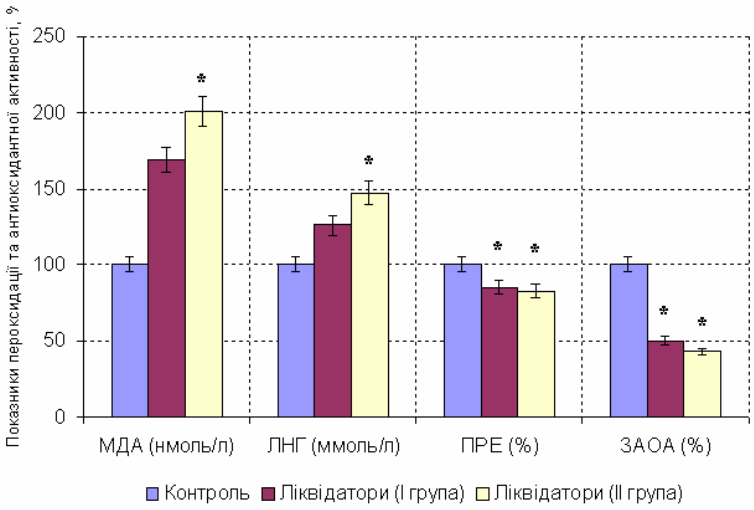

Рис. 2

На підставі підвищених рівнів МДА у сироватці крові ліквідаторів I групи на 68 %, а у ліквідаторів II групи на 100 %, можна припустити інтенсифікацію вільнорадикальних процесів після опромінення. Характерно, що підвищений рівень утримувався протягом тривалого періоду. Традиційно наявність МДА пов'язують з процесами пероксидації ліпідів. Але відомо, що процесу пероксидації можуть

зазнавати й інші класи біохімічних сполук – білки, вуглеводи і нуклеїнові кислоти [21]. Показано, що МДА є також і кінцевим продуктом пероксидації вуглеводного компонента ДНК [22].

Нами встановлено, що радіація в малій дозі спричиняє підвищення вмісту ліпопротеїнів низької густоти (ЛНГ). Так у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС I і II груп цей показник, вірогідно, підвищується на 25 та 47 % відповідно до контролю.

Таким чином, у віддалені строки після опромінення має місце підвищений рівень вільнорадикальних процесів у сироватці крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, який лишається на досить високому рівні. Логічно передбачити, що в основі цього явища лежить певна неефективність роботи антиоксидантної системи.

При дослідженні антиоксидантної системи крові показано, що загальна антиоксидантна активність (ЗАОА) сироватки крові ліквідаторів знижується порівняно з контролем в 2,0 і 2,2 рази відповідно до досліджуваних I та II груп. При визначенні перекисної резистентності еритроцитів (ПРЕ) пацієнтів I і II груп встановлено зниження стійкості еритроцитарних оболонок на 15 і 17 % відповідно до дії перекису водню, яке корелює зі ступенем накопичення токсичних гідроперекисей при впливі різних доз опромінення (табл. 1).

Божок О.В. [4] довів високу чутливість мембран еритроцитів до дії малих доз іонізуючого випромінювання і стресу. Методом кислотних еритрограм у щурів вивчали вплив зовнішнього g-опромінення за доз 0,5; 1,0 та 2,0 Гр і внутрішнього ^{137}Cs (600 і 1 200 Бк на добу протягом місяця) на стан мембран еритроцитів і перерозподіл еритроцитів за стійкістю. Визначена висока чутливість мембран еритроцитів до дії малих доз іонізуючого випромінювання.

Встановлене пошкодження структури мембран погіршує функціональний стан еритроцитів, здійснюючих транспорт кисню і сприяє розвитку гіпоксії тканин. Стан протеіназно-інгібіторного комплексу крові забезпечує, в тій чи інший мірі, захист тканин організму від розвитку деструктивних процесів при порушенні гомеостазу. Активність катепсину B, вірогідно, зростала в 1,2 рази в сироватці крові ліквідаторів як I, так і II груп (рис. 3). Збільшення активності катепсину L встановлено в сироватці крові ліквідаторів на 48 % порівняно з донорами.

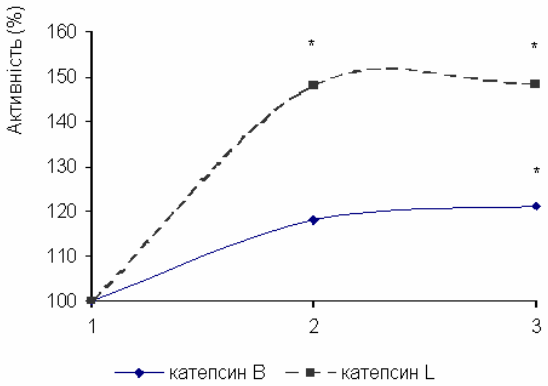

Рис. 3

Визначення рівнів протеолітичної активності сироватки крові у постраждалих від аварії на ЧАЕС викликає значний інтерес [23, 24].

Так, Кирпичонок Л.Н. та ін. [24] дослідили інтенсивність протеолітичних процесів у сироватці крові 3 567 чоловік, постраждалих від аварії на ЧАЕС.

Відзначено відхилення в протеолітичній системі, які виражаються в зміні активності протеіназ різних класів, рівнів ендогенних інгібіторів. У дорослого населення індекс протеолізу знижується, що свідчить про адаптаційно-компенсаторний характер змін. У дітей спостерігали підвищену активність протеіназ, що веде до росту індексу протеолізу і є несприятливою ознакою [24].

В наших дослідженнях у I і II груп ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС спостерігали пригнічення інгібіторної активності сироватки крові. Визначення *α1*-антитрипсину сироватки крові чорнобильців свідчить про зниження його рівня на 47,6 % в I групі та 49,5% у II групі порівняно з показниками донорів (рис.4).

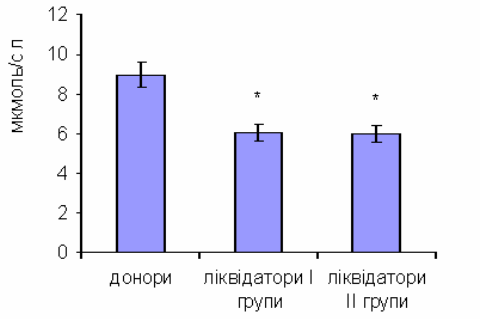

Рис. 4

Встановлено [25], що опромінення викликає тривалу активацію протеїназ крові та мембран еритроцитів, у тому числі загальної протеолітичної активності, казеїнолітичної активності, вміст імунореактивного трипсину, аутолітичної та протеолітичної активності мембран при зниженні інгібіторного потенціалу крові у вигляді зменшення рівнів α1-антитрипсину та α2-макроглобуліну.

α2-макроглобулін, один із важливіших плазмених інгібіторів протеїназ, який утворює комплекси з протеїназами усіх класів – сериновими, цистеїновими, металопротеїназами. Його відносять до одного з регуляторів активності протеолітичних ферментів крові й тканин. Вивчення впливу α2-макроглобуліну на стан деяких неспецифічних захисних реакцій у щурів у ранні періоди променевої хвороби показало, що введення тваринам цього білка затримує зниження бактерицидності крові, зумовленої дією радіації, майже вдвічі, підвищує відсоток фагоцитуючих лейкоцитів тощо.

Дослідження α2-макроглобуліну в наших дослідах свідчить про зниження рівнів інгібіторної активності сироватки крові ліквідаторів I та II груп на 51 та 57 % відповідно (рис. 5).

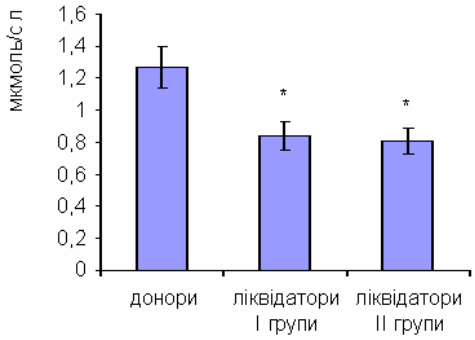

Рис. 5

Таким чином, нами встановлено, що у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС відбувається порушення в системі протеолізу, які виявляються в активації катепсинів B і L у сироватці крові і зниженні рівнів інгібіторів протеолізу. Це свідчить про перевагу протеолітичного потенціалу над інгібіторним.

Висновки про активацію протеолізу у сироватці крові при опроміненні підтверджуються у ряді робіт [23, 25]. Це може бути наслідком активації протеїназ, виходу їх із клітини і зниження інгібіторного потенціалу сироватки крові. Встановлена залежність між інтенсивністю ПОЛ та ступенем дисбалансу протеїназно-інгібіторної системи крові свідчить про негативний вплив малих доз іонізуючої радіації. Її можна розглядати як компенсаторно-пристосовну реакцію молекулярно-клітинних систем організму у відповідь на дію радіації. Але, на нашу думку, цей стан тривалої «фізіологічної напруги» слід віднести до негативних ефектів малих доз, бо організм змушений переходити на нові режими функціонування.

Висновки. Встановлена довготривала дискоординація в протеїназно-інгібіторній системі крові можлива в тому випадку, коли під дією іонізуючого випромінювання за доз 0,2-0,3 Гр відбуваються певні порушення на рівні геному, які не дозволяють адекватно корегувати процеси метаболізму, і ці зрушення є елементом загального неспецифічного адаптаційного процесу.

При оцінці променевого пошкодження та можливих його віддалених наслідків на перший план виходять проблеми біохімічної адаптації до нових умов існування та можливості прогнозування ранніх функціональних зрушень і ризик появи віддалених наслідків у постраждалих від аварії на ЧАЕС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Чернобыльская катастрофа / Под ред. В.Г. Барьяхтар. – К.: Наук. думка, 1995. – 559 с.
2. Бездробная Л.К., Коваль Г.Н., Калиновский А.К., Пинчук Л.Б., Вембер В.В. Влияние длительного гамма-облучения с низкой интенсивностью дозы на процессы перекисного окисления липидов в структурах ДНК в ядрах лимфоцитов периферической крови крыс // Радиобиол. съезд. – Пущино, 1993. – С. 91.
3. Барабой В.А., Олійник С.А.. Блюм І.О., Корнійчук Г.М., Хмелевський Ю.В. // Динаміка перкисного окислення ліпідів в крові та органах щурів за опромінення в низьких дозах та ефект антиоксидантів // Укр. біохім. журн. – 1994. – № 5. – С. 39-47.
4. Божок О.В. Повреждение внешней мембраны эритроцитов при раздельном и сочетанном действии малых доз внешнего и внутреннего облучения, стресса и их коррекции // III съезд по радиац. исследованиям. – М.: Пущино, 1997. – Т. 1. – С. 348-349.
5. Серкиз Я.И. Особенности биологических эффектов радиации низких интенсивностей // I Всесоюзн. радиобиол. съезд. – Пущино, 1989. – С. 853-854.
6. Volpe P., Parasassi T., Sapora O., Ravagnan G., Eremenko T. Influence of doses of radiation on the DNA double helix, gene expression and membranal state // International J. Radiat. Medicine. – 1999. – 1 (1). – P. 78-89.
7. Виноградова Р.П., Зудина О.Ф. Худякова Е.В. Сравнительные исследования влияния летальной и малых доз ионизирующей радиации на аппарат трансляции биосинтеза белка // III съезд по радиац. исследованиям. – М.: Пущино, 1997. – Т. 1. – С. 108-109.

8. Пилинская М.А. Цитогенетические эффекты в соматических клетках лиц, пострадавших вследствие чернобыльской катастрофы, как биомаркер действия ионизирующих излучений в малых дозах // Междунар. журн. радиац. мед. – 1999. – Т. 2. – № 2. – С. 60-66.
9. Гурин В.Н., Дудина Т.В., Елкина А.И., Кандыба Т.С. Нейромедиаторный баланс в структурах ЦНС при сочетанном воздействии ионизирующей радиации и различных доз ацетата свинца // Радиац. биол. Радиоэкол. – 1993. – Т. 33. – Вып. 2(5). – С. 674-681.
10. Манина А.А. Ультраструктура и цитохимия нервной системы. – М.: Медицина, 1978. – 145 с.
11. Давыдов Б.И., Ушаков И.Б., Федоров В.П. Радиационное поражение головного мозга. – М.: Энергоатомиздат, 1991. – 239 с.
12. Чорна В.І. Динаміка зміни активності цистеінового катепсину L мозку під впливом рентгенівського випромінення // Укр. Радіол. журн.. – 2000. – № 8 – С. 269-271.
13. Чорна В.І. Активність та локалізація цистеінових катепсинів мозку після дії іонізуючої радіації // Нейрофизиология. – 1999. – Т. 31. – № 1. – С. 55-57.
14. Parasassi T., Giusti A., Raimondi M., Ravagnan G., Sapora O. Cholesterol protects the phospholipid bilayer from oxidative damage // Free Radicals Biol. Med. – 1995. – № 19. – P. 511-516.
15. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. Дело. – 1989. – № 7. – С. 8.
16. Колб В.С., Камышникова В.М. Справочник по клинической химии. – Мн.: Беларусь, 1982. – 464 с.
17. Спектор Е.Б., Ананенко А.А., Политова Н.Н. Определение общей антиокислительной активности в плазме и ликворе // Лаб. дело. – 1982. – № 1. – С. 26-28.
18. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – Одесса: ОКФА, 1994. – 415 с.
19. Карягина И.Ю., Зарембский Р.А., Балябина М.Д. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ a_1-антитрипсина и a_2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 1013.
20. Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю., Горобец Н.И. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. – Киев: Морион, 2004. – 160 с.
21. Armstrong D. Free radical in molecular biology aging and disease. – New York: Raven Press, 1984. – Vol. 27. – 540 p.
22. Giulivi C., Boveris A., Cadenas E. Hydroxyl radical generation during mitochondrial electron transfer and the formation of 8-hydroxydesoxyguanosine in mitochondrial DNA // Arc. Biochem. Biophys. – 1995. – № 2. – P. 909-916.
23. Кирпиченок Л.Н., Гидранович Л.Т. Молекулярные механизмы действия гамма-облучения на структуру и функцию белков сыворотки и клуток крови // III съезд по радиационным исследованиям. – М.: Пущино, 1997. – Т. 1 – С. 403.
24. Кирпиченок Л.Н., Калинина А.Л., Митюкова Т.А., Панащенко В.В. Влияние малых доз ионизирующего излучения на систему протеолиза сыворотки крови у пострадавших от аварии на ЧАЭС // III съезд по радиационным исследованиям. – М.: Пущино, 1997. – Т. 1. – С. 208-209.
25. Фетисов И.Н., Кирпиченок Л.Н., Городецкая И.В. Состояние протеолитической системы плазмы крови и мембран эритроцитов крыс после гамма-облучения // III съезд по радиационным исследованиям. – Пущино, 1997. – Ч. 3. – С. 1041.

Рецензенти: Хворостенко М.І., д.м.н., професор;
Томілін Ю.А., д.б.н., професор

© Чорна В.І., Лянна О.Л., 2009

Стаття надійшла: 19.03.2009 р.