DOI: 10.21870/0131-3878-2020-29-1-57-67

УДК 612.112.94.014.482:575.224.23:621.039

Частота TCR-мутантных лимфоцитов и состояние тиолдисульфидной системы у работников атомной промышленности

Орлова Н.В., Иваненко Г.Ф.¹, Смирнова С.Г., Максютов М.А., Замулаева И.А.

МРНЦ им. А.Ф.Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск;

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

При анализе частоты TCR-мутантных лимфоцитов у профессионалов атомной промышленности (ПА), подвергшихся хроническому облучению в дозах 6-150 мЗв (в среднем 101 мЗв), ранее нами было установлено, что у части лиц (19,0%) этот показатель превышал возрастную норму, тогда как у остальных он соответствовал контрольному уровню у необлучённых лиц. Чтобы выяснить, какое влияние на индивидуальный уровень соматического мутагенеза оказывает состояние тиолдисульфидной системы, из обследованных лиц были сформированы 2 группы по 25 человек (с повышенными и нормальными частотами TCR-мутантных клеток) и проведено исследование компонентов системы глутатиона. В результате установлено, что среднее содержание восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона в плазме крови ПА было более чем в 4 раза выше, чем у контрольных лиц, не подвергавшихся облучению. При этом у ПА с повышенными и нормальными частотами мутантных клеток не обнаружено различий в содержании GSH и GSSG. Средняя величина тиолдисульфидного отношения (GSH/GSSG-ТДО) в обеих группах ПА соответствовала контрольным значениям. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что система глутатиона участвует в адаптации организма к условиям профессиональной деятельности. Возможно, что повышенное содержание и GSH, и GSSG, зарегистрированное в общей группе ПА, связано с гиперактивацией антиоксидантной защиты организма. Вклад тиолдисульфидной системы в формирование генных соматических мутаций в случае хронического радиационного воздействия в малых и относительно небольших дозах, очевидно, менее значителен по сравнению с другими известными системами, определяющими уровень соматического мутагенеза после облучения.

Ключевые слова: профессионалы атомной промышленности, частота TCR-мутантных лимфоцитов, восстановленный глутатион, окисленный глутатион, тиолдисульфидное отношение, окислительный стресс.

Введение

В 2005-2006 гг. при изучении эффектов действия ионизирующего излучения в малых и относительно небольших дозах на геном человека нами был проведён анализ уровня соматического мутагенеза у профессионалов атомщиков (ПА), работающих в Физико-энергетическом институте им. А.И. Лейпунского (Обнинск) и контактирующих с источниками ионизирующих излучений (ИИИ). Уровень мутагенеза оценивали по частоте лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора (T-cell receptor – TCR), в периферической крови. Все обследованные находились под индивидуальным дозиметрическим контролем, и для них была известна суммарная накопленная доза облучения (в среднем 101 ± 7 мЗв), а также доза, полученная за последний год перед анализом (в среднем $2,7 \pm 0,2$ мЗв). Анализ частоты TCR-мутантных клеток показал, что у части облучённых лиц этот показатель превышает возрастную норму [1, 2]. У остальных ПА частота мутантных клеток соответствовала контрольному уровню. Интересно было понять причины наблюдаемых индивидуальных различий при одних и тех же дозах облучения.

Орлова Н.В. – ст. научн. сотр., к.б.н.; Смирнова С.Г.* – ст. научн. сотр., к.б.н.; Максютов М.А. – зав. отд., к.т.н.; Замулаева И.А. – зав. отд., д.б.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Иваненко Г.Ф. – ст. научн. сотр., к.б.н. ФГБУ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН.

*Контакты: 249035, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: +7 (484) 399-71-88; e-mail: sgsmirn@mail.ru.

Известно, что состояние антиоксидантной системы является одним из мощных факторов клеточной радиочувствительности, однако, изменения этой системы при хроническом низкоинтенсивном облучении человека точно не выяснены, хотя и подвергаются интенсивному исследованию в последнее время [3, 4]. Ещё меньше известно о взаимосвязи индивидуального состояния этой системы с уровнем соматического мутагенеза в организме человека после длительного радиационного воздействия в малых дозах.

Считается, что одним из основных внутриклеточных водорастворимых антиоксидантов с высоким восстановительным потенциалом является GSH (небелковый тиол, образованный 3 аминокислотами). Защитные и восстановительные свойства тиолов зависят не только от их способности к детоксикации свободных радикалов, но и от реакционной способности образовавшихся в этой реакции тиольных радикалов. Обратимость окисления SH-групп поддерживает гомеостаз ряда тиоловых антиоксидантов в клетке без активации их синтеза и позволяет клетке выжить [5]. Вообще, роль тиоловых соединений в жизнедеятельности клетки чрезвычайно важна. Они участвуют практически во всех ключевых процессах, являясь важными сигнальными молекулами. Показано, что многие заболевания сопровождаются изменением уровня восстановленного и окисленного глутатиона. Нарушение тиолдисульфидного равновесия, определяемого отношением восстановленной формы глутатиона к окисленной, является важным показателем для оценки окислительного стресса. Установлено, что уменьшение ТДО наблюдается при оксидативном стрессе [6], имеющем место в клетках организма при болезни Альцгеймера, атеросклерозе и диабете [7, 8]. Неблагоприятные факторы окружающей среды также приводят к изменениям в тиолдисульфидной системе, что проявляется в её активации или истощении и отражает динамику адаптационного процесса.

Высказывается предположение, что ядерный пул GSH может участвовать в защите ДНК от радиационно-индуцированных повреждений и, таким образом, влиять на клеточную радиочувствительность. Это представление основано на данных об увеличении радиочувствительности и, соответственно, накоплении изменений в ДНК в случаях нарушения метаболизма GSH [9]. Однако, роль глутатиона в клеточных процессах, в том числе и в защите ДНК от повреждений, ещё недостаточно изучена. Данные о роли GSH в качестве радиопротектора при его введении в биологическую систему перед облучением противоречивы. Возможно, это связано с тем, что GSH, выступая в роли модулятора репарационной активности ДНК, способен усиливать негомологическую репарацию двунитевых повреждений ДНК, что приводит к повышению частоты аббераций обменного типа [10].

В данной работе для выяснения роли глутатиона в защите клеток организма от хронического радиационного воздействия в малых и относительно небольших дозах проведено сопоставление показателей системы глутатиона у лиц с повышенной и нормальной частотой TCR-мутантных клеток. Состояние тиолдисульфидной системы оценивалось на базе Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, работа по изучению соматического мутагенеза выполнена на базе МРНЦ им А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, на протяжении многих лет успешно сочетающего в своей работе экспериментальные исследования и их клиническое применение [11].

Материалы и методы

Частота TCR-мутантных лимфоцитов была определена у 343 сотрудников атомной промышленности мужского пола в возрасте от 28 до 79 лет. Средняя продолжительность работы обследованных лиц с ИИИ составила 26 лет. Средняя суммарная доза, накопленная за всё время работы на предприятии, составила 101 ± 7 мЗв, средняя доза за последний год – $2,7 \pm 0,2$ мЗв.

Частоту TCR-мутантных клеток определяли с помощью метода, разработанного японскими исследователями [12] и усовершенствованного нами с целью повышения его точности [13]. Для выявления лиц с повышенной частотой мутантных клеток использовали базу данных о частоте мутантных клеток у контрольных здоровых лиц в возрасте от 14 до 77 лет (в основном, жителей Обнинска), не подвергавшихся генотоксическим воздействиям вследствие профессиональной деятельности. Исходя из того, что частота TCR-мутантных лимфоцитов увеличивается с возрастом, была построена линейная зависимость между этими параметрами и установлены границы 95% доверительного интервала для частоты мутантных клеток. Затем для каждого возраста вычислено значение верхней границы этого интервала с точностью до $0,1 \times 10^{-4}$ частоты мутантных клеток. Критерием повышенной частоты мутантных клеток являлось превышение этим показателем верхней границы 95%-го доверительного интервала.

Из всех обследованных ПА были выбраны 25 лиц с повышенной и 25 лиц с нормальной частотой TCR-мутантных клеток, одинакового возраста, с максимально сходной дозовой нагрузкой (суммарной и последней годовой накопленной дозой) и с одинаковой продолжительностью работы на предприятии. Таким образом, были сформированы 2 группы ПА по 25 человек в каждой, различающиеся по частотам мутантных клеток.

Для всех отобранных лиц ($n=50$) определяли содержание GSH и GSSG глутатиона в плазме, полученной из образцов периферической крови по стандартной методике. Образцы плазмы были заморожены и хранились до анализа при -20°C . Определение содержания GSH и GSSG глутатиона в плазме крови было выполнено методом [14] в модификации [15]. Все результаты выражали в мкмоль/л.

Для группы сравнения (контроля) были взяты данные по показателям глутатиона, полученные ранее для жителей Москвы ($n=21$).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США) для персонального компьютера. Значимость различий показателей в двух выборках оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили по методу Пирсона. Критерием наличия корреляции служило значение $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлена характеристика сформированных групп ПА по всем изучаемым показателям, включая данные по содержанию в плазме крови GSH, GSSG и их отношению GSH/GSSG.

Таблица 1

**Характеристика обследованных групп ПА и контрольной группы
(жители Москвы)**

Показатели, среднее±SE (диапазон)	Группы		
	ПА		Жители Москвы
	Нормальные частоты TCR-мутантных клеток	Повышенные частоты TCR-мутантных клеток	
Число лиц	25	25	21
Возраст, лет	62,9±2,3 (31-79)	64,0±2,4 (28-76)	39,2±2,7 (20-61)
Суммарная накопленная доза, мЗв	60,2±7,2 (6,7-149,9)	60,4±7,4 (5,6-149,5)	-
Годовая доза, мЗв	1,4±0,1 (0,9-3,7)	1,4±0,1 (1,1-3,0)	-
Продолжительность работы с ИИИ, лет	35,8±2,5 (4,0-50,0)	33,5±2,4 (5,0-48,0)	-
Частота TCR-мутантных клеток, $\times 10^{-4}$	3,5±0,3 (1,4-6,0)	11,5±1,1 (7,4-32,2)	не анализировали
GSH, мкмоль/л	93,2±7,6 (33,4-185,9)	93,5±7,1 (34,2-181,5)	19,4±1,6 (11,2-40,3)
GSSG, мкмоль/л	61,8±5,0 (32,9-115,8)	57,6±3,8 (31,8-99,7)	13,4±1,5 (5,5-27,1)
ТДО, отн. ед.	1,6±0,1 (0,9-2,6)	1,7±0,1 (0,9-2,9)	1,6±0,2 (0,5-2,5)

Из таблицы видно, что сформированные группы ПА не различаются по возрасту, суммарной и годовой дозам, а также по продолжительности работы с ИИИ. Оказалось, что они также не различаются по содержанию восстановленной и окисленной форм глутатиона и, соответственно, по их соотношению.

В то же время обе группы ПА значительно отличаются от контрольной группы по содержанию GSH и GSSG в плазме крови. Так, независимо от уровня соматического мутагенеза у ПА в 4,8 раза увеличено содержание GSH, в 4,3-4,6 раза повышено содержание GSSG, а ТДО соответствует контролю. Следует отметить, что представленная в таблице группа жителей Москвы, которую мы использовали как условно контрольную группу для оценки состояния тиолдисульфидной системы, отличается по образу жизни, экологическим особенностям места жительства, особенностям питания и др. от группы ПА, проживающих в Обнинске. Кроме того, средний возраст в этой группе довольно значительно отличается от такового в группе ПА. Однако необходимость строгого соответствия сравниваемых групп по возрасту при оценке показателей системы глутатиона остаётся под вопросом. С одной стороны, ранее нами была прослежена возрастная динамика содержания GSH и GSSG в плазме периферической крови в разных популяциях людей (600 человек) от периода новорождённости до 70 лет, проживающих на чистых территориях и в районах, загрязнённых радионуклидами после аварии на ЧАЭС [16]. Было показано, что содержание глутатиона в плазме не зависит от возраста и не закреплено как генетический признак. С другой стороны, в литературе имеются данные о снижении синтеза глутатиона и антиоксидантной защиты с возрастом [17, 18].

Интересно, что в общей группе обследованных ПА (n=50) отсутствовала линейная корреляция между суммарной дозой радиационного воздействия и показателями системы глутатиона: для GSH vs суммарная доза $R=0,1$, $p=0,45$; для GSSG vs суммарная доза $R=-0,03$; $p=0,81$.

Подобные результаты были получены нами ранее при оценке влияния ионизирующего излучения низкой интенсивности на биохимические параметры в плазме крови в разных контингентах людей. В частности, низкоинтенсивное облучение в малых дозах приводило к изменению доли лиц, имеющих базовый уровень глутатиона [13]. Важно, что была выявлена сложная нелинейная зависимость, характеризующаяся отклонением от линейности в сторону повышения эффекта в диапазоне доз от 1 до 250 мЗв [19, 20].

Относительно изменения показателей системы глутатиона в ответ на пролонгированное/хроническое действие радиации на организм человека в литературе имеются данные для персонала, обслуживающего радиологические установки в медицинских учреждениях и подвергшегося хроническому облучению в малых дозах [4]. У обследованных, получивших среднюю годовую эффективную дозу равную 2,03 мЗв, было зарегистрировано повышение уровня активных форм кислорода, активности малонового диальдегида и супероксиддисмутазы, но не было найдено отличий в показателях системы глутатиона по сравнению с контролем. В другой работе [3] проведено исследование цитогенетических нарушений в лимфоцитах, а также содержания антиоксидантов в плазме крови в зависимости от дозы облучения у служащих госпиталей, работающих с ИИИ и подвергающихся хроническому облучению в малых дозах. Были выделены: группа с низкой накопленной дозой ($\leq 0,05$ мЗв, продолжительность работы в среднем 4,12 года) и группа с более высокой дозой ($> 0,05$ мЗв, продолжительность работы в среднем 8,43 года). Показано увеличение генетической нестабильности в группах, подвергшихся облучению, увеличение содержания восстановленного и окисленного глутатиона, коррелирующее с увеличением накопленной дозы и уменьшение величины их отношения в группе с более высокой накопленной дозой.

В статье [21] представлены данные об изменении глутатиона в крови онкологических больных гинекологического профиля в течение 5 недель радиотерапии до накопления суммарной очаговой дозы 50 Гр. При этом уровень GSH не менялся на протяжении всего лечения, уровень GSSG сначала увеличивался, что приводило к оксидативному стрессу (соотношение GSH/GSSG уменьшалось примерно в 4,5 раза), а к концу лечения уровень GSSG приходил к норме.

Таким образом, при действии радиации на организм человека увеличивается уровень активных форм кислорода, что приводит к возникновению оксидативного стресса. В зависимости от дозы и продолжительности воздействия, а также исходного состояния организма, реакция тиолдисульфидной системы тканей организма на эти воздействия проявляется в сдвиге окислительно-восстановительного равновесия. Со временем, возможно, включаются регуляторные системы, которые работают на устранение этого состояния, и происходит либо возврат к исходному уровню содержания компонентов системы глутатиона, либо система переходит на другой уровень. Так у ПА, в течение длительного времени подвергавшихся действию радиации в малых дозах, содержание GSH и GSSG увеличено более чем в 4 раза по сравнению с контролем. Такое увеличение уровня обеих форм глутатиона может свидетельствовать об активации процессов антиоксидантной защиты, происходящей в процессе адаптации организма к условиям профессиональной деятельности.

Как отмечалось выше, мы не обнаружили линейных зависимостей между показателями системы глутатиона и суммарной дозой облучения или частотой TCR-мутантных клеток в общей группе ПА. Однако, другие закономерности были выявлены в результате корреляционного

анализа между изучаемыми показателями в двух группах ПА, различающихся по частоте TCR-мутантных клеток. Поскольку значения всех показателей имели нормальное распределение, использовали метод Пирсона. Результаты анализа представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа изучаемых показателей у сотрудников атомной промышленности (сопоставление частоты мутаций по TCR-локусу в лимфоцитах периферической крови, показателей тиолдисульфидной системы и дозовой нагрузки)

Группы обследованных лиц	Пары изучаемых показателей	R	p
Повышенные частоты TCR-мутантных клеток (n=25)	TCR-GSH	0,45	0,02
	TCR-GSSG	0,18	0,39
	TCR-ТДО	0,23	0,27
	TCR-суммарная накопленная доза	0,05	0,81
	TCR-годовая доза	-0,14	0,50
	GSH-суммарная накопленная доза	0,24	0,26
	GSSG-суммарная накопленная доза	-0,20	0,34
	ТДО-суммарная накопленная доза	0,41	0,04
Нормальные частоты TCR-мутантных клеток (n=25)	TCR-GSH	-0,27	0,19
	TCR-GSSG	-0,24	0,24
	TCR-ТДО	-0,04	0,86
	TCR-суммарная накопленная доза	0,47	0,02
	TCR-годовая доза	-0,26	0,22
	GSH-суммарная накопленная доза	-0,01	0,97
	GSSG-суммарная накопленная доза	0,09	0,66
	ТДО-суммарная накопленная доза	-0,11	0,59

Обнаружена корреляционная связь между частотой мутантных клеток и суммарной накопленной дозой облучения в группе с нормальными частотами мутантных клеток ($R=0,47$; $p=0,02$). Следует обратить внимание на то, что в группе с повышенными частотами мутантных клеток не наблюдается зависимости между частотой мутантных клеток и дозой облучения. Можно предположить, что в последнем случае основную роль играет индивидуальная радиочувствительность, а не величина суммарной накопленной дозы.

Что касается показателей тиолдисульфидной системы, то статистически значимая корреляция была выявлена между частотой TCR-мутантных клеток и содержанием восстановленного глутатиона (GSH) ($R=0,45$; $p=0,02$), а также между ТДО и суммарной накопленной дозой облучения ($R=0,41$; $p=0,04$) только в группе с повышенными частотами мутантных клеток.

Полученные результаты указывают на вклад GSH в формирование очень высокой частоты TCR-мутантных клеток у части лиц после хронического облучения. Причём, неожиданно оказалось, что в этом случае высокое содержание GSH связано с повышением частоты мутантных клеток, а не со снижением, как можно было бы предположить, исходя из радиопротекторной роли этого соединения. В связи с этим, следует заметить, что роль глутатиона в клеточных процессах, в том числе и в защите ДНК от повреждений, ещё недостаточно изучена. В работе [7] показано, что глутатион является не только мощным антиоксидантом, но и важной сигнальной молекулой, участвующей во многих клеточных процессах. Совсем недавно появились данные о способности этого соединения усиливать воссоединение концов двунитевых повреждений ДНК в ходе их негомологической репарации и, тем самым, приводить к повышению частоты aberrаций обменного типа [8]. Можно полагать, что именно обмены генетического материала играют

значительную роль в формировании TCR-мутаций в зрелых лимфоцитах, обнаруживаемых в периферической крови человека. Дело в том, что организация генов Т-клеточного рецептора сходна с организацией генов иммуноглобулинов, и в переменных доменах этих генов имеется большое количество различающихся сегментов. В процессе образования Т-клеток происходят процессы перестройки генетического материала, в результате чего и могут возникать TCR-мутации. Указанные особенности мутагенеза по TCR-локусу вместе со способностью GSH усиливать негомологическую репарацию повреждений ДНК, по-видимому, могут являться причиной положительной корреляции между частотой TCR-мутантных клеток и содержанием GSH и именно в группе с повышенным уровнем мутагенеза, в которой другие эндогенные радиопротекторные механизмы недостаточно эффективны.

Кроме того, полученная корреляция между ТДО и суммарной накопленной дозой облучения в группе с повышенными частотами мутантных клеток свидетельствует о том, что в случае повышенной радиочувствительности доза облучения влияет на состояние тиолдисульфидной системы. В случае нормальной частоты мутантных клеток такой зависимости не наблюдается.

Заключение

Таким образом, нами установлено, что у работников атомной промышленности при хроническом облучении в малых и относительно небольших дозах (средняя суммарная доза, накопленная за всё время работы на предприятии, – 101 мЗв, диапазон 6-150 мЗв) происходит увеличение содержания GSH и GSSG в плазме крови более чем в 4 раза. Однако, показатели ТДО (среднее значение, диапазон) полностью соответствуют таковым в контрольной группе, что свидетельствует об адаптации организма к условиям профессиональной деятельности.

На основе полученных данных мы не можем дать однозначного ответа на вопрос об участии системы глутатиона в защите ДНК от повреждений. С одной стороны, не было выявлено корреляции между частотой мутантных клеток и показателями содержания восстановленного и окисленного глутатиона в общей группе обследованных ПА. Среднее содержание GSH и GSSG не отличалось в группах лиц с разной частотой мутантных клеток. Система глутатиона может участвовать в защите ДНК от повреждений, но хорошо известно наличие и других систем, определяющих уровень соматического мутагенеза вообще и индивидуальную радиочувствительность в частности. Полученные нами результаты указывают на то, что вклад таких систем/процессов (например, репарации повреждений ДНК, элиминации повреждённых клеток путём апоптоза и т.д.) имеет преобладающее значение по сравнению с вкладом тиолдисульфидной системы в формирование генных мутаций в случае хронического радиационного воздействия в малых и относительно небольших дозах. С другой стороны, полученные результаты позволяют предположить, что при снижении эффективности репарации ДНК или других защитных процессов роль тиолдисульфидной системы возрастает и становится более заметной (как показано нами для группы ПА с высокой частотой TCR-мутантных клеток). Однако, для окончательного ответа на вопрос об участии системы глутатиона в защите ДНК от повреждений необходимы дальнейшие исследования, включая одновременную оценку эффективности репарации повреждений ДНК и элиминации повреждённых клеток на индивидуальном уровне.

Авторы благодарят всех сотрудников ГНЦ ФЭИ, сдавших кровь для исследования, а также начальника отдела РБ и ООС ФЭИ Вайзера В.И. и главного врача поликлиники ФЭИ Федорова Ю.В., принимавших участие в организации данного обследования сотрудников.

Литература

1. **Замулаева И.А., Орлова Н.В., Смирнова С.Г.** Индивидуальная реакция на радиационное воздействие в малых дозах по результатам исследования соматического мутагенеза на генном уровне //Медицинские радиологические последствия Чернобыля: прогноз и фактические данные спустя 30 лет /Под ред. В.К. Иванова и А.Д. Каприна. М: Геос, 2015. С. 120-142.
2. **Замулаева И.А., Орлова Н.В., Смирнова С.Г., Проскуряков С.Я., Саенко А.С.** Корреляция между внутриклеточным содержанием оксида азота и частотой мутантных лимфоцитов после радиационного воздействия в малых дозах //Радиационная биология. Радиозкология. 2007. Т. 47, № 1. С. 86-92.
3. **Kumar D., Kumari S., Salian S.R., Uppangala S., Kalthur G., Challapalli S., Chandraguthi S.G., Kumar P., Adiga S.K.** Genetic instability in lymphocytes is associated with blood plasma antioxidant levels in health care workers occupationally exposed to ionizing radiation //Int. J. Toxicol. 2016. V. 35, N 3. P. 327-335.
4. **Ahmad I.M., Temme J.B., Abdalla M.Y., Zimmerman M.C.** Redox status in workers occupationally exposed to long-term low levels of ionizing radiation: a pilot study //Redox. Rep. 2016. V. 21, N 3. P. 139-145.
5. **Соколовский В.В.** Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб.: Наука, 2008. 112 с.
6. **Jones D.P., Mody V.C.Jr., Carlson J.L., Lynn M.J., Sternberg P.Jr.** Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses //Free Radic. Biol. Med. 2002. V. 33, N 9. P. 1290-1300.
7. **Ashfaq S., Abramson J.L., Jones D.P., Rhodes S.D., Weintraub W.S., Hooper W.C., Vaccarino V., Harrison D.G., Quyyumi A.A.** The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults //J. Am. Coll. Cardiol. 2006. V. 47, N 5. P. 1005-1011.
8. **Rani P., Krishnan S., Rani C.C.** Study on analysis of peripheral biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis //Front. Neurol. 2017. V. 8. P. 328.
9. **Chatterjee A.** Reduced glutathione: a radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? //Nutrients. 2013. V. 5, N 2. P. 525-542.
10. **Ghoshal N., Sharma S., Banerjee A., Kurkalang S., Raghavan S.C., Chatterjee A.** Influence of reduced glutathione on end-joining of DNA double-strand breaks: cytogenetical and molecular approach //Mutat. Res. 2017. V. 795. P. 1-9.
11. **Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П. Иванов В.К., Иванов С.А., Романко Ю.С.** Синтез фундаментальных и прикладных исследований – основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику //Радиация и риск. 2017. Т. 26, № 2. С. 26-40.
12. **Kyoizumi S., Akiyama M., Hirai Y., Kusunoki Y., Tanabe K., Umeki S.** Spontaneous loss and alteration of antigen receptor expression in mature CD4+ T cells //J. Exp. Med. 1990. V. 171. P. 1981-1999.
13. **Саенко А.С., Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Селиванова Е.И., Нугис В.Ю., Надежина Н.М.** Определение частоты мутаций по локусам гликофорина А и Т-клеточного рецептора: информативность для биологической дозиметрии острого и пролонгированного облучения //Радиационная биология. Радиозкология. 1998. Т. 38, № 2. С. 171-180.
14. **McNeil T.L., Beck L.Y.** Fluorometric estimation of GSH-OPT //Anal. Biochem. 1968. V. 22. P. 431-441.
15. **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 РАН. Серия биологическая. 2004. № 4. С. 410-415.
16. **Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.** Влияет ли возраст людей, проживающих в чистых и загрязнённых радионуклидами регионах на статус глутатиона в плазме крови //Известия РАН. Серия биологическая. 2004. № 6. С. 682-688.

17. Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E.W., Kurtz J.C., Sternberg P.Jr., Reed R.L., Jones D.P. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes //Free Radic. Biol. Med.1998. V. 24, N 5. P. 699-704.
18. Erden-Inal M., Sunal E., Kanbak G. Age-related changes in the glutathione redox system //Cell Biochem. Funct. 2002. V. 20, N 1. P. 61-66.
19. Ivanenko G.F., Burlakova E.B. Relationships between a thiol-disulfide system and liposoluble antioxidants with cytogenetic indices in humans exposed to low doses radiation //Engineering. 2013. V. 5. P. 62-67.
20. Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б. Влияние ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы на состояние тиолдисульфидной системы и липидных антиоксидантов в плазме крови //Радиация и риск. 2017. Т. 26, № 4. С. 111-123.
21. Kim H.J., Kim J.H., Ha S.W., Wu H.G., Choi J.H., Lee K.M., Kang S.W. Changes in biologic markers of oxidative stress and plasma endotoxin levels in gynecologic cancer patients treated with pelvic radiotherapy: a pilot study //J. Gynecol. Oncol. 2012. V. 23, N 2. P. 103-109.

The frequency of TCR mutant lymphocytes and the state of the thiol-disulfide system in nuclear industry workers

Orlova N.V., Ivanenko G.F.¹, Smirnova S.G., Maksioutov M.A., Zamulaeva I.A.

A. Tsyb MRRC, Obninsk;

¹ Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS (IBCP RAS), Moscow

In previous paper we presented analysis of the frequency of TCR-mutant lymphocytes in nuclear professionals had worked with ionizing radiation sources for about 26 years. Mean cumulative radiation dose to the employee was 101 mSv. We found that in 19% of the professionals the mutant lymphocytes level was higher than in the control group of unexposed people of the same age. In other examined people and in the control group the mutant lymphocytes level was within the norm. To understand the impact of the thiol/disulfide system on the somatic mutagenesis two groups of 25 exposed people in each were formed. The group 1 was composed of the workers with enhanced frequency of mutant lymphocytes, in the workers of the group 2 the frequency was within the norm. The average content of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione in blood plasma was four times higher in both groups of exposed professionals than in unexposed controls, and no difference in the GSH and GSSG level in all exposed employees regardless the content of mutant lymphocytes was found. Mean GSH/GSSG ratio in exposed professionals corresponds to the control value. The obtained data allow us to suppose that the glutathione system participates in the organism adaptation to ionizing radiation. It is possible to suggest that enhanced level of GSH and GSSG in blood plasma of all exposed examined professionals is due to antioxidant induced hyper-activation of radiation protection.

Keywords: *nuclear professionals, frequency of TCR-mutant lymphocytes, reduced glutathione, oxidized glutathione, thiol/disulfide ratio, oxidative stress.*

Orlova N.V. – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; Smirnova S.G.* – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; Maksioutov M.A. – Head of Dep., C. Sc., Tech.; Zamulaeva I.A. – Head Dep., D. Sc., Biol., Prof. A. Tsyb MRRC. Ivanenko G.F. – Senior Researcher, C. Sc., Biol. IBCP RAS.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249035. Tel.: +7 (484) 399-71-88; e-mail: sgsmirn@mail.ru.

References

1. **Zamulaeva I.A., Orlova N.B., Smirnova S.G.** Individual'naya reaktsiya na radiatsionnoe vozdejstvie v malykh dozakh po rezul'tatam issledovaniya somaticheskogo mutageneza na genom urovne [Individual reaction to radiation exposure in low doses according to the results of the study of somatic mutagenesis at the gene level]. *Medicinskie radiologicheskie posledstviya Chernobylya: prognoz i fakticheskie dannye spustya 30 let* [Medical radiological consequences of Chernobyl: forecast and actual data after 30 years]. Eds.: V.K. Ivanov and A.D. Kaprin. Moscow, GEOS, 2015, pp. 120-142.
2. **Zamulaeva I.A., Orlova N.B., Smirnova S.G., Proskuryakov S.Ya., Saenko A.S.** The correlation between intracellular level of nitric oxide and frequency of gene somatic mutations after low dose radiation exposure. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation biology. Radioecology*, 2007, vol. 47, no. 1, pp. 86-92. (In Russian).
3. **Kumar D., Kumari S., Salian S.R., Uppangala S., Kalthur G., Challapalli S., Chandraguthi S.G., Kumar P., Adiga S.K.** Genetic instability in lymphocytes is associated with blood plasma antioxidant levels in health care workers occupationally exposed to ionizing radiation. *Int. J. Toxicol.*, 2016, vol. 35, no. 3, pp. 327-335.
4. **Ahmad I.M., Temme J.B., Abdalla M.Y., Zimmerman M.C.** Redox status in workers occupationally exposed to long-term low levels of ionizing radiation: a pilot study. *Redox. Rep.*, 2016, vol. 21, no. 3, pp. 139-145.
5. **Sokolovsky V.V.** Tioldisul'fidnaya sistema v reaktsii organizma na faktory okruzhayushchej sredy [Thioldisulfide system in the body's response to environmental factors]. SPb, Nauka, 2008, 112 p. (In Russian).
6. **Jones D.P., Mody V.C.Jr., Carlson J.L., Lynn M.J., Sternberg P.Jr.** Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging from decline in antioxidant defenses. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, vol. 33, no. 9, pp. 1290-1300.
7. **Ashfaq S., Abramson J.L., Jones D.P., Rhodes S.D., Weintraub W.S., Hooper W.C., Vaccarino V., Harrison D.G., Quyyumi A.A.** The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2006, vol. 47, no. 5, pp. 1005-1011.
8. **Rani P., Krishnan S., Rani C.C.** Study on analysis of peripheral biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Front. Neurol.*, 2017, vol. 8, pp. 328.
9. **Chatterjee A.** Reduced glutathione: a radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? *Nutrients*, 2013, vol. 5, no. 2, pp. 525-542.
10. **Ghoshal N., Sharma S., Banerjee A., Kurkalang S., Raghavan S.C., Chatterjee A.** Influence of reduced glutathione on end-joining of DNA double-strand breaks: cytogenetical and molecular approach. *Mutat. Res.*, 2017, vol. 795, pp. 1-9.
11. **Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronkov L.P., Ivanov V.K., Ivanov S.A., Romanko Yu.S.** Synthesis of basic and applied research is the basis of obtaining high-quality findings and translating them into clinical practice. *Radiatsiya i risk – Radiation and Risk*, 2017, vol. 26, no. 2, pp. 26-40. (In Russian).
12. **Kyoizumi S., Akiyama M., Hirai Y., Kusunoki Y., Tanabe K., Umeki S.** Spontaneous loss and alteration of antigen receptor expression in mature CD4⁺ T cells. *J. Exp. Med.*, 1990, vol. 171, pp. 1981-1999.
13. **Saenko A.S., Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., Orlova N.B., Selivanova E.I., Nugis V.Y., Nadezhina N.M.** Determination of somatic mutation frequencies at loci of glycophorin A and T-cell receptor: informativity for biodosimetry of acute and prolonged irradiation. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 1998, vol. 38, no. 2, pp. 171-180. (In Russian).
14. **McNeil T.L., Beck L.Y.** Fluorometric estimation of GSH-OPT. *Anal. Biochem.*, 1968, vol. 22, pp. 431-441.

15. **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. Biologicheskaya seriya – RAS Bulletin. Biology*, 2004, no. 4, pp. 410-415. (In Russian).
16. **Ivanenko G.F., Burlakova E.B.** Does the age of people living in uncontaminated and radionuclide-contaminated regions affect glutathione status in blood plasma? *Izvestiya RAN. Biologicheskaya seriya – RAS Bulletin. Biology*, 2004, no. 6, pp. 682-688. (In Russian).
17. **Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E.W., Kurtz J.C., Sternberg P.Jr., Reed R.L., Jones D.P.** Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998, vol. 24, no. 5, pp. 699-704.
18. **Erden-Inal M., Sunal E., Kanbak G.** Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem. Funct.*, 2002, vol. 20, no. 1, pp. 61-66.
19. **Ivanenko G.F., Burlakova E.B.** Relationships between a thiol-disulfide system and liposoluble antioxidants with cytogenetic indices in humans exposed to low doses radiation. *Engineering*, 2013, vol. 5, pp. 62-67.
20. **Ivanenko G.F., Burlakova E.B.** The effect of low dose-rate radiation on thiol-disulfide system and lipid antioxidants in the blood plasma of exposed. *Radiatsiya i risk – Radiation and Risk*, 2017, vol. 26, no. 4, pp. 111-123. (In Russian).
21. **Kim H.J., Kim J.H., Ha S.W., Wu H.G., Choi J.H., Lee K.M., Kang S.W.** Changes in biologic markers of oxidative stress and plasma endotoxin levels in gynecologic cancer patients treated with pelvic radiotherapy: a pilot study. *J. Gynecol. Oncol.*, 2012, vol. 23, no 2, pp. 103-109.