

ную активность ЛМО до 80%, при этом оксидазная активность полностью утрачивается.

Таким образом, ЛМО как из *Ps. putida* ВКМ В-1458Д, так и из *Ps. fluorescens* 011 действительно проявляет способность к трансформации под действием п-ХМБ.

Авторы выражают благодарность Аустре Лишман за любезное предоставление штамма *Ps. fluorescens* 011 и Н. И. Мкртчян за выполнение микробиологической части работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горкин В. Э. Мол. биология, 10, 713, 1976.
2. Зейналов Т. А. и др. Радиобиология, 15, 16, 1975.
3. Takeda H., Hayaishi O. J. Biol. Chem., 241, 2733, 1966.
4. Yamauchi T., Yamamoto S., Hayashi O. J. Biol. Chem., 248, 3750, 1973.

Поступило 13.XI 1986 г.

Биол. ж. Армения, т. 40, № 3, 223—227, 1987

УДК 539.16.047:611/612

ЭНЗИМОДОЗИМЕТРИЯ КАК МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ПОРАЖЕНИЯ ОТ ВНЕШНЕГО БЕТА-ОБЛУЧЕНИЯ

В. Б. МАТЮШИНЧЕВ, Н. Б. АМПИЛОВА, Н. Ю. БАЛАНИНА, И. Н. СОКОЛОВ

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Аннотация — С помощью множественного регрессионного анализа изучена связь уровней 16-ти ферментных показателей с дозой (30—100 Гр) внешнего бета-облучения крыс. Отобрана группа из 9-ти эффективных тестов. Показана перспективность использования энзимодозиметрии для отбора признаков, информативных в отношении оценки тяжести постлучевых нарушений.

Անոտացիա — Ընդմիակի ռեգրեսիոն անալիզի օգնությամբ ուսումնասիրված է 16 ֆերմենտային ցուցանիշների մակարդակների կապը անեմների արտաքին բեռնաճանաչաթվան հոսանքի (30—100 Գր) հետ: Ընտրված է 9 էֆեկտիվ տեսակից կապված մի խումբ: Ցույց է արված կոդիվորդիմետրիայի օգտագործման հեռանկարայնությունը էնզիմոադոզիմետրիային խանգարումների ձևերով զննահանման փորձերից հանգանիշների ընտրության համար:

Abstract — By means of multivariate regression analysis the relationship of 16 enzymatic indices levels with the dose (30—100 Gray) of rats outward beta-irradiation has been studied. A group has been selected, consisting of 9 effective tests. The perspectiveness of enzymatic dosimetry utilization for selection of indices, informative with respect to estimation of the heaviness of postirradiation breaches, has been shown.

Ключевые слова: ферменты, бета-излучение, регрессионный анализ.

Хотя проблема биологического тестирования лучевого поражения организма еще далека от окончательного решения, признается, что значительные успехи в этой области могут быть достигнуты на путях биохимических исследований.

мического мониторинга сопутствующих изменений. Одними из наиболее перспективных радионидикаторов считаются ферментные показатели [2]. Правда, до последнего времени фактически данными для четкой и обоснованной аргументации подобной точки зрения специалисты не располагали, поскольку серьезных, систематических исследований вопроса не предпринималось. Лишь недавно в представления о диагностических возможностях энзиматического подхода была внесена определенная ясность [4]. Выявлена несостоятельность ставки на единичные признаки. Продемонстрировано, что и целом существенны не те или иные тесты сами по себе, а именно ферменты, т. е. буквально некоторая совокупность показателей, имеющая конкретную сферу применимости. Причем реализация потенциала комплексной оценки требует специальной адекватной методологии, основанной на многомерности эксперимента и анализа его результатов с обязательной дифференциацией условий лучевого воздействия. Как было с убедительностью показано, при объединении индивидуальных параметров и умелом использовании кооперативного эффекта разрешающая способность энзимонидикации резко возрастает [3, 5, 6]. Общая ситуация поэтому выглядит сейчас благоприятной. Вместе с тем нельзя не отметить, что базовые исследования выполнены в плане ретроспективной оценки величин лучевой нагрузки и соответствующие выводы сделаны в предположении адекватности энзимодозиметрии характеристике тяжести поражения. Последнее допущение произвольно уже в силу заведомой нереальности создания биохимического дозиметра (как было показано, тестирующие свойства ферментных показателей изменчивы и определяются не только уровнем радиационного воздействия). В подобной обстановке для большей основательности прогностических заключений необходим завершающий штрих — подтверждение правомерности сделанных экстраполяций. По-видимому, лучший способ установления истины в данном случае состоит в параллельном анализе дозиметрических и индикаторных кондиций совокупности одних и тех же показателей. Целью настоящей работы явилось проведение именно такого сравнительного исследования.

Материал и методика. Использовали фактический материал работ [5, 6], выполненный ранее на беспородных половозрелых белых крысах-самцах, подвергнутых целенаправленному бета-облучению от криптона-85 в дозах 30–100 Гр. с интервалом 10 Гр. Напомним, что через 14 сут после лучевого воздействия (т. е. в момент, когда различия в проявлениях кожной клиники, определяющей в конечном счете судьбу особи при избранной форме облучения, становятся отчетливо заметны) животных сортировали по степеням поражения и забивали. В коже и плазме крови определяли уровни активности ряда ферментов. Полученный цифровой массив для облегчения ориентации в многомерной структуре выявленных фактов подвергали компонентному анализу. В итоге предположение о способности определенной совокупности биохимических параметров обеспечить успешную радиоэнзимонидикацию получило объективное подтверждение. Были выявлены признаки, совместный учет которых позволяет охарактеризовать полностью весь диапазон клинических сдвигов в состоянии кожных и кровяных животных. В настоящем исследовании пул имеющихся первичных биохимических измерений был перераспределен по дозам облучения. На каждую из 8-ми примененных доз приходилось по 20 подопытных и 8 интактных особей. Активность, отмеченную у облученных крыс, выражали в долях от принятой за единицу средней активности в со-

ответствующей контрольной группе. Нормированные таким образом данные обрабатывали на ЭВМ ЕС-1045 по стандартной программе множественного регрессионного анализа. Оценивали параметры линейных уравнений вида: $y = b_0 + b_1 x_1 + \dots + b_l x_l$, где y — средняя величина дозы при значениях $x_1, x_2, \dots, x_l$ ферментных показателей, b_0 — свободный член, $b_1, \dots, b_l$ — частные коэффициенты регрессии. Поскольку были проведены две независимые серии экспериментов (серия 1: в коже и плазме крови крыс регистрировали уровни активностей аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, дегидрогеназ пентозофосфатного пути, лактатдегидрогеназы, обозначаемые далее как АСТК, АСТП, АЛТК, АЛТП, ЩФК, ЩФП, ДПК, ДПП, ЛДГК, ЛДГП; серия 2: активности кислой ДНКазы (ДКК, ДКП), щелочной ДНКазы (ДЩК, ДЩП), альфа-амилазы (АМК, АМП), найдены характеристики двух таких уравнений связи совокупности экзогенных биохимических признаков с дозой бета-излучения.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены в таблице. Видно, что оптимистическая точка зрения, сформированная

Показатели связи уровней энзиматической активности с дозой бета-излучения

Серия	Фермент	Характеристики уравнений множественной регрессии						
		b_1	b_2	b_0	r^2_1	r^2_2	R^2	$\frac{2^*R}{K}$
1	АСТП	-9.50	0.039					
	АСТК	-31.98*	0.650					
	АЛТП	4.05	0.010					
	АЛТК	7.85	0.046					
	ЩФП	7.95*	0.101	67.40	12.38	10.34	0.756	0.047
	ЩФК	0.69*	0.010					
	ЛДГП	1.22	0.003					
	ЛДГК	10.32*	0.069					
	ДПП	-5.74*	0.068					
2	ДПК	-1.52	0.004					
	ДКП	6.81*	0.152					
	ЛКК	9.21*	0.151					
	АМК	3.06	0.034	53.45	31.55	14.87	0.652	0.075
	АМП	3.16*	0.090					
	ДЩП	0.02	0.013					
	ДЩК	-22.39*	0.560					

* — $p \leq 0.05$.

ся под влиянием итогов компонентного анализа, находит в них полную поддержку. Так, достоверные величины F-критерия не оставляют сомнения в работоспособности избранных линейных моделей. Общая адекватность выведенных интерполяционных формул исходным цифрам косвенно подтверждается высокими значениями коэффициентов детерминации (R^2): для серий 1 и 2 учитывается соответственно 76 и 65% от общей дисперсии дозы, т. е. совокупность независимых биохимических переменных оценивает большую часть принятого в эксперименте варьирования лучевой нагрузки. Масштаб средних ошибок аппроксимации (σ) — отклонений расчетных значений результативного признака от фактических — также говорит об удовлетворительной точности предсказания [1]: ретроспективно доза определяется с погрешностью в 10—15%. Впрочем, качественное различие двух систем показателей в индивидуальных совокупностях отчетливо видно даже невооруженным глазом:

информативность массива данных серии 1 явно выше. Возможности регрессионного уравнения, построенного на материале серии 2, выглядят скромнее не только по критериям F , R^2 , ϵ , но и по величине остаточной дисперсии (δ_2^2).

Особое внимание, естественно, привлекают значения коэффициентов b_j , позволяющие решить вопрос о вкладе отдельных энзиматических показателей в оценку лучевой нагрузки. Чем больше величина частного коэффициента регрессии, выражающего количественную зависимость уровня воздействия от переменной x_j при исключении влияния всех остальных признаков, тем значительнее степень ее участия в общей характеристике целевой функции. Прогностическая неоднородность состава апробированных совокупностей тестов несомненна. Статистически значимой связью с дозой излучения в блоке данных серии 1 обладают АСТК, ЩФП, ЩФК, ЛДГК, ДПП, а в серии 2 — ДКП, ДКК, АМП, ДЩК. Эти же констелляции выделяются и относительной долей вклада признаков в прогнозирование дозы (δ_{x_i}), для каждого из них превышающей величину $2 \frac{10}{R}$ [7]. Использование критерия δ_{x_i} позво-

ляет ранжировать показатели в соответствии с их реальной эффективностью и определить такой порядок следования в группах по снижению разрешающей способности: АСТК, ЩФП, ЛДГК, ДПП, ЩФК и ДЩК, ДКК, ДКП, АМП. Бесспорно, ведущие позиции в сериях занимают АСТК, концентрирующая 65% информационной емкости соответствующей батареи тестов, и ДЩК, берущая на себя 56% от общей результативности другой совокупности. Как легко подсчитать, суммарный реестр показателей, имеющих значение для прогнозирования дозы, включает всего 9 элементов из 16-ти фиксировавшихся в ходе проведенных экспериментов независимых переменных, т. е. остальные 7 признаков ввиду их незначительности можно исключить из рассмотрения. Поэтому не вызывает сомнения, что в рамках апробированных групп биохимических тестов достигнутая точность предсказания способна увеличиться даже за счет выбраковки засоряющих систему балластных показателей, не говоря уже о возможности использования резервов повышения дозиметрического потенциала анализа, опирающихся на механическое объединение всех 9-ти эффективных регрессоров в один кластер, а также на чисто статистические приемы.

Впрочем, в повторной обработке данных нет необходимости, убедительность выводов гарантируется и без этого. Поскольку центральные тенденции выявлены достаточно четко, введение в поле зрения каких-либо дополнительных материалов представляется излишним. Даже не прибегая к углубленному изучению редуцированных матриц первичных данных, мы вправе констатировать высокий биодозиметрический статус групповой оценки. Подобное заключение созвучно мнению о больших возможностях системного подхода к ферментной радиодиагностике. Однако важнее другое — исследование дозовой зависимости не только подтвердило перспективность использования многомерной энзимонди-кации, но и дало результаты, согласующиеся с итогами выполненного

ранее компонентного анализа пригодности ферментных показателей для характеристики в аналогичных условиях степени поражения особей.

Особенно примечательно то, что набор из 9-ти признаков, хорошо измеряющих дозу бета-излучения, по своему составу оказался идентичным обьему тестов, способных при совместном их учете полностью дифференцировать тяжесть постлучевых нарушений [5, 6]. Правда, как оказалось, в каждом из случаев при формальном тождестве компонентов прогностической системы перед нами качественно своеобразная совокупность, имеющая обособленную структуру приоритетов сингулярных показателей, особое соотношение их биоиндикаторных кондиций. И это весьма существенно, так как предохраняет от еще встречающегося отождествления биодозиметрии с регистрацией выраженности поражения индивида. Между тем поглощенная доза излучения и степень вызванных ею нарушений биологически не эквивалентны, они связаны лишь более или менее тесной корреляцией, но отнюдь не строгой функциональной зависимостью, с чем и необходимо считаться. Реакция живого объекта на одно и то же влияние — величина переменная, контролируемая рядом условий, поэтому практически следует ориентироваться на выявление именно тяжести поражения как определенного состояния организма. Конечно, характеристика дозы есть первое и наиболее строгое приближение к оценке конкретной силы воздействия, ибо уровень радиационной нагрузки позволяет с достаточной уверенностью судить об ущербе, нанесенном особи и клинически проявляющемся позднее. То, что интуитивно угадывается, априори подкреплено материалами проведенного эксперимента. При всей своей условности и ограничениях энзимодозиметрию, очевидно, можно использовать в качестве высокоадекватной модели учета общей лучевой нагрузки. Во всяком случае баланс соответствующих фактов однозначно указывает на перспективность ее использования для отбора признаков, информативных в отношении оценки тяжести пострadiационных нарушений при внешнем бета-облучении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Королев Ю. Г. Метод наименьших квадратов в социально-экономических исследованиях. М., 1980.
2. Мазурик В. К. Радиобиологические основы биохимической индикации лучевого поражения. В кн. Итоги науки и техники. Серия «Радиационная биология», 3, 78—102. М., 1980.
3. Матюшичев В. Б. Биолог. ж. Армения, 38, 3, 239—245, 1983.
4. Матюшичев В. Б. О возможности энзиматического тестирования радиационного поражения организма. Деп. в ВНИИТИ, № 1793-85 от 13 марта 1985.
5. Матюшичев В. Б., Корникова В. А. Биолог. ж. Армения, 35, 1, 35—41, 1982.
6. Матюшичев В. Б., Корникова В. В., Таритович В. Р., Тимофеева О. Е., Верещагина Е. М. Биолог. науки, 34, 9, 40—41, 1981.
7. Мисюк Н. С., Мистичин А. С., Кузнецов Г. Л. Корреляционно-регрессионный анализ в клинической медицине. М., 1975.

Поступило 27.11.1986 г.