DOI: 10.21870/0131-3878-2017-26-4-111-123

Влияние ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы на состояние тиолдисульфидной системы и липидных антиоксидантов в плазме крови

Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (ИБХФ РАН), Москва

Изучение механизмов неспецифической резистентности организма к воздействию неблагоприятных факторов, одним из которых является ионизирующее излучение с низкой мощностью дозы, представляет большой интерес. В статье проведен анализ состояния окислительно-восстановительной системы глутатиона (GSH, GSSG) и незаменимых липидных антиоксидантов (витаминов Е и А) в плазме крови людей, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения низкой мощности дозы в отдаленные сроки (4-5-6-7 и 20 лет) после чернобыльской аварии. При облучении в малых дозах (от 0,1 до 20 сЗв) происходит увеличение водо- и гидрофобных антиоксидантов в плазме крови людей разных возрастов. С увеличением дозы (от 20 до 150 сЗв) наблюдается снижение GSH, повышение GSSG и липидных антиоксидантов (АО). Обнаружено, что при облучении людей разных возрастов исследуемые системы отвечают по-разному на действие малых и больших доз излучения низкой мощности. Эти эффекты в области малых доз могут превышать эффекты больших доз излучения, что можно объяснить повышением чувствительности этих систем к действию ионизирующего излучения в результате нарушения регуляторных связей в процессах, протекающих с участием свободных радикалов. Изменение в соотношении восстановленной и окисленной форм глутатиона в результате увеличения содержания GSH (биомаркера «вреда») в плазме крови может оказаться критическим при трансформации антиоксидантных свойств глутатиона на прооксидантные.

Ключевые слова: *восстановленный глутатион; окисленный глутатион; тиолдисульфидное отношение; витамин Е; витамин А; плазма крови; лимфоциты; ¹³⁷Cs; малые мощности дозы ионизирующего излучения; население, проживающее на загрязнённых территориях; ликвидаторы; мыши.*

Введение

Выброс радиоактивных веществ в окружающую среду в результате аварии на Чернобыльской АЭС привёл к радиоактивному загрязнению большой территории проживания и к хроническому облучению населения в малых дозах. Одной из актуальных проблем радиобиологии и радиозологии является биологические эффекты действия малых доз облучения. Показана высокая относительная эффективность низких мощностей доз в области малых доз радиации [1]. Кроме того, отмечают усиление мутационных процессов в различных клетках и тканях и стимуляцию канцерогенеза в ответ на действие низких доз радиации [2]. Мутагенез сопровождается нестабильностью хромосомного аппарата клеток различных тканей и дестабилизацией генома. В мутагенезе клеток млекопитающих и человека существенная роль принадлежит структурным повреждениям хромосом. При действии ионизирующей радиации первичные повреждения, а именно двунитевые разрывы ДНК, приводят к возникновению как структурных хромосомных aberrаций, так и микроструктурных повреждений ДНК, регистрируемых как мутации гена [3].

Процессы нормальной жизнедеятельности клеток сопровождаются генерацией высокорекреационных соединений – эндогенных форм кислорода. Поддержание необходимого их уровня контролируется не только скоростью генерации реакционных радикалов кислорода, но и со-

Иваненко Г.Ф.* – ст. науч. сотр., к.б.н.; Бурлакова Е.Б. – профессор, д.б.н. ИБХФ РАН.

*Контакты: 119334, Москва, ул. Косыгина, 4. Тел.: 8 (495) 939-74-75; e-mail: galiv@sky.chph.ras.ru.

стоянием системы антиоксидантной защиты. Важными компонентами антиоксидантной системы являются низкомолекулярные водорастворимые соединения, такие как глутатион (GSH), аскорбиновая кислота и липидзависимые: витамин Е (α -токоферол), витамин А и др. [4]. Среди водорастворимых антиоксидантов (АО) глутатион (γ -глутаминилцистеинилглицин) занимает особое место. Одной из основных реакций GSH является реакция со свободными радикалами с образованием тиольных радикалов и последующей их димеризацией до дисульфидов (GSSG). Обратимость окисления SH-групп делает возможным поддержание гомеостаза ряда тиоловых АО в клетке без активации их синтеза [5].

Восстановительная регенерация окисленных форм двух активных АО: аскорбиновой кислоты (витамина С) и витамина Е (α -ТФ) осуществляется GSH и служит условием стабилизации буферной ёмкости АО системы и защитой от перекисного окисления липидов (ПОЛ). Восстановление липидных перекисных радикалов в мембране осуществляется восстановленной формой витамина Е, в результате образуется липидный гидропероксид и радикал витамина Е, который восстанавливается до витамина Е аскорбиновой кислотой. Полагают, что в гетерогенных системах, содержащих гидрофобную и водную фазы, пара аскорбат/ α -токоферол работает синергично и выводит радикалы из легкоокисляемой липидной фазы в водную [6]. Способность глутатиона восстанавливать большинство важных АО связывают с редокс-статусом пары дисульфид глутатиона/глутатион (GSSG/2GSH) [7].

Для оценки действия малых доз облучения используют различные биохимические и биофизические критерии, в частности, большое внимание привлекается к изучению АО статуса организма. В статье представлены данные о влиянии низкоинтенсивного излучения на статус водо- и гидрофобных АО у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, людей, проживающих в условиях длительного действия малых доз ионизирующего излучения, и у работников атомной промышленности. Целью работы является установление зависимости соотношения содержания глутатиона и витаминов Е и А в плазме крови людей от величины дозы ионизирующего излучения.

Материалы и методы

Обследовали людей, в том числе детей до 12 лет, подвергшихся воздействию радиации низкой мощности дозы в трёх регионах с разной степенью загрязнённости почвы радионуклидами, в основном, за счёт ^{137}Cs в результате чернобыльской аварии. Через 5 лет после аварии в Чечерском районе Гомельской области Белоруссии ($15\text{--}20 \text{ Ки/км}^2$) обследовано 125 детей, через 6 лет – 224 ребёнка в Мценском ($1\text{--}5 \text{ Ки/км}^2$) и через 7 лет 114 детей обследовано в Болховском ($5\text{--}10 \text{ Ки/км}^2$) районах Орловской области. Мценский и Болховский районы России были взяты в качестве 1-ой и 2-ой зон радиационного контроля. Дети в возрасте 5-6-7 лет (на момент обследования) пережили аварию в период своего внутриутробного развития, остальные дети родились в 1990-1992 гг.

Через 4 года после аварии нами были обследованы ликвидаторы (Л1), работавшие в первые дни аварии и переселённые за 30-километровую зону в Славутич ($n=22$). Л1 получили суммарные дозовые нагрузки в диапазоне от 2 до 150 сЗв. Кроме того, через 6 лет проведено обследование другой группы ликвидаторов (Л2, $n=129$). Это сотрудники институтов РАН, выезжавшие в Припять для участия в ликвидации аварии на ЧАЭС, работавшие с мая 1986 по 1987 гг. Диапазон их дозовых нагрузок был в пределах от 1 до 70 сЗв. Третья группа ликвидаторов

(Л3, $n=4$), работавших в зоне аварии и получивших дозы 21,4-25,8 сЗв, были обследованы через 20 лет после катастрофы на ЧАЭС. У контактирующей с источниками ионизирующей радиации группы профессионалов-атомщиков, находящихся под индивидуальным дозиметрическим контролем (ПА, $n=50$), величина накопленной дозы за период работы (более 25 лет) составила от 0,6 до 14,9 сЗв [8].

Дети в возрасте 4-12 лет ($n=9$) и взрослые ($n=29$), переехавшие из других регионов в Славутич сразу после аварии, и дети ($n=5$), приехавшие в 1991 г., входили в 1-ую группу сравнения («контроль»). Эта группа лиц была обследована нами через 4-5 лет (1990-1991 гг.) после чернобыльской аварии. Во вторую группу сравнения входили дети, приехавшие в Мценск ($n=4$). Жители Москвы ($n=21$), не подвергавшиеся радиационному воздействию, составили третью группу сравнения («контроль»).

Также были проведены исследования на мышах (самках) гибридной линии F1 (CBA $\times$ C₅₇Bl), облучённых ($n=16$) в малой дозе 1,2 сГр с инструментально измеренной мощностью дозы излучения $0,6\pm0,06$ сГр/сут на установке «ЭЦУ-100» ^{137}Cs . Контрольные животные ($n=17$) не подвергались облучению.

Определение содержания восстановленного и окисленного глутатиона было выполнено методом [9] в нашей модификации [10]. В параллельных пробах определяли содержание витаминов Е и А, как описано в работе [11].

Дозы облучения ликвидаторов являются суммарными за период пребывания в зоне аварии. Суммарную дозу облучения для детей определяли по годам жизни или как дозу облучения, полученную при внутриутробном развитии плода. Для взрослого человека, проживающего в загрязнённых радионуклидами регионах, суммируются дозы внешнего γ -облучения и дозы внутреннего облучения. Показано, что в системе мать–плод концентрация радиоцезия в плаценте и плоде соответствует его концентрации в материнском организме.

^{137}Cs в организм грудного ребёнка поступает с молоком матери [12]. Поскольку роль материнского организма в формировании эффектов у потомков недостаточно изучена, было проведено сравнение влияния накопленных доз облучения матерей во время беременности на биохимические показатели их детей в отдалённый период после аварии.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 и 2 представлены среднестатистические значения содержания водо- и жирорастворимых антиоксидантов (GSH, витамины Е и А), уровень окисленного глутатиона, величины тиолдисульфидного отношения (ТДО) в плазме крови у детей и взрослых, проживающих в «чистых» районах и загрязнённых радионуклидами после катастрофы на ЧАЭС (1-20 Ки/км²), у ликвидаторов (Л1, Л2, Л3) аварии, профессионалов-атомщиков (ПА), получивших суммарные дозовые нагрузки от 0,1 до 150 сЗв. Сравнение результатов группового анализа показало, что у Л1 содержание GSH в плазме ($16,0\pm2,0$ мкмоль/л) достоверно ниже, чем у всех обследованных групп людей, подвергшихся облучению. Однако содержание GSSG у Л1 ($30,4\pm1,5$ мкмоль/л) в 2 раза выше, чем у жителей Москвы. Снижение содержания GSH в плазме и увеличение GSSG у Л1 приводит к снижению ТДО до $0,5\pm1,1$ отн. ед. В группе жителей Москвы ($1,6\pm0,2$ отн. ед.), Л2, ПА и Л3 величина ТДО в 2-3 раза выше, чем у Л1. Следует отметить, что при действии радиации низкой мощности дозы на население наблюдается увеличение содержания в плазме крови

не только GSSG, но и GSH. В основном это увеличение характерно для ПА, ЛЗ и жителей Славутича. В работе [13] приведены данные по загрязнённости территории этого города, который был построен в 1986 г. для переселения персонала Чернобыльской АЭС и членов их семей из Припяти. В 1987 г. загрязнение городской территории изотопами цезия ^{134}Cs и ^{137}Cs составляло 1-15 Ки/км². Выполненные исследования в 1999 г. показали, что проводимые в 1988-1992 гг. крупномасштабные дезактивационные мероприятия стабилизировали радиационную обстановку. Забор крови у исследуемых лиц, проживающих в Славутиче, мы проводили в период с 1989 по 1991 гг. В это время, как свидетельствуют литературные данные, загрязнение городской территории составляло приблизительно 1-5 Ки/км².

Таблица 1

Содержание глутатиона (GSH, GSSG), величина тиолдисульфидного отношения (GSH/GSSG), уровни витаминов Е и А в плазме крови у ликвидаторов (Л1, Л2, Л3) аварии на ЧАЭС, работников атомной промышленности (ПА) и жителей городов Славутича и Москвы

Показатели	Взрослые					
	Ликвидаторы			ПА, 0,6-14,9 сЗв	Жители Славутича, 1-5 Ки/км ² *	Жители Москвы
	1	2	3			
	2-150 сЗв	0,1-70 сЗв	21,4-25,8 сЗв			
Возраст, годы	43±2,0	45±1,0	52±3	63±2	41±2	39±3
GSH, µM	16,0±1,2	24,8±0,9	64,7±2,0	93,4±5,1	33,4±2,9	19,4±1,6
n	22	129	4	50	29	21
σ	5,8	9,7	4,1	36,4	15,4	7,4
Min-Max	6,9-26,5	6,7-55,2	59-67,7	33-186	13-68,6	11-40,3
CV, %	36	39	6	39	46	38
GSSG, µM	30,4±1,5	16,8±1,0	25,8±2,2	59,7±3,1	40,4±1,8	13,4±1,5
n	22	83	4	50	29	19
σ	7,1	8,8	4,4	21,9	9,7	6,3
Min-Max	17-44,6	3,6-54,2	21-30,2	32-116	19,3-61,9	5,5-27,1
CV, %	23	52	17	37	24	47
GSH/GSSG, отн. ед.	0,5±0,1	1,7±0,1	2,9±0,2	1,6±0,1	0,8±0,1	1,6±0,2
Витамин Е, µM	23,3±1,3	19,4±0,7	-	-	13,6±1,1	22,3±1,6
n	22	120	-	-	27	21
σ	6,0	7,2	-	-	5,6	7,4
Min-Max	15-39,0	5,1-39,5	-	-	7,2-30,1	8,1-40,5
CV, %	26	37	-	-	41	33
Витамин А, µM	3,5±0,3	2,9±0,1	-	-	2,4±0,2	3,0±0,2
n	22	120	-	-	26	21
σ	1,2	1,2	-	-	0,8	1,0
Min-Max	1,8-5,9	0,5-7,9	-	-	1,1-4,2	2,0-4,4
CV, %	34	41	-	-	33	33

*Примечание: данные по загрязнённости территории взяты из публикации Тарасенко и др., 2004 [13].

После радиационных аварий существуют проблемы в оценке состояния здоровья не только взрослого населения, но и детей, проживающих на загрязнённых территориях. В связи с тем, что организм ребёнка более чувствителен к действию малых доз радиации, дети составили особую группу. При рассмотрении биохимических показателей в плазме крови у детей, проживающих в Славутиче и Чечерске, выявлено приблизительно трёхкратное увеличение содержания окисленного глутатиона по сравнению с показателями детей из Мценского и Болховского регионов и детей, переехавших из других районов в Мценск и Славутич (группы сравнения). Известно, что мерой изменчивости признаков служит величина коэффициента вариации (CV, %), которая определяется отношением абсолютных значений двух основных характеристик вариационного ряда: средней арифметической (M) и среднего квадратического отклонения (σ). Обнаружено, что у детей, подвергшихся хроническому облучению ионизирующей радиацией

низкой мощности дозы, значения CV превышают 50%. Изменение биохимических показателей в плазме крови у детей зависит от плотности загрязнения почвы радионуклидами. С увеличением загрязнённости региона (Мценск, 1-5 Ки/км²; Болхов, 5-10 Ки/км²; Чечерск, 15-20 Ки/км²) после аварии на ЧАЭС увеличиваются и значения коэффициентов вариации. У детей Чечерского района вариабельность признаков достигает 82% для GSH и 67% для витамина А.

Таблица 2

Содержание GSH, GSSG, величина GSH/GSSG, уровни витаминов Е и А в плазме крови у детей, проживающих в регионах, загрязнённых радионуклидами после аварии на ЧАЭС (1-20 Ки/км² по ¹³⁷Cs), и детей, не подвергавшихся воздействию радиации (группа сравнения)

Показатели	Дети					
	Мценск, 1-5 Ки/км ²	Мценск, группа сравнения	Болхов, 5-10 Ки/км ²	Чечерск, 15-20 Ки/км ²	Славутич, 1-5 Ки/км ²	Славутич, группа сравнения
Возраст годы	1,7±0,1	0,6±0,1	3,0±0,2	0,8±0,1	6,3±0,8	8,2±1,4
GSH, µM	20,5±0,7	21,3±2,6	18,6±0,9	21,1±1,6	16,0±2,3	17,3±3,8
n	224	14	119	125	9	5
σ	10,3	8,9	9,6	17,4	6,9	8,4
Min-Max	4,8-61,6	13,8-40	5,0-57,4	1,6-102	4,9-28,1	7,6-30
CV, %	50	42	52	82	43	49
GSSG, µM	11,3±0,4	11,8±1,9	9,9±0,4	32,1±1,3	44,2±6,6	23,2±2,9
n	210	11	116	120	9	5
σ	5,9	6,4	4,1	14,7	19,7	6,4
Min-Max	0,8-38,6	3,4-8,7	1,4-22,7	3,3-69,4	17,0-70	15,1-30,2
CV, %	52	54	41	46	45	28
GSH/GSSG, отн.ед.	2,2±0,2	1,3±0,2	2,2±0,1	0,8±0,1	0,4±0,1	0,7±0,1
E, µM	9,0±0,3	9,5±0,6	21,4±0,9	8,3±0,4	8,4±0,8	7,9±0,7
n	202	14	68	125	9	5
σ	4,5	2,0	7,8	4,2	2,4	1,5
Min-Max	0,7-45,6	6,4-12,5	7,3-37,8	0,7-27,9	4,9-12,6	6,4-10
CV, %	50	21	36	51	29	19
A, µM	0,9±0,03	0,7±0,1	2,4±0,1	0,9±0,1	2,0±0,2	1,7±0,4
n	202	13	68	125	9	5
σ	0,5	0,2	1,2	0,6	0,5	0,8
Min-Max	0,2-5,7	0,3-0,9	0,6-5,8	0,1-3,5	1,5-3,0	0,7-2,9
CV, %	55	29	50	67	25	47

Анализ средних значений биохимических показателей свидетельствуют о более значимых изменениях в системе глутатиона, чем в системе липидных антиоксидантов в плазме крови у людей, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному облучению (табл. 1, 2). При сопоставлении этих показателей видно, что первый признак варьирует сильнее, чем второй. Облучение матерей, проживающих в зонах загрязнения почвы радионуклидами, приводит к увеличению межиндивидуальной вариабельности исследуемых показателей в плазме крови их детей в отдалённые сроки (5-6-7 лет) после аварии на ЧАЭС (табл. 2).

Чтобы оценить влияние длительного воздействия облучения в малых дозах на биохимические параметры в плазме крови у людей, было проведено сравнительное исследование на мышах (табл. 3). В экспериментах на гибридной линии F1(CBA×C₅₇/Bl) мышей, облучённых в дозе 1,2 сГр, показано, что эффект действия радиации при низкой мощности дозы выражается в двукратном повышении содержания GSH и трёхкратном увеличении GSSG в плазме мышей через сутки после воздействия облучения. Кроме того, у облучённых животных GSH/GSSG в 1,5 раза ниже, чем в контрольной группе. Так как величины ТДО являются важным индикатором окислительно-восстановительного состояния тиолдисульфидной системы, то снижение его параметров указывает на возникновение окислительного стресса при низкодозовом облучении мышей.

Таблица 3

**Содержание глутатиона в плазме крови у мышей гибридной линии F1(CBA×C₅₇/BI)
после общего облучения в дозе 1,2 сГр**

Группы	GSH, мкмоль/л	σ	CV, %	GSSG, мкмоль/л	σ	CV, %	GSH/GSSG, отн.ед.
Контроль (n=17)	60,2±8,1	31,5	52	37,0±3,1	13,1	35	1,9±0,2
Облучение (n=16)	147,0±21,6	80,7	55	141,2±19,9	82,0	58	1,2±0,1

В параллельных экспериментах были измерены структурные характеристики ДНК (адсорбция на нитроцеллюлозных фильтрах, двунитевые разрывы) клеток селезёнки у той же линии мышей. Показано 10-кратное увеличение количества двунитевых разрывов (ДР) ДНК от 0,03 отн. ед. в контроле до 0,3 отн. ед. у животных облучённой группы. ДНК, выделенная из селезёнки облучённых мышей, проявляет повышенную адсорбируемость до 1,3 относительно интактного контроля [14].

Сравнение биохимических показателей в плазме крови с изменениями структурных характеристик ДНК в клетках селезёнки мышей, подвергшихся воздействию радиации в дозе 1,2 сГр, показало, что облучение приводит к относительному увеличению ДР ДНК, изменению адсорбционных свойств ДНК селезёнки и к повышению содержания не только GSSG, но и GSH в плазме крови животных и к снижению величины ТДО. Последствия облучения мышей в малых дозах выражались в индукции ДР ДНК за счёт повышения уровня окислительного стресса, при котором изменение соотношения GSH/GSSG, как основного показателя редокс-статуса, может влиять на состояние ядерного хроматина и вызывать изменения экспрессии генов, ответственных за увеличение синтеза GSH [15]. Образование смешанных дисульфидов «белок-глутатион» – процесс, известный как S-глутатионирование, позволяет защитить белки от окислительного стресса. Однако при нарушении этого процесса ДР ДНК могут инициировать увеличение частоты хромосомных нарушений в присутствии высоких уровней GSH [16].

В современных условиях стратегия охраны живых организмов от неблагоприятного действия любых видов излучений является одной из актуальных и в то же время сложных проблем радиобиологии. Среди населения, проживающего в районах, загрязнённых радионуклидами аварии на ЧАЭС, большинство людей подверглось воздействию низкоинтенсивного излучения в малых дозах. При этом, как показано в табл. 1 и 2, использование средних значений исследуемых показателей не позволяет оценить влияние индивидуальной дозы облучения на биохимические показатели у людей в отдалённые сроки (5-6-7, 20 лет) после черновыльской аварии.

Исходя из этого, на рис. 1а,б,в и рис. 2а,б представлены результаты исследований, позволяющие оценить влияние индивидуальной суммарной дозы на содержание глутатиона (GSH, GSSG, GSH/GSSG) и липидных АО (витаминов Е и А) в плазме крови у ликвидаторов и работников атомной промышленности.

Содержание глутатиона и липидных АО в плазме крови облучённых детей и облучённых *in utero* изучали с учётом суммарной дозы, полученной их матерями. Матери, проживавшие в Мценском районе, получили суммарные дозы в пределах 0,8-1,8 сЗв (n=35), в Болховском – 2,9-10,6 сЗв (n=28) и в Чечерском – 7,0-69,5 сЗв (n=27). У ликвидаторов (Л1) диапазон доз составлял 2-150 сЗв (n=22), у Л2 – 0,1-70 сЗв (n=59), у Л3 – 21,2-25,8 сЗв (n=4) и у ПА – 0,6-14,9 сЗв

($n=50$). При оценке влияния ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы на биохимические параметры в плазме крови обнаружена сложная нелинейная зависимость, характеризующаяся отклонением от линейности в сторону повышения эффекта в диапазоне доз от 0,1 до 25 сЗв. В этом интервале наблюдается увеличение содержания GSH (более 30 мкмоль/л) в плазме крови приблизительно у 50% обследованных людей: у детей из разных регионов (Мценск, Болхов, Чечерск) и взрослых (Л2, Л3, ПА) (рис. 1а). Кроме того, у детей, проживающих в Чечерском районе, а также у работников атомной промышленности и Л1, Л2, Л3 наблюдается увеличение содержания не только GSH, но и GSSG (более 20 мкмоль/л) (рис. 1а,б). Изменение (увеличение или снижение) содержания окисленных и восстановленных форм глутатиона в плазме у людей, подвергшихся длительному хроническому воздействию радиации, отражается на изменении величины ТДО. Приблизительно у половины из обследованных ПА, Л2 и у детей из Мценска и Болхова показатель ТДО находится на уровне среднего базового предела («нормы») ($1,3 \pm 0,2 - 1,6 \pm 0,2$ отн. ед.). У 25% детей и взрослых, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности в малых дозах (до 25 сЗв), величина GSH/GSSG в 3 раза превышает средний базовый предел. У остальных людей наблюдается снижение величины ТДО более чем в 2 раза относительно «нормы».

Рис. 1. Индивидуальные данные содержания глутатиона в плазме крови у людей, проживавших на загрязнённых территориях, в зависимости от дозы радиации, и у жителей Москвы (группа сравнения), не подвергавшихся облучению.

Рис. 2. Зависимость содержания витаминов Е (а) и А (б) в плазме крови у детей, проживающих в разных по загрязнённости радионуклидами регионах, участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС и жителей Москвы (индивидуальные данные) от дозы облучения. Обозначения см. рис. 1.

Уровень глутатиона в плазме крови существенно меняется при изменении индивидуальной поглощённой дозы радиации (от 25 до 150 сЗв) у Л1, Л2 и от плотности загрязнения почвы радионуклидами (для детей, проживающих в Чечерском районе, 15-20 Ки/км²). Снижение содержания GSH и увеличение уровня GSSG в плазме крови и понижение ТДО относительно нормы при хроническом облучении дозами от 25 до 150 сЗв указывает на снижение восстановительной способности клеточных редокс-пар, таких как GSH/GSSG (рис. 1в, табл. 1, 2). Результаты анализа биохимических показателей крови у ликвидаторов и работников атомной промышленности, подвергшихся действию ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы, показали, что тиолдисульфидная система по-разному реагирует на действие малых и больших доз излучения. Эффекты в области низких доз (до 25 сЗв) могут превышать эффекты, вызванные высокими дозами радиации (свыше 25 сЗв) (рис. 1а,б,в). Повышение уровня GSSG и снижение GSH в плазме крови у людей в результате больших доз радиационного воздействия, свидетельствуют о возникновении оксидативного стресса.

В норме активные формы кислорода играют важную регуляторную роль для поддержания окислительно-восстановительного статуса клеток. Одной из основных реакций GSH внутри клетки является реакция со свободными радикалами с образованием тиольных радикалов и последующей их димеризацией до дисульфидов. Обратимость окисления SH-групп позволяет поддерживать гомеостаз ряда тиоловых антиоксидантов в клетке без активации их синтеза, и клетке выжить [5]. Несмотря на то, что GSH является важным внутри- и внеклеточным антиоксидантом, он может проявлять и прооксидантные свойства. Показано, что редуктивный стресс, характеризующийся аномально высоким уровнем восстановительных компонентов внутри биологических систем, продолжающийся в течение длительного времени, может привести к окислительному стрессу, индуцируя сигнальные нарушения в клетках [16].

Не только тиолдисульфидная система глутатиона чувствительна к действию радиации низкой интенсивности. Длительное облучение людей приводит к накоплению гидрофобных АО в плазме. Между дозой радиации, накопленной ликвидаторами за период работы в зоне аварии; суммарной дозовой нагрузкой матерей, проживающих в загрязнённых радионуклидами регионах, и содержанием витаминов Е и А в плазме у Л1, Л2 и детей из городов Мценск, Болхов, Чечерск наблюдается прямая зависимость (рис. 2а,б).

Способность глутатиона восстанавливать большинство АО объясняют редокс-статусом пары «дисульфид глутатиона/глутатион» (GSSG/2GSH) [7]. В связи с этим представляло интерес проанализировать связь между содержанием глутатиона и уровнем витаминов в плазме крови у ликвидаторов чернобыльской аварии (Л1, Л2), которые подверглись облучению в широком диапазоне доз от 0,1 до 150 сЗв (рис. 3, табл. 4). При изучении ответа глутатиона и гидрофобных АО в плазме крови на воздействие излучения с низкой мощностью дозы обнаружено, что в диапазоне доз (0,1-10 сЗв) повышается уровень GSH и липидных антиоксидантов. Изменения концентрации витаминов Е и А в плазме крови у Л1, Л2 происходит в очень узком диапазоне, тем не менее с повышением дозы облучения от $1,0 \pm 0,3$ сЗв до $92,3 \pm 8,8$ сЗв наблюдается достоверное увеличение содержания витамина Е (от $17,0 \pm 1,6$ мкмоль/л до $23,8 \pm 1,6$ мкмоль/л, $p \leq 0,01$) и витамина А (от $2,4 \pm 0,3$ мкмоль/л до $3,7 \pm 0,4$ мкмоль/л, $p \leq 0,05$). Повышение концентрации липидных АО в плазме крови сопровождается снижением содержания GSH (с $27,4 \pm 3,0$ мкмоль/л до $17,7 \pm 2,3$ мкмоль/л, $p \leq 0,05$) и увеличением GSSG (с $21,4 \pm 2,2$ мкмоль/л до $31,9 \pm 2,1$ мкмоль/л, $p \leq 0,01$) при облучении ликвидаторов в дозовом интервале от 20 сЗв до $92,3 \pm 8,8$ сЗв. Возможно, что глутатион участвует в восстановлении окисленных форм витамина Е.

Рис. 3. Состояние редокс-системы GSH/GSSG и незаменимых липидных АО (витаминов Е и А) в плазме крови ликвидаторов (Л1, Л2), подвергшихся воздействию радиации низкой мощности дозы (0,1-150 сЗв).

Таблица 4

Значения биохимических показателей в плазме крови у ликвидаторов (Л1, Л2) при облучении в малых и больших дозах

Параметры, мкмоль/л	Ликвидаторы (Л1, Л2)	
	Доза, сЗв	
	1,0±0,3 (10)	92,3±8,8 (10)
GSH	27,4±3,0 (14)	17,7±2,3 (10)
GSSG	21,4±2,2 (10)	31,9±2,1 (10)
Витамин Е	17,0±1,6 (14)	23,8±1,6 (10)
Витамин А	2,4±0,3 (14)	3,7±0,4 (10)

С другой стороны, сдвиги равновесия окислительно-восстановительной системы в сторону окисления при действии низких доз радиации могут быть важными при расчёте эффективной дозы, полученного «вреда» или быть причиной изменения индивидуальной чувствительности к действию радиации. При этом механизмы, приводящие к сдвигам равновесия тиолдисульфидной системы и изменению активности незаменимых липидных АО в плазме крови у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному облучению, также могут быть разными. В результате нарушения регуляторных связей в процессах, протекающих с участием свободных радикалов, наблюдается разный ответ исследуемых систем на действие радиации низкой мощности дозы в малых (до 20 сЗв) и больших дозах (свыше 20 сЗв) в отдалённые сроки после облучения.

Заключение

Согласно полученным данным у людей разных возрастов, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы в результате аварии на ЧАЭС, наблюдается связь между состоянием редокс-систем глутатиона и липидных антиоксидантов в плазме крови. Тиолдисульфидная система и система липидных АО в плазме крови по-разному реагируют на хроническое воздействие низких (от 0,1 до 20 сЗв) и высоких (от 20 до 150 сЗв) доз ионизирующего излучения.

Литература

1. **Morgan W.F., Schwartz J.L.** Environmental mutagen society symposium on risks of low dose, low dose rate exposures of ionizing radiation to humans //Int. J. Radiat. Biol. 2007. V. 83. P. 491-499.
2. **Crompton N.E.A.** Programmed cell response to ionizing radiation damage //Acta Oncologica. 1998. V. 37. P. 129-142.
3. **Говорун Р.Д.** Цитогенетические нарушения и мутагенез в клетках млекопитающих и человека, индуцированные ионизирующими излучениями с различной ЛПЭ //Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37, Вып. 4. С. 539-548.
4. **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease //Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2007. V. 39. P. 44-84.
5. **Соколовский В.В.** Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб.: Наука, 2008. 112 с.
6. **Pruijn F.B., Haenen G.R.M.M., Bast A.** Integray between vitamin E, glutathione and dihydrolipoic acid in protection against lipid peroxidation //Fat. Sci. Technol. 1991. V. 93, N 6. P. 216-221.
7. **Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F.** Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification //Clin. Chim. Acta. 2003. V. 333, N 1. P. 19-39.
8. **Селиванова Е.И., Замулаева И.А., Саенко А.С.** Влияние хронического облучения на распределение субпопуляций лимфоцитов крови у профессионалов-атомщиков //Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54, № 2. С. 153-161.
9. **McNeil T.L., Beck L.Y.** Fluorometric estimation of GSH-OPT //Anal. Biochem. 1968. V. 22. P. 431-441.
10. **Иваненко Г.Ф., Сусков И.И., Бурлакова Е.Б.** Возможные связи между уровнем глутатиона плазмы и цитогенетическими показателями в лимфоцитах периферической крови у детей при действии малых доз радиации //Известия АН. Серия биологическая. 2004. № 4. С. 410-415.
11. **Hansen L.G., Warwick W.G.** A fluorometric micromethod for serum vitamins A and E //Tech. Bull. Regist. Med. Technol. 1969. 39. N 3. P. 70-73.
12. **Бандажевский Ю.И.** Радиоцезий и внутриутробное развитие зародыша. Минск: Белрад, 2001. 54 с.
13. **Тарасенко Л.В., Бездробная Л.К., Бухал А.В., Цыганюк Т.В., Романова Е.П., Тришин В.В.** Цитогенетические эффекты в лимфоцитах периферической крови жителей г. Славутич, не имеющих профессионального контакта с ионизирующим излучением //Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44, № 6. С. 632-636.
14. **Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Миль Е.М., Бурлакова Е.Б.** Изменение структурных характеристик ДНК селезенки у мышей после введения фенозана и общего воздействия γ -радиации в малой дозе с малой мощностью //Радиационная биология. Радиоэкология 2007. Т. 47, № 4. С. 414-422.
15. **Chatterjee F.** Reduced Glutathione: a radioprotector or a modulator of DNK-repair activity? //Nutrients. 2013. V. 5. P. 525-542.
16. **Kemp M., Go Y.M., Jones D.P.** Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide systems: a perspective on redox systems biology //Free Radic. Biol. Med. 2008. V. 44. P. 921-937.

The effect of low dose-rate radiation on thiol-disulfide system and lipid antioxidants in blood plasma of exposed persons

Ivanenko G.F., **Burlakova E.B.**

Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS (IBCP RAS), Moscow

Understanding of mechanisms of non-specific resistance to damaging agents, such as low dose-rate ionizing radiation, is an area of our interest. Redox status of the glutathione system (GSH, GSSG) and lipid antioxidants, vitamins E and A, in the blood plasma of people exposed to low dose-rate radiation following the Chernobyl accident was examined in 4, 5, 6, 7 and 20 years after the exposure. Obtained data demonstrate complex interactions between watersoluble and lipid antioxidants in blood plasma of exposed people of different ages. The antioxidant systems respond variously to low dose radiation (0.1-20 cSv) and high doses radiation (20-150 cSv). Exposure to low doses of low-dose-rate radiation may produce more pronounced effects on redox balance as compared with effects from exposure to high dose radiation of the same dose-rate. Different effects of low and high radiation doses on antioxidant systems can be due to sensibilization of these systems to radiation caused by damage of regulatory interactions in the processes, in which free radicals participate. The alteration of glutathione reduced and oxidized forms ratio due to significant increase in the GSH concentration (a biomarker of "harm") in blood plasma in people exposed to low dose radiation of low dose-rate can be critical, when glutathione antioxidant transforms into glutathione pro-oxidant.

Key words: *reduced glutathione, oxidized glutathione, thiol-disulfide ratio, vitamin E, vitamin A, blood plasma, lymphocytes, ¹³⁷Cs, low-intensity radiation, population living in contaminated territories, liquidators, mice of different lines.*

References

1. **Morgan W.F., Schwartz J.L.** Environmental mutagen society symposium on risks of low dose, low dose rate exposures of ionizing radiation to humans. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2007, vol. 83, pp. 491-499.
2. **Crompton N.E.A.** Programmed cell response to ionizing radiation damage. *Acta Oncologica*, 1998, vol. 37, pp. 129-142.
3. **Govorun R.D.** Cytogenetic damage and mutagenesis in mammalian and human cells induced by ionizing radiation with varying LET. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 1997, vol. 37, no. 4, pp. 539-548. (In Russian).
4. **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007, vol. 39, pp. 44-84.
5. **Sokolovsky V.V.** Thiol-disulfide system in organism reaction to environmental factors. Sankt-Peterburg, Nauka, 2008. 112 p. (In Russian).
6. **Pruijn F.B., Haenen G.R.M.M., Bast A.** Interplay between vitamin E, glutathione and dihydrolipoic acid in protection against lipid peroxidation. *Fat. Sci. Technol.*, 1991, vol. 93, no. 6, pp. 216-221.
7. **Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F.** Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta*, 2003, vol. 333, no.1, pp. 19-39.
8. **Selivanova E.I., Zamulaeva I.A., Saenko A.S.** Influence of chronic irradiation on the distribution of blood lymphocyte subpopulation among professionals of the atomic industry. *Radiation Biology. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2014, vol. 54, no. 2, pp. 153-161. (In Russian).
9. **McNeil T.L., Beck L.Y.** Fluorometric estimation of GSH-OPT. *Anal. Biochem.*, 1968, vol. 22, pp. 431-441.

Ivanenko G.F.* – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; Burlakova E.B. – Prof., D. Sc., Biol. IBCP RAS.

*Contacts: 4 Kosygin str., Moscow, Russia, 119334. Tel.: 8 (495) 939-74-75, e-mail: galiv@sky.chph.ras.ru.

10. **Ivanenko G.F., Suskov I.I., Burlakova E.B.** Possible relationships between plasma glutathione levels and cytogenetic indices in peripheral blood lymphocytes of children exposed to low doses of radiation. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya – Bulletin RAS. Series of Biological*, 2004, no. 4, pp. 410-415. (In Russian).
11. **Hansen L.G., Warwick W.G.** A fluorometric micromethod for serum vitamins A and E. *Tech. Bull. Regist. Med. Technol.*, 1969, vol. 39, no. 3, pp. 70-73.
12. **Bandazhevsij Yu.I.** Radiocaesium and intrauterine fetal development. Minsk, Belrad, 2001. 54 p. (In Russian).
13. **Tarasenko L.V., Bezdobnaja L.K., Buhai A.V., Cyganjuk T.V., Romanova E.P., Trishin V.V.** Cytogenetic effects in blood lymphocytes of Slavutich residents having no occupational contact with ionizing radiation. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2004, vol. 44, no. 6, pp. 632-636. (In Russian).
14. **Zhizhina G.P., Zavarykina T.M., Mil' E.M., Burlakova E.B.** The effects of low doses of low-level γ -radiation and phenoan injection on structural characteristics of mice spleen DNK. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2007, vol. 47, no. 4, pp. 414-422. (In Russian).
15. **Chatterjee F.** Reduced Glutathione: a radioprotector or a modulator of DNK-repair activity? *Nutrients*, 2013, vol. 5, pp. 525-542.
16. **Kemp M., Go Y.M., Jones D.P.** Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide systems: a perspective on redox systems biology. *Free Radic. Biol. Med.*, 2008, vol. 44, pp. 921-937.