

УДК 616.5:539.16

В. Б. МАТЮШИЧЕВ, В. Р. ТАРАТУХИН, О. Е. ТИМОФЕЕВА, М. Ю. ЕРОПКИН,
И. Ю. КАРЯГИНА, И. Е. КРАСОВСКАЯ, Н. В. КУЛЕВА, Л. Е. ЛЕОНОВА,
Т. Н. ПРИЯТКИНА, И. С. СТЕПАНОВА, Л. И. ТИЩЕНКО, Г. И. ЧИХИРЖИНА

БИОХИМИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ

В эксперименте исследованы изменения активности ферментов кожи и плазмы крови под действием внешнего бета-облучения. Показана возможность оценки полученной организмом дозы и степени тяжести кожных поражений с помощью совместного учета активности аспартатаминотрансферазы кожи, щелочной фосфатазы кожи и плазмы крови.

В онкологической практике и ряде аварийных ситуаций имеет место внешнее бета-облучение организма. Для контроля за ходом радиотерапии и принятия необходимых мер нужно прежде всего знать степень поражения. Поскольку физическая дозиметрия в таких случаях далека от совершенства, первостепенное значение приобретают поиски соответствующих биологических индикаторов, но успехи в этой области пока весьма скромны. Среди биохимических тестов заслуживают внимания энзиматические показатели. К сожалению, информация о действии внешнего бета-облучения на ферментные системы довольно скудна. Описаны пострадикационные изменения активности альдолаз сердечной мышцы [3], щелочной фосфатазы [4] и трансаминаз в крови [5], трансаминаз [5], щелочной и кислой фосфатазы [7, 8], щелочной ДНК-азы [9, 13], протоколлаген-пролингидроксилазы [14], диастазы [15] и ацетилхолинэстеразы [20] кожи, сукцинатдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы [21] и холинэстеразы [26] печени, аланин- и аспартатаминотрансферазы митохондрий головного мозга [27, 28]. Опираясь на имеющиеся данные, а также на сведения по эффектам гамма- и рентгеновского облучения, мы остановили свой выбор на щелочной фосфатазе, аспартатаминотрансферазе, аланинаминотрансферазе. Задача работы состояла в изучении влияния внешнего бета-облучения ^{85}Kr на активность этих ферментов в коже и плазме крови крыс с целью выяснения способности этих тестов отражать тяжесть повреждения и полученную дозу. Как известно, плазма крови — один из основных объектов клинической биохимии. Что касается использования кожи, то оно диктовалось тем обстоятельством, что ведущим признаком и основой радиаци-

онной патологии данного типа являются сдвиги в состоянии кожного покрова. Индикация бета-нарушений сводится к тестированию радиационного поражения кожи. Так как существующие связи легче всего выявляются на высоте визуальных проявлений радиоэпидермитов, мы проводили исследование именно в такой момент постлучевой экспозиции животных.

Материалы и методы

Опыты проводили на 160 беспородных белых крысах-самцах массой 160—180 г. Животных разделяли на 8 групп равной численности, выстригали шерсть на спине, помещали в герметичную камеру и подвергали внешнему бета-облучению $^{85}\text{Kг}$ в дозах 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 крад. В течение каждой недели использовалось по 2 дозы (по хронологии применения—10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3-крад). Обследование проводили через 14 суток после воздействия. На основании морфологических признаков крыс разделяли по степени тяжести поражения участка кожи спины и вместе с 8 интактными животными декапитировали под эфирным наркозом. Получали плазму крови. Навески кожи, очищенной от шерсти и подкожной жировой ткани, измельчали ножницами, добавляли 3 объема (по отношению к весу) охлажденной дистиллированной воды, гомогенизировали и центрифугировали 20 мин при 3000 g. Для измерения биохимических показателей использовали надосадочную жидкость. Определяли активность щелочной фосфатазы [19], аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы [6] плазмы и кожи, обозначаемых далее соответственно: ЩФП, ЩФК, АСТП, АСТК, АЛТП, АЛТК. Для статистической обработки результатов наряду с традиционными методами использовали факторный анализ.

Результаты и обсуждение

Как показал общий анализ полученных данных, для 0—3-й степени тяжести поражения кожи усредненная по индивидам эффективная доза составляет соответственно 3,8; 4,6; 6,0 и 7,1 крад. Все средние значения отличаются друг от друга, т. е. каждая доза характеризуется своей степенью поражения. Хотя радиочувствительность особей сильно варьирует и доверительные границы радиационных нагрузок, определяющих тяжесть поражения, перекрываются настолько, что теоретически при каждой из использованных доз возможно встретить кожные изменения любой выраженности, тем не менее, с превышением усредненных величин, найденных в эксперименте, возрастает вероятность перехода индивидов в «следующую» степень тяжести. Отчетливо выявилась также связь веса животных с тяжестью поражения—достоверное нарастание сдвигов в морфологии кожных покровов параллельно уменьшению массы тела. Несомненное смягчение различий в эффективности высоких и низких доз за счет особенностей хронологии их применения позволяет предположить существование в действительности (т. е. при выравненных условиях) еще большего влияния внешнего бета-облучения на этот интегральный показатель.

В табл. 1 представлены значения биохимических характеристик при различных дозах облучения и степенях поражения кожи. Видно, что АСТП в силу своей полной инертности ни в коей мере не отражает тяжести клинических сдвигов в состоянии кожных покровов. Немногим выше и биомаркерные качества АЛТП, имеющей отличия от контрольных величин только при 3-й степени поражения, но и они весьма незначительны. Наиболее выражены сдвиги ЩФК: умеренное, но достоверное увеличение ферментативной активности для нулевой степени тяжести сменяется нормализацией этого показателя при 1-й степени, а далее 3- и 7-кратным превышением физиологических значений соответственно при 2- и 3-й степени. Дифференциация нулевой и 1-й степеней

Таблица 1

Значения биохимических показателей при различных дозах облучения и степенях тяжести кожных поражений, % к контролю

Показатель	Доза облучения, крад								Степень тяжести поражения			
	3	4	5	6	7	8	9	10	0	1	2	3
АСТП	106	98	99	97	84*	91	100	112	102	100	95	96
АСТК	102	85*	90	78*	33*	39*	38*	31*	98	87*	68*	51*
АЛТП	99	90*	107	138*	89*	99	106	132*	99	102	100	109*
АЛТК	100	108	88	79*	80*	84*	98	88	114	88*	88*	85*
ЩФП	91	72*	93	147	71*	115	179*	289*	82*	91	101	144*
ЩФК	138*	153	147	149	704*	887*	1041*	1861*	124*	94	330*	760*

*— $p < 0,05$

Абсолютные значения ферментативной активности у интактных животных равны ($M \pm m$, $n=64$): для АСТП— $1,22 \pm 0,2$, АСТК— $2,77 \pm 0,19$, АЛТП— $2,27 \pm 0,12$, АЛТК— $4,13 \pm 0,27$ мкмоль пировиноградной кислоты; ЩФП— $12,3 \pm 1,2$, ЩФК— $0,36 \pm 0,06$ мкмоль п-нитрофенола за 1 час/1 мг белка или на 1 мл плазмы.

облегчается с помощью учета ЩФП, существенно сниженной в первом случае и не реагирующей на облучение во втором. Активность фермента остается стабильной и при 2-й степени кожных поражений, повышаясь при 3-й степени, однако наблюдаемое увеличение не идет в сравнение с аналогичной реакцией ЩФК. Заметны изменения АЛТК, но их диагностическая ценность невысока, поскольку регистрируемый уровень снижения активности фермента практически одинаков для 1—3-й степеней радиационного поражения. Позитивным моментом здесь может быть устойчивость АЛТК при нулевой степени, правда, использовать это обстоятельство можно лишь для разграничения 0—1-й степеней, обеспечиваемого с меньшим успехом ЩФ-тестами. Особое место среди апробированных показателей занимает АСТК. Ее изменениям, не отличающимся мощной амплитудой, свойственной ЩФК, присуща важная деталь—монотонность тенденции, а именно неуклонное, прогрессирующее снижение активности по мере отягощения пострадиационной кожной клиники.

Сходную картину дает анализ дозовых зависимостей. Ни один из тестов в отдельности не может удовлетворительно откалибровать шкалу принятых нагрузок. Максимально радиоустойчива АСТП, имеющая только один статистически значимый эффект—при дозе 7 крад. Без градации по морфологической выраженности поражения АЛТП выглядит более лабильной энзиматической системой, имея существенные и отчетливо выраженные отклонения от значений нормы при облучении в дозах 4, 6, 7 и 10 крад. К сожалению, дозиметрические кондиции АЛТП нивелируются фазностью наблюдающихся сдвигов. Не более пригодна для тестирования полученной животным дозы АЛТК, демонстрирующая равную степень подавления ферментативной активности в пределах 6—8 крад и устойчивая по краям этой зоны. Значительно выше индикаторные возможности АСТК, сниженной по сравнению с интактными животными втрое в диапазоне 7—10 крад, но явно слабее угнетенной при дозах 4 и 6 крад. Но еще более выигрышное впечатление производят показатели щелочной фосфатазы. Уровень ЩФП претерпевает достоверно различимый подъем активности после нагрузок 9 и 10 крад и одинаковую степень снижения при дозах 4 и 7 крад. Само по себе это мало что дает, однако в сочетании с данными по ЩФК значимость такой информации резко возрастает. При всех использованных воздействиях ЩФК увеличена, причем для нагрузок 7—10 крад соблюдается дозовая зависимость с 7—18-кратным превышением фоновых значений. Результаты эксперимента не позволяют судить о разрешающей способности теста в пределах 4—6 крад, т. к. в этих условиях изменения активности не достигали достоверных величин, но, судя по всему, она незначительна. Привлечение материалов по ЩФП дает возможность провести дополнительное разграничение воздействий в 3, 4 и 7 крад. Определение же активностей щелочной фосфатазы в совокупности с АСТК решает проблему вычисления из общего спектра влияний 5 и 6 крад, поскольку только после облучения в дозе 6 крад АСТК подавлена, а значения ЩФП и ЩФК находятся в пределах случайных колебаний или слегка увеличены, тогда как дозе 5 крад соответствует устойчивое состояние всех трех параметров. Конечно, дефектность показателей, не фиксирующих столь значительное воздействие и чувствительных к более слабым, бесспорна, но она может быть преодолена с помощью дополнительных тестов, хорошо оценивающих именно этот участок шкалы доз. Так или иначе, по результатам опыта следует констатировать, что наилучшим образом полученную организмом дозу бета-облучения характеризует сочетание ЩФК, ЩФП и АСТК, его биоиндикаторный потенциал значительно выше по сравнению с другими показателями примененного набора тестов.

Такой вывод согласуется с данными факторного анализа, представленными в табл. 2. С помощью факторного анализа, одного из наиболее мощных статистических методов минимизации описания исходных массивов данных, первоначальные 8 признаков, имеющих явный биологический смысл, удалось представить пятью факторами—скрытыми, пере-

менными определяющими экспериментально установленные связи. Приведенные в табл. 2 значения факторных нагрузок являются коэффициентами корреляции соответствующих факторов с заданными параметрами. В основе изменчивости измеренных в опыте показателей лежат 3 первых фактора, аппроксимирующих, таким образом, весь полученный материал. Видно, что в матрице факторных нагрузок с первым фактором, отражающим дозу облучения, теснее всего связаны АСТК, ЩФК, ЩФП, а также вес крыс—с увеличением дозы он снижается. Вторым фактор интерпретируется как фактор плазмы крови; третий—фактор АЛТК, 4 и 5 факторы незначимы, но их истолкование ничего не меняет в оценке корреляции уровня ферментативной активности с вели-

Таблица 2
Факторная матрица дозовых связей 8 переменных

Переменные	Ф а к т о р ы				
	I	II	III	IV	V
Доза	—875	103	—268	039	002
Вес	762	—167	236	—050	108
АСТП	092	703	261	—055	—410
АСТК	832	225	—018	046	187
АЛТП	—207	656	217	—231	408
АЛТК	384	357	—602	363	—111
ЩФП	—480	628	158	098	—025
ЩФК	—786	086	—164	—008	—316

Примечание. Ноль целых и запятая опущены.

чиной дозы. Уровни ЩФК, ЩФП и АСТК в совокупности не только удовлетворительно характеризуют тяжесть поражения кожных покровов крыс на высоте развития его клинических проявлений, но и учитывают при совместном использовании полученную организмом дозу излучения. Следовательно, они могут быть рекомендованы для биодозиметрических исследований в ранние постлучевые сроки.

Полученные данные, кроме сугубо утилитарного значения, представляют и самостоятельный интерес. Сопутствующая внешнему бета-облучению картина поведения исследованных энзимов описана в литературе только для ЩФК [20], причем в самом общем виде, без анализа характера зависимости доза—эффект, но в целом имеющиеся материалы соответствуют нашим. Пострадиационные же реакции других использованных в опыте систем энзим—ткань ранее не изучались, поэтому здесь возможно сопоставление с результатами рентгеновского или гамма-облучения, да и то лишь в отношении ферментов сыворотки. Такие сравнения выявляют своеобразие влияний бета-воздействий. Действительно, рентгеновское облучение животных сопровождается заметным угнетением активности щелочной фосфатазы сыворотки [18, 25], тогда как ЩФП в проведенном эксперименте имела как периоды снижения, так и подъема. Сложен и неоднозначен характер поведения трансаминаз сыворотки животных, подвергнутых рентгеновскому или гамма-

облучению [1, 2, 10—12, 16, 17, 22—24, 29]; он, как правило, отличается фазностью и определяется не только чисто физическими параметрами лучевой нагрузки, но и такими общими условиями, как вид и пол животного, вид анализируемой ткани, время, прошедшее с момента воздействия. Тем не менее в целом по чувствительности к этим типам излучений АСТ превосходит АЛТ. При бета-облучении, напротив, как можно убедиться, АСТП выглядит почти инертной, тогда как АЛТП обнаруживает достаточно высокую лабильность. Представляется неоправданным отнесение выявленных расхождений полностью за счет различий в химическом составе плазмы и сыворотки крови. По-видимому, мы сталкиваемся здесь главным образом с проявлением специфичности реализации действия малопроникающего бета-излучения ^{85}Kr . В таком случае подтверждается необходимость проведения специальных поисков тестов, пригодных для биодозиметрии бета-излучения.

Кафедра биохимии ЛГУ

Поступила 4/II 1980 г.

Վ. Բ. ՄԱՏՅՈՒՇԻՉԵՎ, Վ. Ռ. ՏԱՐԱՏՈՒԽԻՆ, Օ. Ե. ՏԻՄՈՖԵԵՎԱ,
Մ. ՅՈՒ. ԵՐՈՊԿԻՆ, Ի. ՅՈՒ. ԿԱՐՅԱԳԻՆԱ, Ի. Ե. ԿՐԱՍՈՎՍԿԱՅԱ, Ե. Վ. ԿՈՆԵՎԱ,
Լ. Ե. ԼԵՆԻՆՈՎԱ, Տ. Ե. ՊՐԻՅԱՏԿԻՆԱ, Ի. Ս. ՍՏԵՊԱՆՈՎԱ, Լ. Ի. ՏԻՇԵՆԿՈ,
Գ. Ի. ՉԻԽԻՐՉԻՆԱ

ՄԱՇԿԻ ՌԱԴԻԱՑԻՈՆ ՎԵՍՎԱՍԹԻ ԲԻՈԲԻՄԻԱԿԱՆ ՏԵՍՏԱՎՈՐՈՒՄԸ

Առնետների վրա ուսումնասիրված է 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 և 10 կռադ դոզաներով ^{85}Kr արտաքին բետաճառագայթման ազդեցությունը մաշկի ալանինամինատրանսֆերազայի, ասպարտատամինատրանսֆերազայի, ալկալիկական ֆոսֆատազայի և արյան պլազմայի ալտիվության վրա, որոնք չափված են ազդեցությունից 10 օր հետո: Ցույց է տրված օրգանիզմի ստացած դոզայի և մաշկային վնասվածքի ծանրության աստիճանի գնահատման հնարավորությունը՝ մաշկի ասպարտատամինատրանսֆերազայի, մաշկի և պլազմայի ալկալիկական ֆոսֆատազայի ալտիվության համատեղ նկատառման միջոցով:

V. B. MATYUSHICHEV, V. R. TARATOUKHIN, O. E. TIMOFEEVA,
M. Yu. EROPKIN, I. Yu. KARYAGINA, I. E. KRASOVSKAYA, L. I. TISCHENKO,
G. I. CHIKHIRZHINA

BIOCHEMICAL TESTING OF RADIOACTIVE DERMAL AFFECTION

The effect of internal beta-radiation of rats ^{85}Kr in doses 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 krad on the activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase of the skin and blood plasma has been studied 14 days after the influence. The possibility of evaluation of the dose received by the organism and the degree of the dermal affection gravity with the help of combined accounting of the

skin aspartate aminotransferase and skin and plasma alkaline phosphatase activity is shown in the paper.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ахунов А. А. Радиобиология, 1978, 3, стр. 423.
2. Гаилов Т. Д., Ахмедов В. М., Абишева В. М. Азерб. мед. ж., 1975, 2, стр. 31.
3. Батулин М. П., Главинская Т. А., Сахарова В. С. Мед. радиология, 1965, 1, стр. 62.
4. Задорожный Б. А., Звягинцева М. В. Лучевые поражения кожи. Киев, 1966.
5. Истомина Г. Н. Радиобиология, 1977, 1, стр. 100.
6. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. Минск, 1976.
7. Кукулянская М. Ф., Бородин Г. Н. В кн.: Актуальн. пробл. онкол. и мед. радиол., т. 3. Минск, 1973, стр. 355.
8. Пленин А. Е. Биохимия. Межвед. сб., 1973, вып. 1, стр. 75.
9. Пленин А. Е., Пусальская В. М., Ушаков А. А. Биол. и научн.-техн. прогресс. Пушчино, 1974, стр. 295.
10. Савицкий В. И. Укр. биохим. ж., 1973, 45, 4, стр. 462.
11. Савицкий В. И., Савченко Э. О., Солянина А. Г., Пирля Ю. И., Лукьянчук И. И. Мед. радиология, 1975, 9, стр. 68.
12. Суринов Б. П., Кашкин К. П., Бочкова Д. Н. Радиобиология, 1969, 4, стр. 522.
13. Табачник Д., Фрид Р. Рефер. секцион. сообщ. 5-й междунар. биохим. конгресс. М., 1961, стр. 447.
14. Хрипченко И. П., Белецкая О. А. В кн.: Актуальн. пробл. онкол. и мед. радиол., т. 3. Минск, 1973, стр. 389.
15. Худотеплый А. С. Тр. ЦНИИ курортологии и физиотерапии. М., 1975, 29, стр. 52.
16. Цыбульский В. В. Биофизика и радиобиология, вып. 2. Киев, 1968, стр. 23.
17. Шалух М. В., Пукальская В. М. Биол. и научн.-техн. прогресс. Пушчино, 1974, стр. 299.
18. Bathory E., Gottwald G., Soltesz L. Radiobiol.-radiother., 1973, 14, 1, 79.
19. Bessey O., Lowry O., Brock M. J. Biol. Chem., 1946, 164, 321.
20. Chang L., Tabachnick J. Brit. J. exp. pathol., 1972, 53, 3, 231.
21. Ghircolasu M., Clichici M., Uray Z. Stud. univ. Babes-Bolyai. Ser. biol., 1974, 19, 1, 123.
22. Nemec R. Casop. lecaru cesk., 1967, 106, 16, 420.
23. Rosler B. Radiobiol.-radiother., 1970, 11, 1, 89.
24. Rudnicki T., Wronski A. Nukleonika, 1970, 15, 9—10, 701.
25. Stepan J., Jojkowa K. Sb. lek., 1976, 78, 4, 91.
26. Tabachnick J., La Badie J. J. Invest. Dermatol., 1970, 55, 2, 89.
27. Tabachnick J., Perlsh J., Chang L., Freed R. Radiat. Res., 1967, 32, 2, 293.
28. Rapaha, R., Tabachnick J. Radiat. Res., 1976, 67, 3, 538.
29. Wendt E., Just H. Strahlentherapie, 1975, 149, 3, 333.