

РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНІ ЗМІНИ ВМІСТУ ЛІПІДІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ПІСЛЯ ФРАКЦІОНОВАНОГО ТА ТРИВАЛОГО ОПРОМІНЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ γ -КВАНТАМИ ^{60}Co

Манучехр Ватанха¹, Я. І. Серкіз²

¹Науковий центр радіаційної медицини АМН України, Київ

²Інститут ядерних досліджень НАН України, Київ

Досліджено динаміку, дозові залежності і швидкість зміни вмісту ліпідів (холестерину, тригліцеридів та фосфоліпідів) у плазмі крові щурів Vistar після фракціонованого і тривалого їх опромінення за різної потужності дози у порівнянні із стандартним одноразовим тотальним впливом γ -квантів ^{60}Co . Установлено, що різні режими опромінення тварин приводять до характерних особливостей дозових залежностей радіогенних змін показників. Показано, що фракціоноване опромінення є більш ощадливим для організму, а тривале викликає істотно більші радіаційно-індуковані зміни, ніж одноразова дія радіації. Уперше показано, що на різних ранніх стадіях розвитку реакції організму досліджувані показники є в неоднаковій мірі чутливими до певних доз і режимів опромінення. Це засвідчує, що на окремих стадіях розвитку реакції організму окремі компоненти процесу можуть із різною швидкістю реалізувати свою участь у пероксидації ліпідів.

Ключові слова: γ -кванти ^{60}Co , щури, фракціоноване та тривале опромінення, ліпіди крові.

Вступ

Дія іонізуючого випромінювання на живі істоти ініціює біологічні ефекти різної величини і тривалості, що локалізуються в тих чи інших структурах, системах чи організмі в цілому. За часом реалізація біологічних ефектів може відбуватися безпосередньо після дії радіації, у віддалений термін або в поколіннях опромінених батьків. Етіологія та патогенез конкретних віддалених наслідків опромінення істотно залежать від величини радіочутливості, стану організму й окремих його систем, індивідуальних особливостей та умов існування. Зазначені основні та багато інших чинників урахувати надзвичайно непросто, і тому дослідники, як правило, аналізують статистично усереднені стохастичні чи детерміновані ефекти [1].

Водночас оцінка ранньої реакції організму на радіаційний вплив має певні переваги в плані фундаментального пізнання природи радіаційно-індукованих порушень [2]. У даній роботі для дослідження ранніх радіогенних змін використано такі інтегральні біологічні показники, як вміст основних класів ліпідів у плазмі крові загального холестерину (ЗХ), тригліцеридів (ТГ) і фосфоліпід (ФЛ). Вони, як відомо, є основними учасниками перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і найбільш радіочутливими компонентами мембранної мішені клітин.

Метою роботи є дослідження основної радіобіологічної залежності “доза - час - ефект” і з’ясування особливостей реакції організму лабораторних щурів на різну тривалість опромінення за фракціонованого і тривалого його впливу у порівнянні із стандартним одноразовим зовнішнім впливом радіації.

Основними задачами дослідження були:

1. За тотального зовнішнього опромінення щурів γ -квантами ^{60}Co в діапазоні поглинутих доз ($D_{\text{п}}$) 10 - 600 сГр при трьох режимах експозиції – одноразовому, фракціонованому та тривалому – дослідити динаміку й дозові залежності радіогенних змін вмісту ЗХ, ТГ і ФЛ у плазмі крові (ПК) лабораторних щурів.

2. Виконати порівняльну оцінку біологічної ефективності рідкоіонізуючого випромінювання різної тривалості при його дії на організм тварин за однакових $D_{\text{п}}$ при аналізі динаміки, дозових залежностей і швидкостей змін досліджуваних показників.

3. З’ясувати природу механізму ранньої реакції організму на різні режими його опромінення.

Матеріали та методи

У дослідях використані статевозрілі щурисамці лінії Vistar. Тварин опромінювали тотально γ -квантами ^{60}Co в режимах: фракціонованому в дозах 50 сГр (5 фракцій) і 100 сГр (10 фракцій) при потужності дози (p) 0,2 сГр·хв⁻¹; тривалому – у дозах 50 і 100 сГр при $p = 4 \cdot 10^{-3}$ сГр·хв⁻¹. Стандартним режимом опромінення (група порівняння) слугувало одноразове зовнішнє в дозах 10, 50, 100, 300 і 600 сГр при $p = 10$ сГр·хв⁻¹. Контрольними були інтактні тварини.

Досліджували вміст ліпідів ПК усіх експериментальних груп тварин. Ліпіди екстрагували за методом Фолча з модифікацією [3]. Загальний холестерин визначали за методом [4], тригліцериди – [5] та фосфоліпіди – [6].

Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням прикладних програм Microsoft Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

При всіх використаних у роботі дозах опромінення та термінах спостережень радіаційний фактор призводить до збільшення вмісту ЗХ (рис. 1, а). Динаміка змін має максимум їх значень, який зі збільшенням величини $D_{\text{п}}$ зміщується у більш ранні терміни після опромінення.

Так, при $D_{\text{п}} = 10$ - 50 сГр максимум спостерігається через 24 год, 100 сГр – 12 год, 300 сГр – 4 год, 600 сГр – 2 - 3 год після опромінення. Як правило, після максимального значення показника в подальші терміни вміст ЗХ у ПК зменшується, виняток складає $D_{\text{п}} = 600$ сГр, при якій після відміченого високого значення показника (2 - 3 год) спостерігається майже лінійне його зростання.

Динаміка вмісту ТГ у ПК одноразово опромінених тварин має подібну залежність (див. рис. 1, б) при дещо інших часових екстремальних змінах. Так, при $D_{\text{п}} = 10$ - 50 сГр у межах 30 діб має місце безперервне збільшення величини показника. Це засвідчує, що зазначені дози приводять до більш значимого синтезу ТГ або надходження його до кров'яного току, ніж це характерно для ЗХ. Однак при збільшенні $D_{\text{п}}$ максимум ТГ у ПК спостерігається, але у значно пізніші терміни, ніж для ЗХ.

Порівнюючи отримані дані, слід зауважити, що радіаційна дія у дослідженому діапазоні $D_{\text{п}}$ приводить до більш значимих змін вмісту ТГ, ніж ЗХ у ПК.

Радіогенні зміни вмісту ФЛ у ПК одноразово опромінених тварин мають характерну протилежну залежність (див. рис. 1, в). Спостерігається типове зниження показника з мінімумом його значення при $D_{\text{п}} = 10$ –50 сГр через 24 - 18 год; до 30-ї доби величина показника нормалізується. При $D_{\text{п}} = 100$, 300, 600 сГр мінімум настає відповідно через 18, 12 та 6 год.

Таким чином, встановлено, що з досліджених ліпідів найбільш чутливими до одноразової дії γ -квантів ^{60}Co є вміст ТГ у ПК. Статистично достовірні зміни мають місце уже при дозі 10 сГр. Для ЗХ такі зміни спостерігали при $D_{\text{п}} = 50$ сГр, для ФЛ – при $D_{\text{п}} = 100$ сГр. При $D_{\text{п}}$ менших від зазначених спостерігалася лише тенденція таких змін. Отже, за одноразового зовнішнього опромінення досліджувані класи ліпідів реагують на радіаційний фактор уже в перші години після опромінення.

При зменшенні потужності випромінювань та інших режимах опромінення (фракціоноване і тривале, рис. 2) динаміка вмісту ліпідів у ПК має певні особливості. За цих режимів опромінення

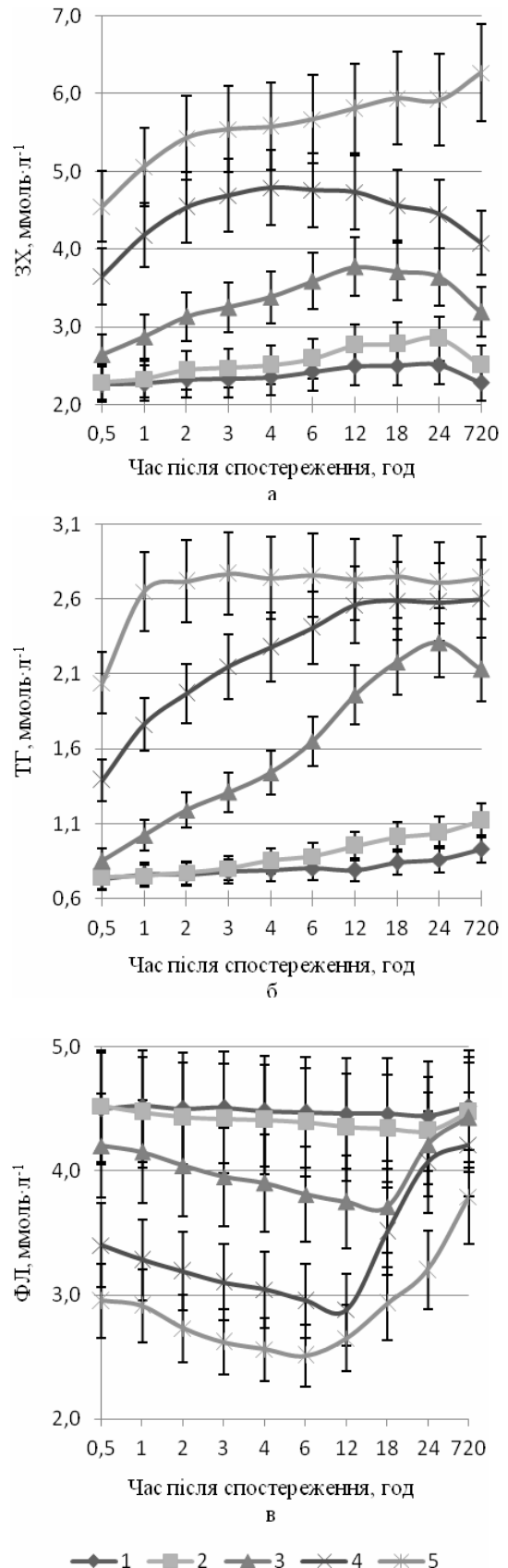


Рис. 1. Динаміка вмісту ЗХ (а), ТГ (б) і ФЛ (в) у плазмі крові щурів після одноразового тотального зовнішнього опромінення їх γ -квантами ^{60}Co (1 – 10 сГр; 2 – 50 сГр; 3 – 100 сГр; 4 – 300 сГр; 5 – 600 сГр).

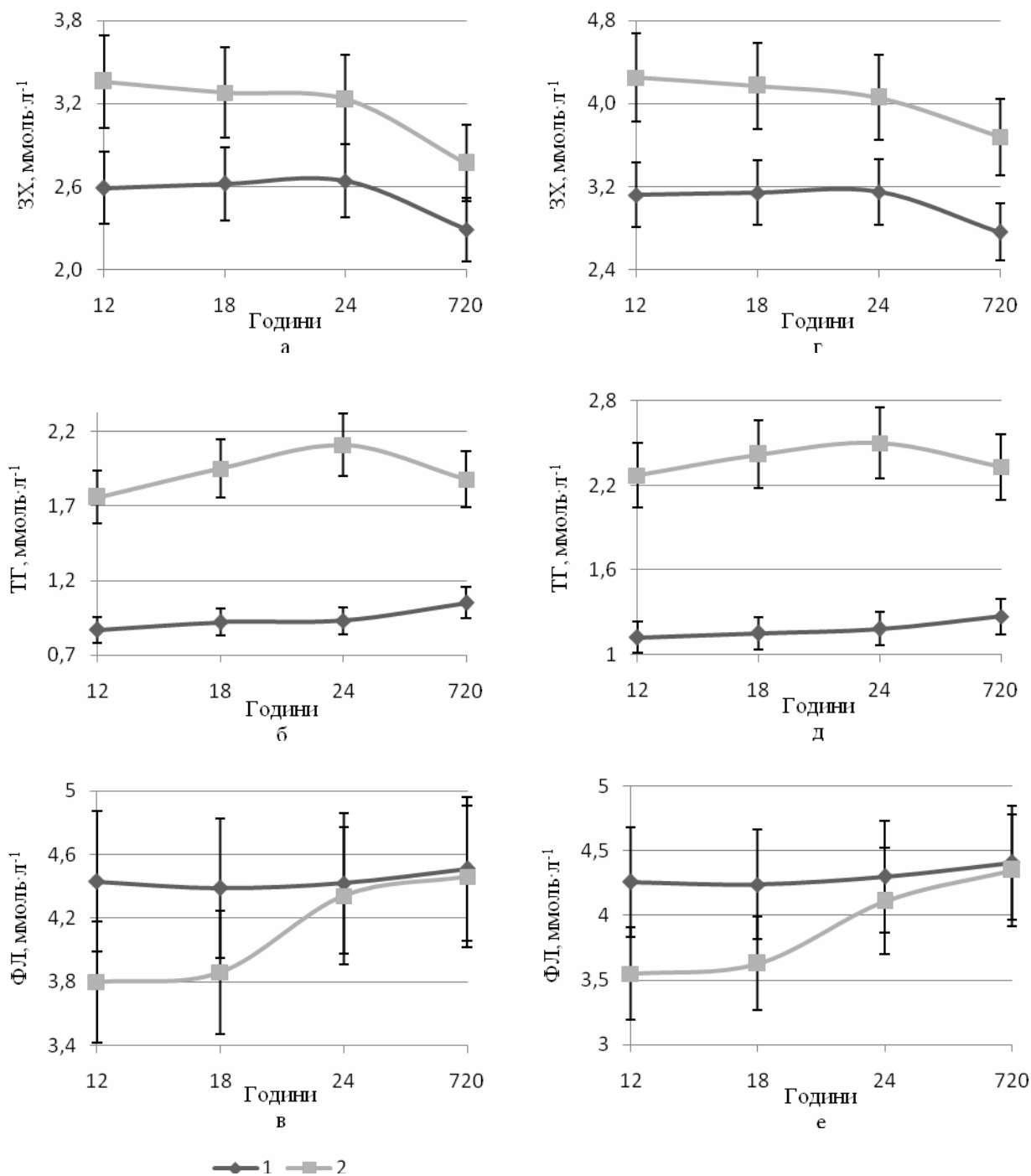


Рис. 2. Динаміка вмісту ЗХ, ТГ та ФЛ у плазмі крові щурів після фракціонованого опромінення їх γ -квантами ^{60}Co (а – ЗХ; б – ТГ; в – ФЛ (1 – 50 сГр; 2 – 100 сГр)) та після тривалого опромінення їх γ -квантами ^{60}Co (г – ЗХ; д – ТГ; е – ФЛ (1 – 50 сГр; 2 – 100 сГр)).

ми наводимо результати досліджень, отримані лише при дозах 50 і 100 сГр, оскільки при менших та більших дозах згідно з прийнятими умовами експерименту дані, на наш погляд, привнесуть похибку, пов'язану з використанням широкого діапазону потужностей радіації, яка буде нелінійною та унеможливить коректний порівняльний аналіз використаних у роботі різних режимів опромінення.

Із даних випливає, що режим опромінення істотно не міняє характер динаміки показників. Разом з тим фракціоноване опромінення при рівних величинах $D_{\text{П}}$ приводить до менших змін вмісту ліпідів у ПК, ніж одноразове опромінення. Як і при одноразовому опроміненні, ТГ залишаються найбільш "реактивним" класом ліпідів, що першими і при менших ДП реагують на радіаційний фактор.

Тривале (безперервне) опромінення тварин ініціює більші зміни вмісту ЗХ, ТГ і ФЛ у ПК, ніж одноразове при таких же величинах $D_{\text{п}}$. Характер динаміки змін, як було вказано, при цьому не міняється. Цей висновок зроблений уперше, що має надзвичайно важливе фундаментальне значення та практичне втілення при інтерпретації радіобіологічних ефектів. Суть його заключається в тому, що зниження інтенсивності випромінювання (збільшення експозиції) при рівних $D_{\text{п}}$ може викликати збільшення радіогенних змін досліджуваних класів ліпідів у ПК.

Установлено, що фракціоноване опромінення є більш ощадливим, ніж одноразове в плані величини порушень основної ланки системи “ліпіди – ПОЛ - антиокиснювальний захис”, а саме вміст і співвідношення ліпідів ПК експонованих тварин.

За всіх режимів опромінення спостерігалися типові дозові залежності вмісту ліпідів у ПК. За одноразового зовнішнього опромінення (рис. 3) для ЗХ притаманним є різке зростання залежності при $D_{\text{п}} = 10 - 100$ сГр із максимальним градієнтом при 50 - 100 сГр. Збільшення $D_{\text{п}}$ приводить до лінійної залежності показника. Загалом у терміни спостереження дозові залежності близькі до S-подібної класичної кривої, зокрема на стадії активного розвитку ефекту (4 год після опромінення). У подальші екстремальні терміни розвитку динаміки зміни показника в діапазоні $D_{\text{п}} = 10 - 100$ сГр залежність наближається до лінійної зі збільшенням коефіцієнта швидкості радіогенних змін показника $K_{\text{ЗХ}}$ (тангенс кута нахилу дотичної до динамічної кривої в певній її точці на стадії максимального розвитку ефекту: для ЗХ – 1÷2 год після дії радіації).

Дозова залежність коефіцієнта швидкості радіогенного збільшення ЗХ у ПК є лінійною для діапазону $D_{\text{п}} = 50 - 600$ сГр, у межах яких $K_{\text{ЗХ}}$ має незначний ріст від величини дози. Дозова залежність самої швидкості збільшення вмісту ЗХ у ПК на 1 сГр $v_{\text{ЗХ}}$ ($v_{\text{ЗХ}} = 10^3 \frac{K_{\text{ЗХ}}}{D_{\text{п}}}$) має чіткий лінійний характер у діапазоні доз 10 - 300 сГр з порушенням його при більших дозах радіації (рис. 4, а).

Порушення лінійності дозової залежності ЗХ при дозах, більших за 300 сГр, очевидно, пов'язане зі значними радіогенно детермінованими структурними пошкодженнями та критичними змінами співвідношень учасників клітинного метаболізму. Порівняльний аналіз дозових залежностей вмісту ліпідів за трьох режимів опромінення проводили (рис. 5) при двох термінах спостереження: 12 год та 30 діб після закін-

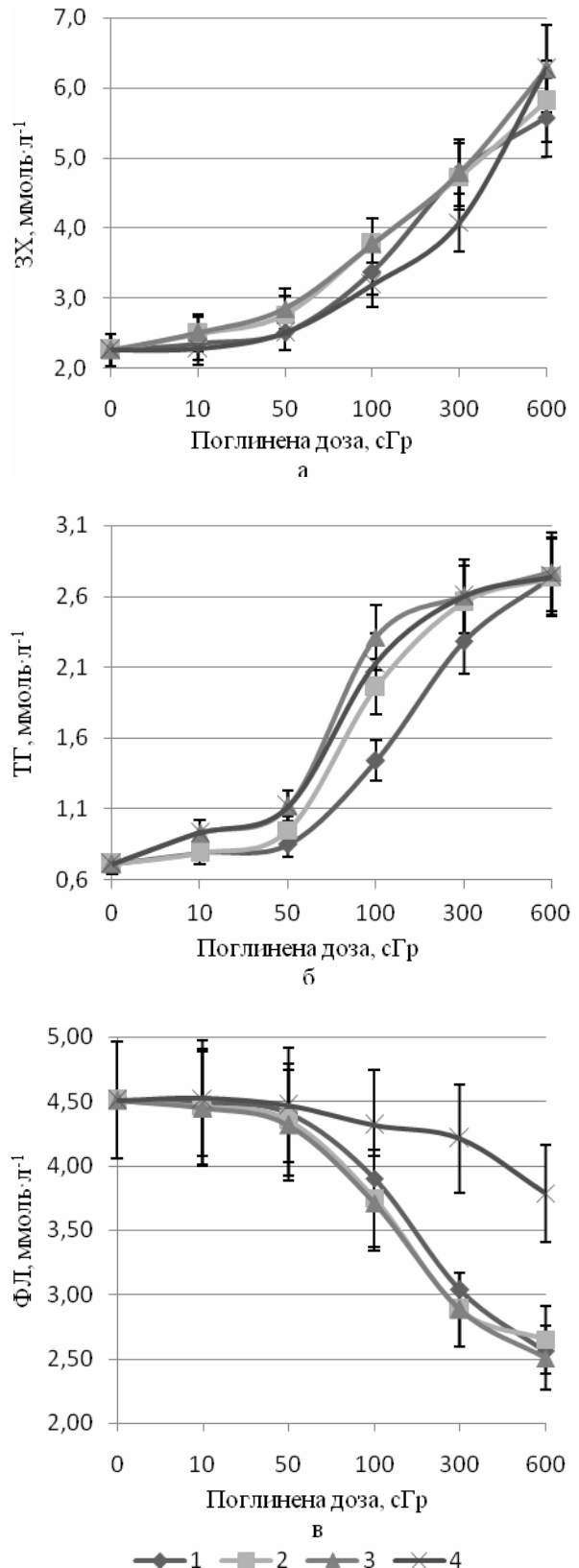


Рис. 3. Дозові залежності вмісту ЗХ (а), ТГ (б), ФЛ (в) у плазмі крові щурів після одноразового зовнішнього опромінення їх γ -квантами ^{60}Co на стадіях: 1 – активного розвитку ефекту (4 год); 2 – сформованої реакції (12 год); 3 – на максимумі; 4 – на кінцевому етапі ефекту (720 год).

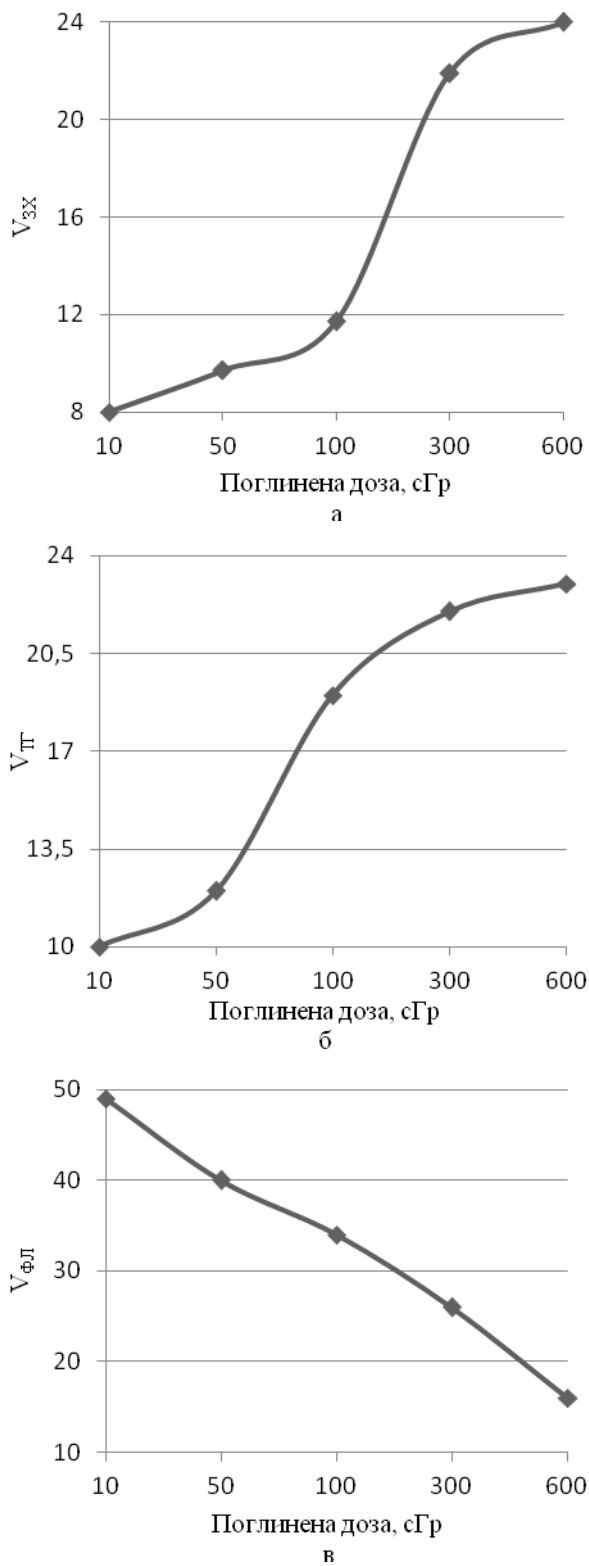


Рис. 4. Дозова залежність швидкості радіогенного збільшення вмісту ЗХ (а), ТГ (б), ФЛ (в) у плазмі крові щурів на 1 сГр поглиненої дози на стадії максимального розвитку ефекту (1 - 2 год) після одноразового тотального опромінення їх ^{60}Co .

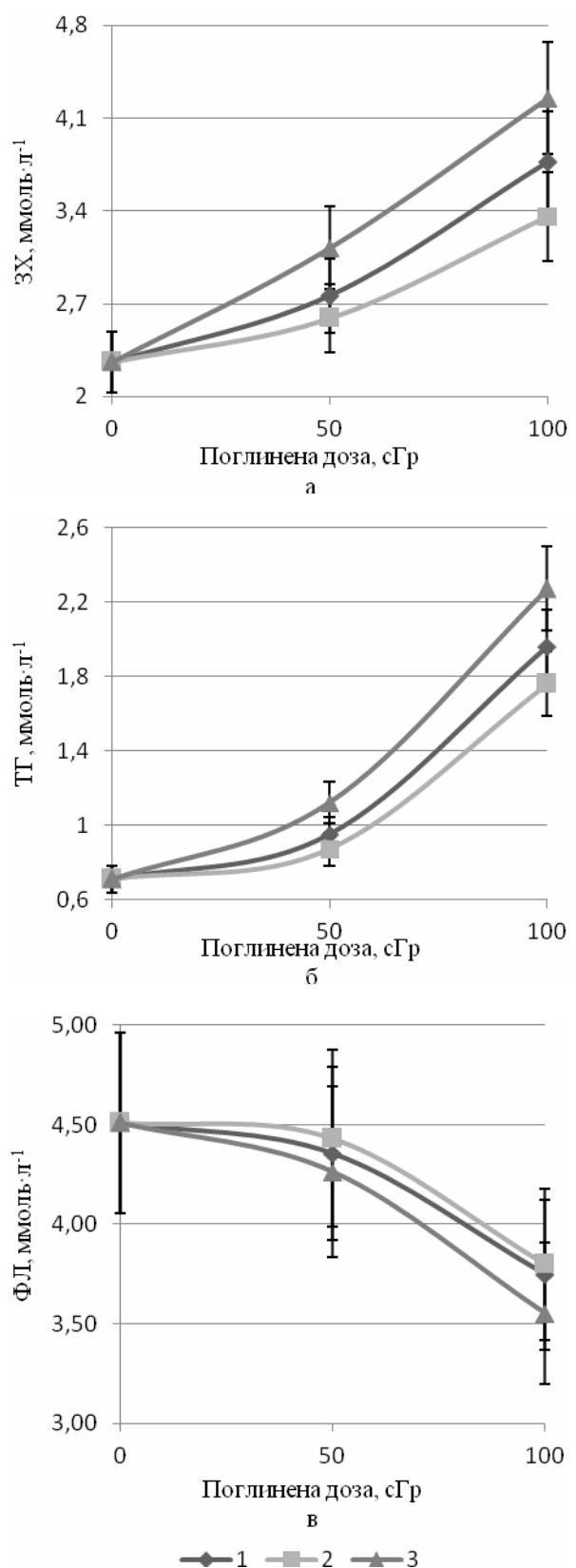


Рис. 5. Дозові залежності вмісту ЗХ (а), ТГ (б), ФЛ (в) у плазмі крові щурів через 12 год після закінчення одноразового (1), фракціонованого (2) та тривалого (3) опромінення їх γ -квантами ^{60}Co .

чення опромінення, вважаючи, що 12 год за нашими даними – це термін завершення формування ефекту переважно за всіма показниками, що вивчалися; 30 діб – класичний термін для дрібних лабораторних тварин, при досягненні якого завершується перебіг ранніх критичних реакцій радіогенної природи на рівні окремих систем організму, що вирішує в подальшому долю організму як цілого.

Через 12 год після закінчення опромінення дозові залежності вмісту ЗХ у ПК у межах $D_{\text{п}} \leq 100$ сГр має слабо залежну експоненційну форму. Для фракціонованого режиму спостерігається більш виражена експонента. При тривалому опроміненні має місце прямо пропорційна залежність.

Дозова залежність вмісту ТГ у ПК на основних екстремальних стадіях динаміки має наступні особливості. На стадії інтенсивного розвитку процесу (4 год після радіаційної дії) при дозах 10 - 100 сГр залежність є S-подібною, на кінцевому етапі залежність наближається до лінійної. За більших доз (100 - 200 сГр) має місце прямо пропорційна залежність. Як і для ЗХ коефіцієнту $K_{\text{ТГ}}$ притаманна лінійна залежність.

Дозова залежність $v_{\text{ТГ}}$ на 1 сГр ДП (див. рис. 4, б) вказує на наявність чітких двох етапів розвитку та формування ефекту.

Порівняльний аналіз дозових залежностей вмісту ТГ у ПК при різних режимах опромінення вказує на сильно виражений експоненційний їх характер (див. рис. 5, б). Тривале опромінення із меншою потужністю дози є більш ефективним за одноразове. Водночас фракціоноване викликає менші ефекти збільшення ТГ у ПК.

Дозова залежність вмісту ФЛ у ПК за одноразового опромінення (див. рис. 5, в) також відповідає двом етапам розвитку процесу: низькі дози (10 - 50 сГр) викликають незначне зниження показника, більші (100–600 сГр) формують експоненційну залежність при всіх термінах спостереження. Винятком є лінійний характер залежності тільки на кінцевому етапі спостережень (720 год) після опромінення при усіх досліджуваних $D_{\text{п}}$.

На стадії максимального розвитку ефекту (1 - 2 год після опромінення) дозова залежність $K_{\text{ФЛ}}$ є експоненційною при усіх $D_{\text{п}}$. Залежність $v_{\text{ФЛ}}$ має експоненційний характер при $D_{\text{п}} = 10 - 100$ сГр та лінійний при $D_{\text{п}} = 100 - 600$ сГр. Це вказує на більшу "радіочутливість" показника за менших доз радіації.

На стадії сформованості реакції (12 год) дозові залежності вмісту ФЛ у ПК при різних режимах опромінення тварин мають типовий характер.

Як і для ЗХ та ТГ, для ФЛ притаманними є більш виражені променеві реакції у варіанті тривалого опромінення тварин у порівнянні з одноразовим.

Через 30 діб після закінчення опромінення дозові залежності вмісту ФЛ у ПК мають обернено пропорційний вигляд. На даній стадії розвитку ефекту він слабо залежить від режиму опромінення. При тривалій експозиції тварин у порівнянні з одноразовою дією радіації спостерігається лише тенденція до його збільшення.

Отримані нами результати досліджень основних класів ліпідів у ПК за тотального зовнішнього одноразового режиму опромінення тварин збігаються з отриманими даними інших дослідників [7]. Це засвідчує правомірність використання даного методичного підходу для оцінки динаміки і дозових залежностей радіогенних змін досліджуваних біологічних показників. З іншого боку, ці дані становлять надійну базову основу для дослідження впливу фракціонованого і тривалого опромінення тварин, що й було основною метою даної роботи. А використання одноразового опромінення (група порівняння) розглядається нами як можливість отримання вихідних даних для визначення величини ефектів за тривалого та фракціонованого опромінення.

Результати досліджень, виконаних за даних умов опромінення, мають важливе значення для фундаментальної радіобіології. Вони отримані вперше й аналогів не мають.

Висновки

1. Одноразове тотальне опромінення щурів лінії Vistar γ -квантами ^{60}Co приводить до характерних змін динаміки і дозових залежностей вмісту ліпідів у ПК. Відзначається збільшення ЗХ і ТГ із типовим максимумом змін, місцезнаходження якого для ЗХ на часовій осі є змінним і залежить від величини $D_{\text{п}}$ – з її збільшенням зміщується в більш ранні післярадіаційні терміни. Для ТГ місцезнаходження максимуму не залежить від величини $D_{\text{п}}$ і відзначається через 1 добу після опромінення. Вміст ФЛ у ПК змінюється інфазно й має мінімум, який зі збільшенням дози зміщується в більш короткі терміни.

2. Найбільш чутливими до одноразової дії радіації виявилися зміни вмісту ТГ у ПК, що реєструються вже при 10 сГр. Менш чутливими були зміни ЗХ у ПК. Мінімальною дозою, що викликає статистично достовірну різницю показника, є 50 сГр. Найбільш резистентними виявився вміст ФЛ у ПК (мінімальною дозою є 100 сГр).

3. Фракціоноване та тривале опромінення тварин якісно не міняють характер динаміки вмісту ліпідів у ПК, але перші при рівновеликих

Д_п приводять до зниження ефекту, другі – до його збільшення в порівнянні з одноразовою дією радіаційного чинника.

4. Дозові залежності досліджуваних показників мають характерні особливості. Як правило, на стадії активного розвитку ефекту (перші години після опромінення) вони мають класичний S-подібний вигляд, на пізній стадії розвитку ефекту залежності трансформуються до експоненційної форми кривих. Для ТГ і ЗХ характерним є те, що при Д_п > 150 сГр дозові залежності наближаються до лінійних.

5. Швидкість зміни вмісту різних ліпідів на одиницю Д_п має якісні та кількісні особливості. Ця величина в широкому діапазоні Д_п є змінною. Кожен клас ліпідів має індивідуальні особливості й характер динаміки та дозових залежностей.

6. Результати досліджень засвідчують зниження біологічної ефективності фракціонованого режиму опромінення та збільшення її за тривалого режиму в порівнянні з одноразовим зовнішнім опроміненням тварин.

7. Припускається, що різні режими опромінення на окремих стадіях розвитку ефектів проявляють неоднакову ефективність щодо величи-

ни й характеру радіогенних змін складових ліпідів. До завершального етапу формування ефекту (30 діб після радіаційного впливу) включаються різні механізми, у тому числі адаптивні реакції, що частково компенсують започатковані порушення. Тому дозові залежності на цьому етапі можуть істотно відрізнятися від тих, що мають місце для попередніх стадій розвитку ефектів.

8. Дозові залежності вивчених показників, їх характер, особливості форм кривих, що притаманні різним стадіям розвитку і формування ефектів за фракціонованою і тривалою дією зовнішнього опромінення, отримані нами вперше. Вони показують, що за даних умов опромінення окремі показники в різній мірі є чутливими до певних доз радіаційного фактора. Тому в сумарному ефекті, що спостерігається в певні терміни, різні компоненти процесу можуть не повністю реалізувати свої зміни, а тільки частково. Максимально можлива реалізація цих змін може здійснитися також на більш ранніх або пізніших стадіях розвитку ефекту. Недоврахування цього може бути причиною некоректного розуміння ролі окремих учасників процесу ПОЛ у розвитку радіогенних ефектів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Серкіз Я. І., Пинчук В. Г., Пинчук Л. Б. и др. Радиобиологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС. - К.: Наук. думка, 1992. - 172 с.
2. Природа та закономірності радіаційного канцерогенезу / А. І. Липська, Я. І. Серкіз // Зб. наук. праць Ін-ту ядерних дослід. - 2004. - № 2(13). - С. 114 - 121.
3. Кейтс М. Техника липидологии. - М.: Мир, 1975. - 214 с.
4. 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, No. 2. - P. 357 - 366.
5. Carlson L. A. Determination of serum triglycerides // Atherosclerosis Res. - 1963. - Vol. 3. - P. 334 - 336.
6. Vaskovsky V. E., Svetashev V. I. Phospholipid spray reagents // J. Chromatogr. - 1972. - Vol. 65. - P. 451 - 453.
7. Липська А. І. Дозоутворення, природа ранніх та ризики віддалених ефектів у тварин за тривалою дією радіонуклідів чорнобильського викиду: Автореф. дис. ... докт. біол. наук. - К., 2008. - 44 с.

РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОСЛЕ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО И ДЛИТЕЛЬНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС γ -КВАНТАМИ ^{60}Co

Манучехр Ватанха, Я. И. Серкіз

Установлено, что разные режимы облучения крыс приводят к характерным особенностям динамики и дозовых зависимостей радиогенных изменений содержания липидов в плазме крови. Показано, что фракционированное облучение является более щадящим для организма, а длительное вызывает существенно большие радиационно-индуцированные изменения, чем однократное действие радиации. Впервые установлено, что на разных стадиях развития реакции организма исследуемые показатели содержания липидов проявляют неодинаковую чувствительность к определенным дозам и способам облучения. Это свидетельствует о том, что на разных стадиях реакции организма отдельные ее компоненты могут с различной скоростью реализовывать свое участие в перекисидации липидов.

Ключевые слова: γ -кванты ^{60}Co , крысы, фракционированное и длительно облучение, липиды крови.

**RADIOLOGICALLY INDUCED CHANGES OF LIPIDE CONTENT IN BLOOD PLASMA,
AFTER FRACTIONAL AND PROLONGED IRRADIATION OF LABORATORIAL RATS
BY γ -QUANTUMS ^{60}Co** **Manouchehr Vatankhah, Y. I. Serkiz**

It is discovered that different forms of rat irradiation leads to typical features in dynamic and portioned dependencies of radiogenic changes of lipids content in blood plasma. It is shown that fractional irradiation is more spareful to organism, and prolonged will call significantly more radiologically initiated changes, than one-time irradiation. It is set for the first time that on different stages of organism reaction development, examined variables of lipids content, showed different sensitivity to specific doses and forms of irradiation. This testifies that on different stages of organism reaction different components can implement their participation in lipids peroxyding with different speed.

Keywords: γ -quantum ^{60}Co , rats, fractioned and prolonged irradiation, blood lipids

Надійшла до редакції 28.09.09,
після доопрацювання - 10.11.09.