

## ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ОПРОМІНЕННЯ

Г. Я. КЛЕВЕТА, Я. П. ЧАЙКА, Л. О. ДАЦЮК, У. В. СТАРАНКО

Львівський національний університет ім. Івана Франка

*Встановлено активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) при впливі хронічного рентгенівського випромінювання у щодобовій дозі 1 сГр у лімфоцитах, цільній крові та клітинах кісткового мозку щурів (еритроїдний та гранулоцитарно-моноцитарний ряди). За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу проаналізовано кількісні та якісні зміни вмісту ТБК-позитивних продуктів системи крові щурів при дії низькоінтенсивного опромінення. Показано, що у клітинах кісткового мозку та цільній крові домінуючою є частка впливу радіації на 20 - 30-та доби (20 - 30 сГр), а у лімфоцитах – на 10-ту добу (10 сГр).*

**Ключові слова:** НИЗЬКОІНТЕНСИВНЕ ОПРОМІНЕННЯ, СИСТЕМА КРОВІ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, ТБК-ПОЗИТИВНІ ПРОДУКТИ.

Аналіз даних літератури щодо дії малих доз радіації на живі організми, вказує на те, що більшість ефектів зумовлено не прямою дією іонізуючого опромінення, а опосередкованою, шляхом посилення окиснювального катаболізму складних органічних структур, зміну імунного та антиоксидантного статусу [1, 6, 13, 14]. Ключова роль у дослідженні цих змін належить визначенню рівня ліпідних маркерів оксидативного стресу - продуктів ПОЛ у крові та тканинах тварин.

Найвні в літературі дані щодо радіаційного впливу на стан пероксидації ліпідів в організмі тварин є досить суперечливими [2, 3, 12]. Залежно від виду та потужності випромінювання, дози, часу, що минув після опромінення, радіочутливості клітин, характер порушень може бути різноспрямованим. Зокрема, зі зменшенням інтенсивності випромінювання, зростає ймовірність пошкодження мембранних структур [7, 13].

Визначення вмісту ТБК - позитивних продуктів у крові і тканинах тварин за хронічної дії іонізуючої радіації низької потужності є високоінформативним і дає уяву про перебіг процесів ПОЛ у динаміці. Однак, у доступній нам літературі ми не знайшли робіт, які присвячені з'ясуванню кількісної оцінки дії даного чинника на процеси ПОЛ в організмі тварин.

Мета роботи – дослідити інтенсивність накопичення ТБК - позитивних продуктів у клітинах кісткового мозку, лімфоцитах та периферійній крові щурів за умов хронічного рентгенівського опромінення і за допомогою дисперсійного аналізу оцінити частку його впливу на різних стадіях експерименту.

### Матеріали і методи

Досліди проведені на білих безпородних щурах масою тіла 150 - 180 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. У процесі досліджень використано 52 тварини, які були розподілені на 2 групи: перша – інтактні тварини (контроль); друга – щури, яких впродовж 30-ти діб опромінювали у дозі 1 сГр на апараті РУМ-17 (шкірно-фокусна відстань 178 см, напруга 110 кВ, сила струму 4 мА, потужність дози – 0,042 мГр·с<sup>-1</sup>). Дозу опромінення контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина). Для дослідження використовували зразки кісткового мозку і кров тварин на 10 -, 20 - та 30-ту доби експерименту (сумарна доза становила відповідно 10, 20 та 30 сГр).

Клітини кісткового мозку виділяли зі стегнових та гомілкових кісток шляхом аспірації. Фракціонування суспензії клітин кісткового мозку здійснювали центрифугуванням у тришаровому градієнті густини фікол – верографіну (Ficoll-400, "Pharmacia", Швеція; Verografin, "Spofa", Чехія) ( $\rho_1 = 1,03 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ ;  $\rho_2 = 1,09 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ ;  $\rho_3 = 1,1 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ ) [10]. У

дослідженнях використовували лізати фракціонованих клітин кісткового мозку, для одержання яких цілісні клітини руйнували шляхом заморожування у рідкому азоті.

Лімфоцити периферійної крові виділяли використовуючи суміш філол – тріомбразу (густина суміші повинна бути в межах 1,076 - 1,078) [8]. Вміст ТБК - позитивних продуктів визначали за інтенсивністю забарвлення кінцевих продуктів ПОЛ у результаті реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [11]. Концентрацію білка визначали спектрофотометрично за Lowгі О. Н. [15]. Статистичне опрацювання результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [5]. Однофакторний дисперсійний аналіз виконували на комп'ютері з використанням прикладної програми "Microsoft Excel 98".

### Результати й обговорення

Відомо, що у разі радіаційного впливу величина дози та інтенсивність променевого навантаження мають вирішальне значення для виникнення змін у системі прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин [7].

Проведені нами дослідження показали, що при хронічному опроміненні у щодобовій дозі 1 сГр має місце дозозалежне підвищення вмісту ТБК - позитивних продуктів у кістковому мозку та периферійній крові (табл.).

Таблиця

#### Вміст ТБК - позитивних продуктів у кістковому мозку та крові щурів у разі опромінення ( $M \pm m$ , $n = 4 - 6$ )

Тип клітин	Контроль	Опромінення, сГр		
		10	20	30
Гранулоцитарно-моноцитарний ряд, $\text{нмоль} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка	$8,5 \pm 0,6$	$10,5 \pm 3,1$	$28,0 \pm 2,0^*$	$38,1 \pm 1,9^*$
Еритроїдний ряд, $\text{нмоль} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка	$4,6 \pm 0,5$	$7,1 \pm 1,4$	$26,0 \pm 3,4^*$	$14,0 \pm 1,2^*$
Лімфоцити, $\text{нмоль} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка	$11,4 \pm 1,7$	$21,7 \pm 1,7^*$	$18,2 \pm 3,1$	$7,9 \pm 0,3^*$
Кров, $\text{нмоль} \cdot \text{мл}^{-1}$	$295,1 \pm 22,7$	$451,1 \pm 28,3^*$	$584,6 \pm 20,1^*$	$669,3 \pm 10,9^*$

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ).

Оцінка інтенсивності вільнорадикальних процесів у досліджуваних об'єктах свідчить про вищий їх рівень у кістковому мозку. Оскільки у багатоклітинному організмі стійкість клітинних популяцій до дії опромінення у різних тканинах є неоднакова, променевого ураження насамперед зазнають радіочутливі клітини, яким властива висока проліферативна активність. Порівняльний аналіз вмісту ТБК-позитивних продуктів у фракціонованих клітинах кісткового мозку дає змогу зробити висновок про більшу чутливість клітин еритроїдного, ніж гранулоцитарно-моноцитарного ряду до хронічного опромінення у дозах 10 -30 сГр.

З метою кількісної оцінки впливу іонізуючого випромінювання на стан системи ПОЛ крові щурів було проведено однофакторний дисперсійний аналіз, результати, якого представлені на рис. 1 і 2.

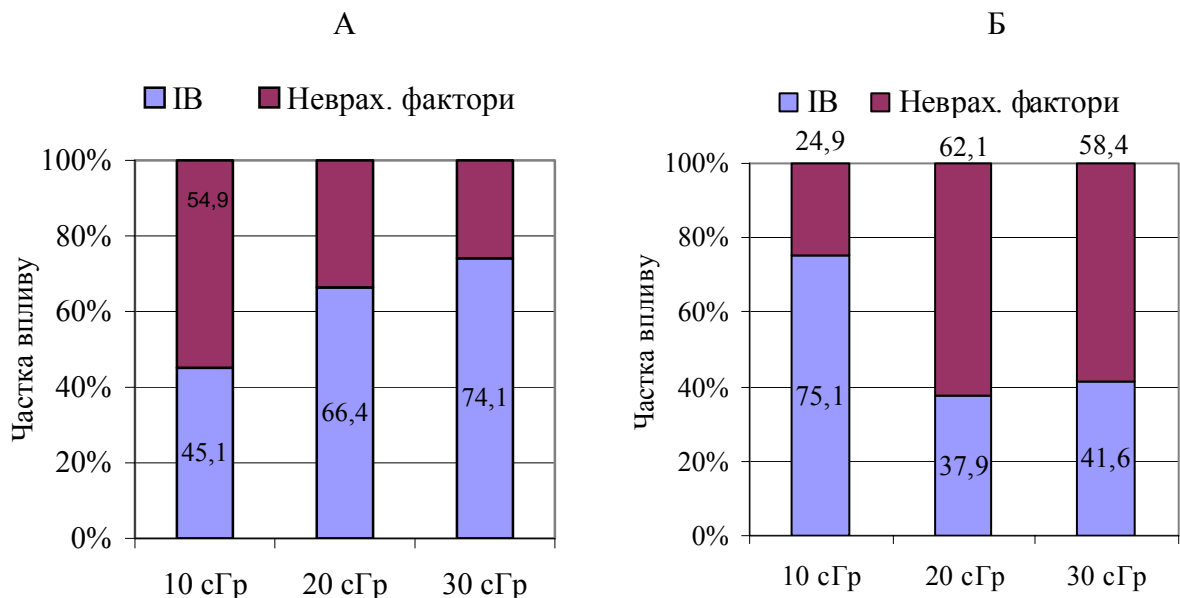


Рис. 1. Однофакторний дисперсійний аналіз впливу хронічного рентгенівського випромінювання на інтенсивність накопичення ТБК-позитивних продуктів у цільній крові (А) та лімфоцитах (Б) щурів

На основі отриманих даних зроблено висновок про дозозалежне зростання частки впливу іонізуючого випромінювання на інтенсивність накопичення ТБК-позитивних продуктів у цільній крові (рис. 1А) та клітинах кісткового мозку щурів (рис. 2В, 2Г) впродовж експерименту.

В лімфоцитах найбільшою є частка впливу іонізуючого випромінювання на 10 -ту добу, при дозі опромінення 10 сГр (рис. 1Б). За доз 20 – 30 сГр внесок радіаційного впливу знижується, ймовірно за рахунок посилення впливу неврахованих факторів (рис. 1Б).

Домінуючою є частка впливу низькоінтенсивного опромінення у клітинах гранулоцитарно-моноцитарного й еритроїдного рядів кісткового мозку та у цільній крові щурів за дози 20 - 30 сГр, а у лімфоцитах – 10 сГр.

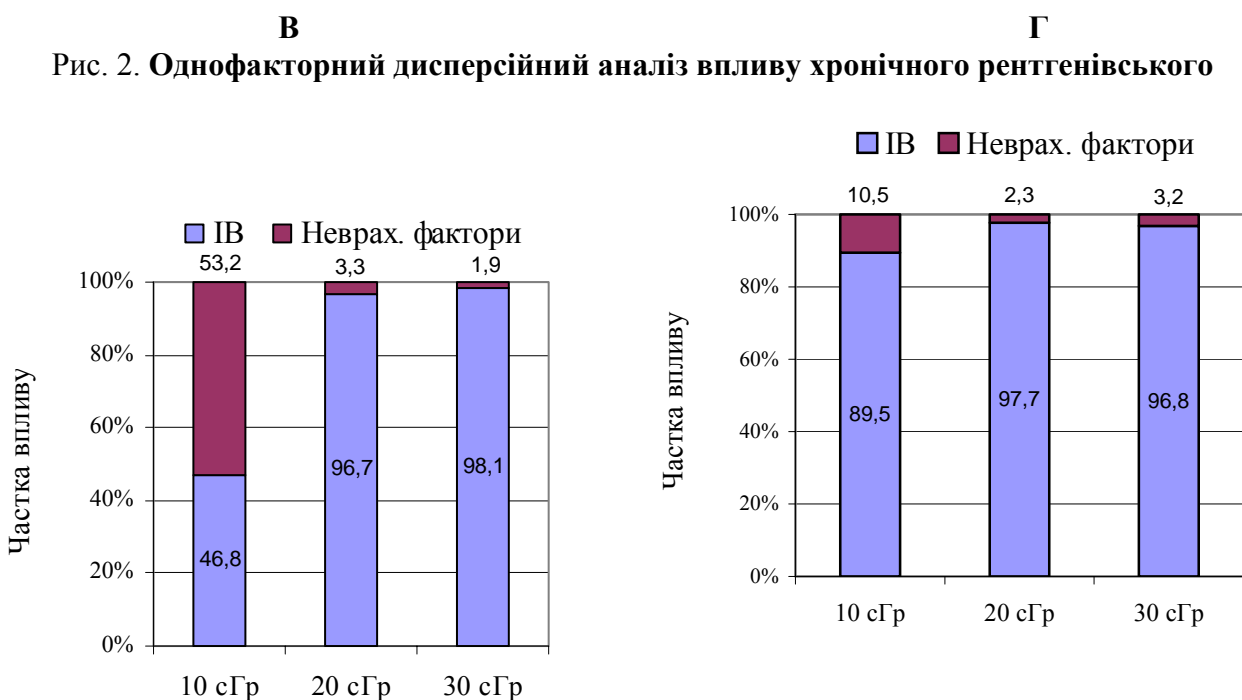


Рис. 2. Однофакторний дисперсійний аналіз впливу хронічного рентгенівського

## випромінювання на інтенсивність накопичення ТБК-позитивних продуктів у клітинах гранулоцитарно-моноцитарного (В) та еритроїдного (Г) рядів кісткового мозку щурів

Таким чином, максимальне накопичення ТБК-позитивних продуктів у кістковому мозку та периферійній крові щурів на термінальних стадіях радіаційного впливу та у лімфоцитах – на ранніх стадіях опромінення, ймовірно, обумовлено високою часткою впливу опромінення, на фоні зниження вкладу неврахованих чинників.

*H. Ya. Kleveta, Ya. P. Chayka, L. O. Datsyuk, U. V. Staranko*

### RESEARCH OF THE INTENSITY OF PEROXIDATION OF THE LIPIDS OF THE BLOOD IN RATS DURING LOW INTENSITY X-RAY IRRADIATION

#### Summary

Activating of processes of lipid peroxidation in lymphocytes, whole blood and marrow cells (erythroid and granulocytic-monocytic cell population) of rats under the influence of chronic X-ray irradiation in the everyday dose of 1 sGy has been established.

With the help of the single-factor variance analysis the quantitative and qualitative changes in the content of ТБК-positive products of the blood system of the rats under the influence of low intensity X-ray irradiation have been analyzed. It has been represented that it is the particle of influencing of radiation that has been dominant in the marrow cells and whole blood of rats on the 20<sup>th</sup> – 30<sup>th</sup> days (20 – 30 sGy), and in lymphocytes it has been dominant on the 10<sup>th</sup> day (10 sGy).

Ivan Franko National University of Lviv

1. *Афонина Г. Б., Куюн Н. А.* Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. К.: НАН Украины. – 2000. – 258 с.
2. *Барабой В. А., Олійник С. А., Хмелевський Ю. В.* Прооксидантна ланка окислювального гомеостазу за малих доз іонізуючої радіації та низької інтенсивності // Укр. біохим. журн. – 1994. – Т. 66, № 3. – С. 3 – 15.
3. *Барабой В. А., Олейник С. А., Блюм И. А., Хмелевский Ю. В.* Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз у морских свинок после фракционированного рентгеновского облучения в малых дозах и коррекция его нарушений антиоксидантным комплексом // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1994. – Т. 34. – Вып. 2. – С. 240 – 245.
4. *Верніковська Я. І., Старикович Л. С., Виговська Т. В., Бесерріль А. Г., Клевета Г. Я.* Дослідження активності ферментів антиоксидантної системи еритроцитів та кісткового мозку щурів за умов низькоінтенсивного рентгенівського опромінення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2002. – вип. 28. – С. 34 – 40.
5. *Гумецький Р. Я., Паляниця Б. М., Чабан М. Є.* Математичні методи в біології: теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести. – Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2004. – 112 с.
6. *Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б.* Окислительный стресс. - М.: Наука / Интерпериодика, 2001. – 343 с.
7. *Котеров А. Н.* Молекулярно-клеточные закономерности обуславливающие эффекты малых доз ионизирующих излучений // Мед. радиол. и радиац. безопасность. – 2000. – №5. – С. 5 – 20.
8. *Лаповець Л. Є., Луцик Б. Д.* Посібник з лабораторної імунології. Львів, 2002, 173 с.
9. *Михайлов В. Ф., Мазурик В. К., Бурлакова Е. Б.* Сигнальные молекулы продуцируемые клетками в окислительно-восстановительных реакциях: участие в процессах адаптации и развитии радиационного эффекта, влияние антиоксидантов // VII Междунар. конф. "Биоантиоксидант" – Москва. – 2002. – С. 395 – 656.
10. *Сибирная Н. А., Сухомлинов Б. Ф., Хмель М. В.* Метод фракционирования клеток костного мозга в градиенте смесей фикола и верографина // Лаб. дело. – 1991. – № 4. – С. 24 – 25.
11. *Тимирбулатов Р. А., Селезнев Е. И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209 – 211.

12. *Burlakova E. B.* New aspects of regularities in the action of low doses of low-level irradiation. In *Low doses of radiation; are they dangerous*. Ed E. B. Burlakova. N. Y.: Nova Science Publishers, Inc. Huntington, 2000. Ch. 1. P. 1 – 14.
13. *Eidus L. Kh.* The primary targets for ionizing radiation in low dose effects initiation are not DNA but the cellular membranes // *Low Doses of Radiation: Are they Dangerous*. Chapter 16. N.Y.: Nova Science Publishers. Inc. – 2000. – P. 255 – 266.
14. *Eidus L. Kh.* Hypothesis regarding a membrane-associated mechanism of biological action due to low dose radiation // *Radiat. Environ. Biophysics*. – 2000. – Vol. 39. – P. 189 – 195.
15. *Lowry O. H., Rosenbraugh M. J., Pori A. L.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265 – 275.