

Розвиток кришталикових помутнінь унаслідок хронічної дії на кролів ікс-випромінення в низьких дозах та поліхромного світла

І.П. Метеліцина

Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України, м. Одеса

Development of lens opacifications as a result of chronic irradiation of rabbits with small doses of x-rays and polychromatic light

Цель работы: Выявить связь между направленностью и интенсивностью метаболических нарушений в структурах глаза и развитием хрусталиковых помутнений при хроническом воздействии на животных рентгеновского излучения (РИ) в малых дозах и полихромного света (ПС).

Материалы и методы: Методами вариационной статистики, корреляционного и дисперсионного анализа исследовали наличие и степень выраженности связи между метаболическими нарушениями в структурах глаза, крови и печени (изменение активности Na-, K-АТФазы, церулоплазмينا, содержания свободного аминного азота, аскорбиновой кислоты, резистентности эритроцитов к пероксиду водорода) и развитием хрусталиковых помутнений (по данным биомикроскопии) при хроническом действии на животных РИ в малых дозах и ПС.

Результаты: Рентгеновское облучение животных и влияние ПС самостоятельно или сочетанно вызывает развитие помутнений хрусталика, которые при комбинированном воздействии появляются раньше и имеют большую степень выраженности и скорость развития. Чувствительность животных к использованным лучевым факторам определяется исходным уровнем метаболической обеспеченности организма, а степень выраженности метаболических нарушений в структурах глаза коррелирует с интенсивностью хрусталиковых помутнений. Выявлена зависимость выраженности метаболических изменений в крови животных в динамике облучения от экспериментальных воздействий. Отмечен ряд достоверно значимых связей между биохимическими параметрами крови, изменение которых достоверно коррелирует с примененными лучевыми факторами, и исследуемыми параметрами в структурах глаза.

Выводы: Сочетанное влияние на кроликов РИ и ПС оказывает более выраженный катарактогенный эффект, чем их изолированное воздействие. Статистически достоверные изменения активности Na-, K-АТФаза, церулоплазмина, содержания аскорбиновой кислоты и свободного аминного азота в тканях глаза, крови и печени облученных животных свидетельствует об участии их метаболитов в механизмах реализации повреждающего хрусталик действия радиационного и светового факторов. Исходное состояние активности метаболических процессов является определяющим в механизмах резистентности животных к исследуемым лучевым факторам.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, полихромный свет, хроническое облучение, структуры глаза, метаболические параметры, статистический анализ.

Objective: To find out the correlation between metabolic disturbances in the eye tissues and development of lens opacifications as a result of chronic irradiation of rabbits with small doses of ionizing radiation and polychromatic light.

Material and Methods: We studied the existence and the degree of expression of correlation between metabolic disturbances in the eye tissues, blood and liver (changes in activity of ATP-ase, ceruloplasmin, concentration of free amino nitrogen, ascorbic acid and resistance of erythrocytes to hydrogen peroxide) and development of lens opacities (by the data of biomicroscopy), during chronic irradiation of animals with small doses of ionizing radiation and polychromatic light, using the methods of variation statistics, correlational and factorial analysis.

Results: Irradiation of animals with ionizing radiation and polychromatic light, separately or in combination caused development of lens opacities, which appeared earlier during combined action of these factors; the degree of their expression and the speed of development was higher. The sensitivity of animals to the radioactive factors used was determined by the initial level of metabolic provision of the organism and the degree of expression of metabolic disturbances in the eye structures correlated with the intensity of lens opacities. We found the dependence of expression of metabolic disturbances in the blood of animals in the dynamic of their irradiation on experimental influences. We found the number of statistically significant links between biochemical parameters of blood, the change of which significantly correlate with applied radioactive factors and investigated parameters in eye tissues.

Conclusion: Combined irradiation of rabbits with ionizing radiation and polychromatic light produces more expressed cataractogenic effect, when compared with separate influence. Statistically significant changes of activity of ATP-ase, ceruloplasmin, concentration of ascorbic acid and free amino nitrogen in the eye tissues, blood and liver of irradiated animals is an evidence of their participation in the mechanism of realization of damage action of used radioactive and light factors.

Key words: ionizing radiation, polychromatic light, chronic radiation, eye tissues, metabolic parameters, statistical analysis.

Численні дослідження останніх років свідчать про вірогідні зміни структури функціональної та органічної патології органа зору, в тому числі збільшення частоти кришталикових помутнінь, прискорення їх розвитку та виявлення в молодшому віці у населення, яке постраждало тією чи іншою мірою внаслідок Чорнобильської катаст-

рофи [1–4].

Незважаючи на те, що дія іонізуючої радіації (ІР) у великих дозах, які загрожують життєздатності організму, досить добре вивчена й існує багатий фактичний матеріал для характеристики механізмів дії низькоінтенсивної радіації, єдиної теорії, яка б задовільно пояснювала

всі відомі біологічні ефекти ІР, на сьогодні немає. Є повідомлення про вплив ІР у низьких дозах на метаболічні процеси в клітині, в тому числі на інтенсивність вільнорадикальних процесів, стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, структурно-функціональні параметри мембран, структуру та рівень активності різних ферментів, що свідчить про вагомі порушення метаболічного гомеостазу в механізмах реалізації впливу ІР на біологічні об'єкти [5–9]. Втім характер дії ІР у малих дозах на кришталик вивчений недостатньо. Раніше ми показали, що додаткове рентгеновське опромінення (РО) кролів у малих дозах сприяє значно більш ранньому виникненню та прискореному формуванню світлової катаракти. При цьому посилюються зміни метаболічних процесів, які супроводжують розвиток світлоіндукованих помутнінь кришталика, в тому числі й активності деяких ензимів, компонентів антиоксидантної системи, структурно-функціональних параметрів мембран крові та структур ока [10].

У даному дослідженні представлені результати статистичного аналізу зазначених змін, проведеного за допомогою спеціальних методів, з метою виявити зв'язок між спрямованістю та інтенсивністю метаболічних порушень у структурах ока, крові, печінці й розвитком кришталикових помутнінь при хронічній дії на кролів рентгеновського випромінювання (РВ) в малих дозах та поліхромного світла (ПС).

Методика дослідження

Об'єктом дослідження були представлені в формалізованій формі дані біохемічного аналізу і біомікроскопічних спостережень за станом кришталиків очей кролів при хронічній дії на них РВ у малих дозах та ПС. Аналіз проведено методами варіаційної статистики, кореляційного та дисперсійного аналізу за допомогою пакета програм «Statistica-5.0 for Windows-95» [11].

Радіаційну катаракту моделювали шляхом опромінювання кролів апаратом для дистанційної променевої терапії РУМ-17 (напруга 160 Кв, сила струму 10 мА, м'яке випромінювання відсікали фільтром Си-0,5 мм, Аl-0,5 мм, потужність дози — 0,013 Гр/хв, фокусна відстань — 2 м) протягом 4 і 8 тижнів щоденно в експозиційній дозі 0,05 Гр (сумарна доза 1 і 2 Гр відповідно) [12]; світлову — загальним опромінюванням тварин ПС у спектральному діапазоні 350–1150 нм, густина світлового потоку 30 мВт/см² [13]; комбіновану — при поєднанні РО тварин та дії ПС, як описано вище [12]. Усього використано 74 кролі.

У динаміці впливів здійснювали біомікроскопічні дослідження (щільна лампа К. Дейса) і визначали активність Na-, К-АТФази [14], церулоплазмину [15], вільного амінного азоту [15], вміст аскорбінової кислоти [16], резистентність еритроцитів до пероксиду водню [17] в крові, а по закінченні експерименту — в тканинах ока та печінці кролів, кількісний опис та оцінка яких викладені в раніше опублікованій статті [10].

Результати та їх обговорення

Порівняльний аналіз розвитку помутнінь кришталиків за даними біомікроскопії показав, що перші зміни настають через місяць, як при дії на тварин РВ самостійно (І група), так і поєднано з ПС (ІІ група). Однак частота їх появи у тварин, яких піддавали комбінованій дії, значно вища (у 23,2 і 61,6% випадків — через місяць, $\chi^2=0,16$, $p>0,05$; у 41,3 і 83,4%, $\chi^2=11,58$, $p<0,001$ — через 2 місяці опромінювання в кожній групі відповідно), катарактальні зміни в цій групі відзначено наприкінці експерименту в 2 рази частіше (15,6 і 30,8% від загальної кількості очей у кожній групі), а помутніння значно більш виражені ($\chi^2=11,61$, $p<0,01$), ніж при дії тільки РВ. Світлова катаракта розвивається повільно з більшим латентним періодом, а перші біомікроскопічні зміни з'являються після 15 тижнів опромінювання тварин. Кореляційний аналіз показав наявність статистично значущого прямого кореляційного зв'язку між інтенсивністю катарактогенних дій (енергетичні характеристики променевої енергії й режими її використання) та виявленням біомікроскопічних змін кришталиків (кофіцієнт Спірмена $r=0,40$, $p<0,05$). Таким чином, поєднана дія РВ у малих дозах та ПС сприяє зниженню резистентності організму до кожного із зазначених факторів окремо, посилюючи сумарний катарактогенний ефект, який виявляється збільшенням частоти помутнінь та прискоренням їх формування, що підтверджує результати деяких авторів та наші дані щодо застосування інших катарактогенних факторів [18, 19].

Результати біохемічних досліджень крові в динаміці опромінювання показали, що чутливість тварин до застосованих факторів визначається початковим рівнем метаболічної забезпеченості організму. Так, у кролів із розвинутою катарактою до впливів АТФаза активність складала $25,33\pm 1,11$ нмоль Рі/мг білка/год., що на 10% нижче від таких показників у тварин, кришталики яких залишалися прозорими, активність церулоплазмину та перекисна резистентність еритроцитів були нижчими на 15 та 18% (відповідні кількісні значення до експерименту в тварин із розвинутою катарактою та інтактними кришталиками складають: для церулоплазмину — $11,81\pm 0,60$ і $13,83\pm 0,67$ мг/100 мл, $p<0,05$; для перекисної резистентності еритроцитів — $5,31\pm 0,26$ і $4,53\pm 0,21$ % гемолізу, $p<0,05$). Ці дані узгоджуються з припущенням деяких авторів про можливість оцінки дії на організм ІР в малих дозах, зокрема, за вихідним станом антиоксидантного статусу [20].

Оцінка зв'язку між ступенем порушень мета-

болічних процесів та інтенсивністю кришталізових помутнінь показала наявність кореляції таких показників: активності АТФаз ($r=-0,89$, $p<0,05$) у капсулі кришталіка, церулоплазміну ($r=-0,49$, $p<0,03$) у кришталіку, а також вмісту вільного амінного азоту ($r=0,43$, $p<0,05$) у печінці.

Використання однофакторного дисперсійного аналізу виявило наявність та ступінь вираженості впливу на тварин хронічної дії РВ в малих дозах та ПС на рівень досліджуваних біохемічних параметрів у тканинах ока, крові та печінці (табл. 1).

Аналіз результатів дослідження біохемічних параметрів крові в динаміці експерименту показав зміни деяких метаболічних процесів, у тому числі рівня ферментативної та неферментативної систем антиоксидантного захисту клітини, структурно-функціонального стану мембран, білкового обміну в результаті хронічної дії на тварин РВ у малих дозах та ПС. Визначення ступеня вираженості впливу цих факторів на біохемічні компоненти виявило статистично значущу залежність певних біохемічних параметрів крові, в тому числі вмісту аскорбінової кислоти ($r=-0,530$), перекисної резистентності еритроцитів ($r=-0,368$), Na-, К-АТФазної активності ($r=-0,380$), від застосованих експериментальних впливів (табл. 2).

Використання методу кореляційного аналізу дозволило нам також виявити біохемічні компоненти структур ока, зміна яких унаслідок хронічного опромінювання тварин вірогідна. В табл. 3 наведені значення коефіцієнтів кореляції Спірмена та двостороннього рівня значущості для тих

досліджуваних біохемічних параметрів у структурах ока, які значуще корелюють із використаними експериментальними діями. Представлені дані свідчать про наявність кореляційного зв'язку між досліджуваними променевими впливами та активністю в кришталіку Na-, К-АТФази і вмістом вільного амінного азоту; з активністю Na-, К-АТФази капсули кришталіка; з активністю церулоплазміну та вмістом аміногруп у волозі передньої камери ока; з активністю Na-, К-АТФази та церулоплазміну в сітківці, а також активністю церулоплазміну циліарного тіла. Як випливає з даних таблиці, ці залежності виявлені в більшості випадків для кришталіка, сітківки та вологи передньої камери, що підтверджує наше припущення про підвищену чутливість саме цих структур ока до досліджуваних експериментальних впливів.

Аналізуючи взаємозв'язок між біохемічними параметрами крові, зміна яких вірогідно корелює із застосованими в експерименті променевими факторами, та досліджуваними параметрами в структурах ока, ми відзначили наявність вірогідно значущих кореляційних зв'язків різного напрямку та ступеня вираженості. Так, значення активності Na-, К-АТФази крові корелює з активністю церулоплазміну в капсулі кришталіка та циліарному тілі ($r=0,46$ і $0,28$) та з рівнем аміногруп у волозі передньої камери ока ($r=0,46$), а стабільність мембранних утворень, критерієм якої були показники резистентності еритроцитарних мембран до пероксиду водню, — з активністю Na-, К-АТФаз у корі та капсулі кришталіка, склистому тілі, сітківці (коефіцієнт Спірмена r дорівнює відповідно $0,33$; $0,37$; $0,33$; $0,46$). Ак-

Таблиця 1 — Рівні значущості критерію Фішера для біохемічних параметрів, зміни яких після хронічної дії на кролів РВ та ПС є вірогідно значущими

The level of significance of Fisher's criterion for biochemical parameters, the changes of which after chronic action on the rabbits of x-rays and polychromatic light are significant

| Досліджуваний параметр | Кров | Кришталік | Камерна волога | Циліарне тіло | Склисте тіло | Сітківка | Печінка |
|------------------------|--------|-----------|----------------|---------------|--------------|----------|---------|
| Na-, К-АТФаза | 0,0001 | 0,0001 | — | 0,0001 | 0,009 | — | 0,009 |
| Вільний аміний азот | 0,002 | 0,0001 | — | 0,017 | — | 0,021 | 0,0001 |
| Церулоплазмін | — | 0,0001 | 0,044 | — | — | 0,049 | 0,008 |
| Аскорбінова кислота | 0,005 | 0,002 | — | 0,028 | 0,005 | 0,0001 | — |

Таблиця 2 — Вплив хронічного РВ у малих дозах та ПС на деякі біохемічні параметри крові кролів
Influence of chronic low-dose x-ray exposure and polychromatic light on some biochemical parameters of the blood in rabbits

| Досліджуваний параметр | Статистичний параметр рангової кореляції | | | |
|--------------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------|----------|
| | Об'єм вибірки | Коефіцієнт Спірмена (r) | t-критерій значущості | p-рівень |
| Na-, К-АТФаза | 74 | -0,380 | 3,491 | < 0,0008 |
| Перекисна резистентність еритроцитів | 68 | -0,368 | 3,215 | < 0,002 |
| Аскорбінова кислота | 33 | -0,530 | 3,480 | < 0,001 |

Таблиця 3 — Ранговий кореляційний зв'язок між впливом РВ і ПС на організм кролів та зміною біохімічних параметрів у структурах ока
Range correlation between x-ray exposure and polychromatic light on the organism of rabbits and changes in biochemical parameters in the eye structures

| Досліджуваний параметр | Структура ока | | | | | | | | | |
|------------------------|---------------|-------|--------------------|------|----------------|--------|----------|--------|---------------|------|
| | кришталик | | капсула кришталика | | камерна волога | | сітківка | | циліарне тіло | |
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| Na-, K-АТФаза | -0,354 | 0,008 | -0,40 | 0,01 | — | — | -0,43 | 0,0001 | — | — |
| Церулоплазмін | — | — | — | — | -0,29 | 0,07 | -0,50 | 0,0001 | -0,56 | 0,02 |
| Вільний аміний азот | 0,396 | 0,006 | — | — | 0,61 | 0,0001 | — | — | — | — |

Таблиця 4 — Кореляційний зв'язок між біохімічними параметрами крові, зміни яких при використаних променевих впливах вірогідно значущі, та відповідними біохімічними параметрами структур ока
(значення коефіцієнтів кореляції Спірмена вірогідні на 5%-ному рівні)

Table 4 — Correlation between blood biochemical parameters, the changes in which at exposure to radiation is significant and the respective biochemical parameters of the eye structure
(Spirmen's correlation coefficient values are probable at 5% level)

| Біохімічний параметр | Структура ока | | | | | |
|----------------------|---------------|-----------|------|------|---------------|----------|
| | рогівка | кришталик | | | циліарне тіло | сітківка |
| | | капсула | кора | ядро | | |
| Na-, K-АТФаза | — | 0,28 | 0,37 | — | — | 0,35 |
| Каталаза | 0,29 | -0,46 | 0,59 | — | — | -0,29 |
| Глутатіон-редуктаза | — | — | 0,32 | — | — | -0,35 |
| Аскорбінова кислота | — | — | 0,22 | 0,29 | 0,26 | 0,29 |

тивність глутатіонредуктази¹ крові корелює з активністю Na-, K-АТФази капсули кришталика ($r=-0,28$) та склистого тіла ($r=0,40$), а також церулоплазміну в капсулі кришталика ($r=-0,44$) та вмістом вільного амінного азоту у водянистій волозі ($r=0,33$). З іншого боку, Na-, K-АТФаза активність кори кришталика та сітківки кореляційно зв'язана з такими біохімічними показниками крові: Na-, K-АТФаза ($r=0,37$ і $0,35$), каталаза ($r=-0,29$ і $-0,50$), відношення лактат/піруват ($r=-0,29$ і $0,46$). Вміст вільного амінного азоту в передньокамерній волозі кореляційно пов'язаний із перекисною резистентністю еритроцитів ($r=-0,50$), вмістом аскорбінової кислоти ($r=-0,40$) та відношенням рівня лактату й пірувату ($r=0,54$) в крові, а активність церулоплазміну капсули кришталика — з активністю в крові каталази ($r=-0,65$), стійкістю мембран еритроцитів до перексиду водню ($r=0,60$) та рівнем аскорбінової кислоти ($r=-0,49$).

У табл. 4 наведені значення коефіцієнтів кореляції Спірмена, які характеризують ступінь взаємозв'язку тих біохімічних показників крові, що вірогідно корелюють із променевими впливами, з такими самими параметрами в структурах ока. Як можна побачити з наведених у таблиці даних, найхарактернішою є наявність кореляційного зв'язку показників крові й відповідних показ-

ників кори кришталика та сітчастої оболонки ока.

Наявність вірогідних змін активності Na-, K-АТФази, церулоплазміну, вмісту аскорбінової кислоти та вільного амінного азоту, ступеня резистентності еритроцитів унаслідок хронічної дії на тварин рентгенівського випромінювання та поліхромного світла свідчить про участь цих компонентів метаболічного гомеостазу в реалізації дії застосованих радіаційного та світлового факторів. Отже, сукупність одержаних нами наукових даних, які дозволили виявити закономірності змін досліджуваних параметрів антиоксидантної та антирадикальної систем, білкового обміну, стабільності мембранних утворень у тканинах ока та організмі в цілому, повністю узгоджується з концепцією неспецифічного стрес-синдрому як визначального в механізмах біологічних ефектів ІР у малих дозах [21, 22]. Наші дані цікаві не тільки з позицій виявлення найчутливіших ланок метаболізму й структур ока до променевих впливів, але й з точки зору можливостей використання саме цих біохімічних маркерів та їх запропонованих комбінацій для прогнозування й об'єктивної оцінки індивідуальних особливостей розвитку патологічних процесів в

Примітка. ¹ — дослідження активності глутатіонредуктази, каталази, рівня лактату та пірувату були проведені С.Г. Коломійчуком.

оці при променевих ураженнях, а також розробки адекватних підходів до їх метаболічної корекції.

Література

1. Федирко П.А. // *Офтальмол. журн.* — 1999. — № 2. — С. 69–73.
2. Сергиенко Н.М., Воргул Б.В., Медведовская И.П. и др. // *Там же.* — 1998. — № 1. — С. 56–59.
3. Day R., Gorin M.B., Eiler A.W. // *Health Phys.* — 1995. — Vol. 68, № 5. — P. 632–642.
4. Taylor D., Thorne M.S. // *Ibid.* — 1988. — Vol. 2. — P. 171–179.
5. Кондрусов А.И., Спиричев В.Б., Чертков К.С., Рымаренко Т.В. // *Хим. фарм. журн.* — 1990. — Т. 24, № 3. — С. 4–11.
6. Мальцев Э.В. *Хрусталик.* — М.: Медицина, 1988. — 192 с.
7. Lett J., Cox A.B., Lee A.C. // *Adv. Space Res.* — 1986. — Vol. 6, № 11. — P. 295–303.
8. Matsuda H., Giblin F.J., Reddy V.N. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1982. — Vol. 22, № 2. — P. 180–185.
9. Srivastawa V.K., Richards R.D., Varma S.D. // *Acta Ophthalmol.* — 1983. — Vol. 61, № 5. — P. 860–868.
10. Метелицына И.П. // *Проблемы старения и долголетия.* — 2000. — Т. 9, № 4. — С. 340–347.
11. Электронный учебник Statsoft 1999. — <http://statsoft.ru>
12. Вит В.В., Метелицына И.П., Коломийчук С.Г. и др. // *Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы: Труды I Рос. конгресса по патофизиол.* — М.: РГМУ, 1996. — С. 238.
13. Пат. 20178 Україна, ПМKG 09 B 23/28. Спосіб моделювання променевої катаракти / Леус М.Ф., Метелицына И.П., Дрозжжєна Г.І.; Ін-т ОХ і ТТ ім. В.П. Філатова. — № 4712831/SU (Заявл. 13.07.89. Опубл. 25.12.97). — Бюл. № 6.
14. Глебов Р.Н., Дмитриева Н.М. // *Биохим.* — 1974. — Т. 39, вып. 4. — С. 822–827.
15. Колб В.Г., Камышников В.С. *Клиническая биохимия (пособие для врачей-лаборантов).* — Минск: Беларусь, 1976.
16. Окунцев М.М., Аксенова О.Ф., Верхотурова Г.С. и др. *Специальный практикум по биохимии и физиологии растений.* — Томск: Том. ун-т, 1974. — 114 с.
17. Mino M. // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* — 1978. — Vol. 24. — P. 383–395.
18. Сергиенко Н.М., Рубан А.Н. // *Офтальмол. журн.* — 2000. — № 5. — С. 39–42.
19. Метелицына И.П. // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології.* — Київ-Луганськ-Харків: Планета копі. — 2000. — Вып. 3 (29). — С. 221–233.
20. Полякова Н.В., Шишкина Л.Н. // *Радиац. биол. Радиоэкол.* — 1995. — Т. 35, вып. 2. — С. 181–188.
21. Розанов В.А., Рейтарова Т.С., Черніков Г.Б. та ін. // *УРЖ.* — 1997. — Т. V, вып. 2. — С. 174–177.
22. Олійник С.А., Ткаченко О.П. // *Укр. наук.-мед. молодіжний журн.* — 1997. — № 3. — С. 11–20.

Дата надходження: 30.01.2001.

Адреса для листування:

Метелицына И.П.,
пр-т Гагаріна, 23/3, кв. 63, Одеса, 65039, Україна