

УДК: (612.397+612.017)-053.6:612.014.48

## **Характеристика состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у подростков с иммунными нарушениями из семей радиационного риска**

**Д.А.Кашкалда, Н.В.Шляхова, Г.А.Бориско**

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины» (Харьков, Украина)  
iozdp@ukrpost.ua*

Проведено исследование интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы у подростков с нарушениями иммунного статуса из семей ликвидаторов последствий аварии (ЛПА). У потомков ЛПА формируется состояние оксидативного стресса, выраженность которого зависит от характера нарушения иммунной системы и пола подростка (в большей степени у девушек и при нарушении фагоцитарного звена иммунитета). Обнаружены множественные корреляционные межсистемные связи, указывающие на участие процессов ПОЛ в механизмах иммунной регуляции.

**Ключевые слова:** подростки – потомки ликвидаторов аварии на ЧАЭС, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, иммунная система.

## **Характеристика стану перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту у підлітків з імунними порушеннями із сімей радіаційного ризику**

**Д.А.Кашкалда, Н.В.Шляхова, Г.О.Бориско**

Проведено дослідження інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи у підлітків з порушеннями імунного статусу із сімей ліквідаторів наслідків аварії (ЛНА). У нащадків ЛНА формується стан оксидативного стресу, вираженість якого залежить від характеру порушень імунної системи і статі підлітка (більшою мірою у дівчат і при порушенні фагоцитарної ланки імунітету). Виявлено множинні кореляційні міжсистемні зв'язки, які вказують на участь процесів ПОЛ в механізмах імунної регуляції.

**Ключові слова:** підлітки – нащадки ліквідаторів аварії на ЧАЕС, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, імунна система.

## **Characteristic of the state of lipid peroxidation and antioxidant protection among adolescents with immune alterations from radiation risk families**

**D.A.Kashkalda, N.V.Shlachova, G.A.Borysko**

Intensity of lipid peroxidation (LPO) processes and antioxidant system were investigated among adolescents with alterations of immunological status from the families of liquidators of Chernobyl nuclear disaster (LCND). Among descendants of LCND, the condition of oxidative stress is formed, intensity of which depends on the character of immune system disorders and child's gender (more intensive among girls and at disturbances of phagocytosis component of immune system). Multiple correlative intersystem relations were revealed suggesting that LPO processes participate in the mechanism of immune regulation.

**Key words:** children of Chernobyl nuclear disaster liquidators, lipid peroxidation, antioxidant system, immune system.

### **Введение**

Вопрос радиоадаптации на сегодня остается нерешенным, и даже малые дозы поглощения ионизирующей радиации не могут считаться безопасными для отдельных клеток или для популяций организмов (Шибкова, Аклев, 2006). В случае действия ионизирующего излучения низкой интенсивности особенное значение приобретают процессы, связанные с образованием активных метаболитов кислорода (АМК), поскольку они при высоких концентрациях могут модифицировать макромолекулы и приводит к деструктивным изменениям в клетке вплоть до ее гибели, а при концентрациях, близких к физиологическим, – выполнять сигнальные функции. Поэтому даже относительно небольшой рост АМК будет влиять на экспрессию генов, репаративные, метаболические и биосинтетические процессы (Дубинина, 2001; Зенков и др., 2001). Важным фактором адаптации клеточного метаболизма при действии на организм ионизирующей радиации является поддержание прооксидантно-антиоксидантного равновесия (Барабой та ін., 1994).

Вместе с повреждающим действием свободнорадикальные реакции необходимы для функционирования многих жизненно важных систем, и в частности иммунной (ИС), для формирования адекватного иммунного ответа. При активации фагоцитов бактериальными антигенами образуются свободные радикалы, которые оказывают выраженное бактерицидное и противоопухолевое действие. Этот цитотоксический эффект свободнорадикальных соединений, который в норме выполняет защитную функцию (ликвидация патогенных микроорганизмов и клеточных мутантов), при определенных состояниях (например, при дефектах антиоксидантной системы (АОС), избыточном образовании свободных радикалов) в результате неконтролируемого их образования может приводить к необратимым повреждениям молекул белков, липидов и нуклеиновых кислот (Новоселова и др., 1999). Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), кроме прямого цитотоксического действия, обладают также и медиаторной активностью, будучи связующим звеном между иммунными и нейрогуморальными сдвигами (Tzortzis et al., 1997).

По данным литературы, у потомков ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС обнаружена дисфункция ИС (Коренев и др., 1993; Степанова и др., 1996; Траверсе, 1996). Показано, что иммунные расстройства у детей препубертатного возраста связаны с нарушением процессов ПОЛ (Шляхова, 2002).

Целью данного исследования явилось выяснение взаимоотношений между показателями ПОЛ, АОС и ИС у подростков с нарушениями иммунного статуса из семей ЛПА.

### Материалы и методы

Было обследовано 24 подростков 16–18 лет с иммунными нарушениями, в том числе 11 девушек и 13 юношей, родители которых принимали участие в ликвидации аварии в 1986–1987 гг. Группу сравнения составили 42 ровесника без радиационного риска (14 девушек и 28 юношей).

О состоянии АОС судили по активности глутатионпероксидазы (ГПО) (Mills, 1959), супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах (СОДэ) и сыворотке (СОДс) крови (Костюк и др., 1990). Определяли интенсивность индуцируемого ПОЛ (Кузьменко, Лаптев, 1999). Для оценки степени оксидативного стресса ввели интегральный показатель отношения интенсивности ПОЛ к уровню антиоксидантных ферментов – коэффициент оксидативного стресса (КОС). Состояние ИС оценивали по показателям клеточного (CD3+, CD4+, CD8+, CD22+), гуморального (иммуноглобулины А, М, G, циркулирующие иммунные комплексы) звеньев иммунитета, а также фагоцитарной (ФАН – количество фагоцитирующих клеток, Фч – среднее количество поглощенных микробных тел) и метаболической (НСТс и НСТи – тест спонтанный и индуцированный) активности нейтрофилов.

Полученные результаты подвергали статистическому анализу с помощью пакетов программ «Statgraphics Plus 5.0». Для оценки достоверности расхождений использовался критерий Вилкоксона-Манна-Уитни, а также корреляционный анализ Пирсона.

### Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что у подростков с нарушениями ИС из семей ЛПА отмечалось достоверное увеличение (на 25%) интенсивности процессов ПОЛ, в отличие от группы сравнения (табл.). Активность ферментов АОС не изменялась. Несостоятельность ферментативного звена, по-видимому, обусловила усиление процессов ПОЛ. Степень КОС была на 42,9% выше, чем в группе сравнения, что свидетельствует, очевидно, о формировании оксидативного стресса у подростков с иммунными нарушениями, рожденных в семьях ЛПА.

Одна из сторон взаимоотношения процессов ПОЛ–АОС и иммунной системы раскрылась в результате комплексной оценки путем математического анализа (рис.). При проведении корреляционного анализа у подростков без радиационного анамнеза обнаружены слабые, но достоверные связи активности ГПО с ФАН ( $r=-0,40$ ) и содержанием CD3+-лимфоцитов ( $r=-0,37$ ). Вместе с тем, у них наблюдались достаточно сильные негативные связи между интенсивностью ПОЛ и активностью СОДс ( $r=-0,71$ ;  $P<0,0001$ ). У потомков ЛПА, в отличие от группы сравнения, межсистемные взаимоотношения имели разносторонний характер, появились множественные, более крепкие связи со средними и высокими коэффициентами корреляции. Выявлены отрицательные связи уровня ПОЛ с метаболической активностью фагоцитарных клеток, в частности с индуцируемым ( $r=-0,67$ ;  $P<0,05$ ) и спонтанным ( $r=-0,63$ ;  $P<0,008$ ) НСТ-тестами. Обратная зависимость прослежена между активностью СОДэ и количеством CD8+-клеток ( $r=-0,73$ ;  $P<0,001$ ), а прямая – между ГПО и IgA ( $r=0,50$ ;  $P<0,05$ ). Наблюдалась аналогичная группе сравнения связь между активностью ПОЛ и СОДс.

У подростков из семей ЛПА наблюдались гендерные различия в функционировании АОС: у девушек снижена активность ГПО (на 18,1%,  $P<0,05$ ), у юношей – СОДс (на 11,9%,  $P<0,05$ ). Причем активность СОДс у юношей-потомков ЛПА ниже на 13% ( $P<0,05$ ) таковой в группе сравнения. Следует отметить, что у девушек интенсивность ПОЛ на 60% выше, чем в группе сравнения, и, вероятно, обусловлена снижением активности ГПО (на 15,3%,  $P<0,05$ ). Обращает на себя внимание высокий

уровень КОС у девушек (на 30,2%) по сравнению с юношами. У последних этот показатель не отличался от группы сравнения, а у девушек был в 2 раза выше, чем у ровесниц без радиационного анамнеза, что, скорее всего, указывает на наличие у них оксидативного стресса.

Анализ изменений межсистемных связей с учетом пола ребенка установил, что у юношей группы сравнения в основном повторяется та же зависимость, что и в общей группе (рис.). У девушек межсистемные взаимоотношения имеют разносторонний характер. Обнаружены достаточно сильные связи между активностью антиоксидантных ферментов и показателями ИС. Причем с показателями фагоцитарного звена иммунитета регистрировались позитивные корреляционные связи, а с показателями Т-системы – негативные. У девушек из семей радиационного риска некоторые связи аналогичны группе сравнения (СОДэ и CD8+), некоторые поменяли направленность (ГПО и CD3+). Появились отрицательные связи между показателями процессов ПОЛ и фагоцитарного звена. У юношей между активностью про- и антиоксидантной системы и показателями ИС чаще всего выявляются положительные связи. Обнаружена достаточно сильная связь активности СОД с некоторыми показателями В-звена иммунитета, в частности с содержанием иммуноглобулинов. Наблюдалась прямая зависимость интенсивности ПОЛ с количеством CD8+-клеток ( $r=0,85$ ;  $P<0,01$ ), активности СОДс с ФАН ( $r=0,77$ ;  $P<0,04$ ). Следует отметить, что у юношей зарегистрирована обратная корреляционная связь между интенсивностью ПОЛ и активностью СОДс и СОДэ.

При оценке характеристики изменений в ИС у подростков, рожденных от родителей-ЛПА, были выделены 2 группы: с нарушениями Т-системы (I группа) и фагоцитарного звена (II группа) (табл.).

**Таблица**  
**Показатели ПОЛ и АОС у подростков с нарушениями иммунного статуса из семей ликвидаторов аварии на ЧАЭС**

Показатели	Группы							
	Общая		I группа		II группа		Сравнения	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
ПОЛ, моль/л	25	0,15±0,01*	17	0,15±0,02*	8	0,17±0,02*	36	0,10±0,01
ГПО, мкмоль/мл/мин	20	10,77±0,55	14	10,63±0,68	6	11,11±1,02	41	11,12±0,44
СОДс, ед./мл/мин	20	1,44±0,05	14	1,48±0,06	6	1,35±0,09*	42	1,52±0,03
СОДэ, ед./мл/мин	20	30,58±0,93	14	30,80±0,81	6	30,05±2,63	35	31,25±0,53
КОС, усл. ед.	18	1,50±0,20*	12	1,40±0,20	6	1,70±0,33*	37	1,05±0,09

*Примечание: \*P<0,05 относительно группы сравнения.*

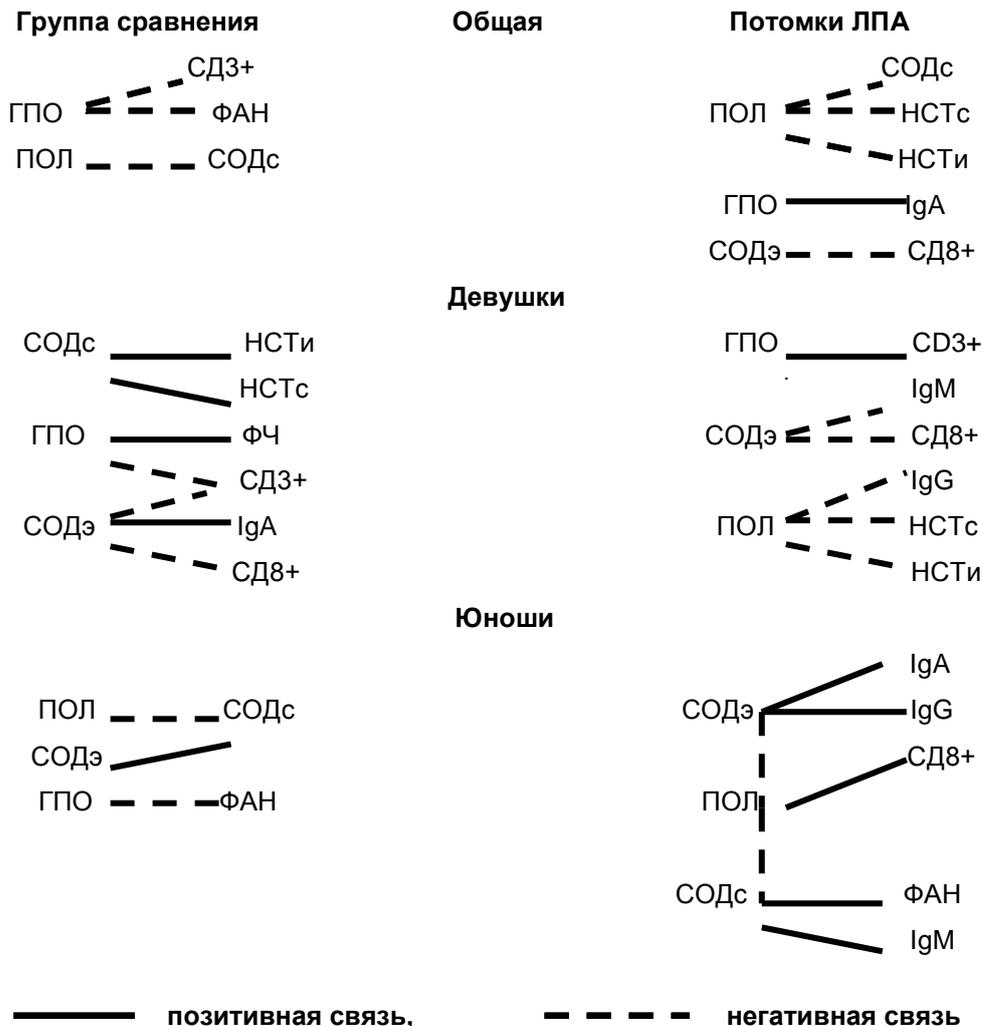
При нарушении клеточного иммунитета наблюдалась тенденция к увеличению интенсивности ПОЛ (на 25%,  $P<0,1$ ) в отличие от группы сравнения. При нарушении фагоцитарного звена отмечались более выраженные изменения, которые проявлялись увеличением (на 41,7%) уровня ПОЛ и небольшим, но достоверным снижением активности СОДс (на 11,2%,  $P<0,05$ ). КОС при нарушении фагоцитарного звена иммунитета, хотя и не достоверно, но существенно увеличивался (на 61,9%,  $P<0,1$ ) относительно группы сравнения.

Известно, что активация фагоцитарной клетки сопровождается увеличением активности фермента плазматической мембраны НАДН-оксидазы с формированием свободного молекулярного кислорода супероксиданион-радикала –  $O_2^{\bullet}$  и его протонной формы – гидропероксидного радикала –  $HO_2^{\bullet}$ , оба они образуют ряд других активных форм кислорода. Чрезмерное высвобождение свободных радикалов повреждает фагоциты и приводит к окислительно-восстановительному дисбалансу или оксидативному стрессу. Окисленные липиды обладают антигенными свойствами, запуская аутоиммунные процессы повреждения тканей.

Проанализировав корреляционные связи показателей про-антиоксидантной и ИС у потомков ЛПА с иммунными нарушениями, мы установили, что если изменения возникали в Т-системе, то формировались связи процессов ПОЛ с показателями, характеризующими фагоцитарное звено. В частности, интенсивность ПОЛ находилась в обратной зависимости с показателями НСТс и НСТи ( $r=-0,23$ ;  $P<0,01$  и  $r=-0,76$ ;  $P<0,006$  соответственно). При этом регистрировалась отрицательная связь активности СОДс с уровнем ПОЛ ( $r=-0,68$ ;  $P<0,02$ ) и прямая – с активностью СОДэ ( $r=0,70$ ;  $P<0,05$ ). Напротив, при нарушении фагоцитарного звена у подростков из семей ЛПА прослежены достаточно сильные связи активности АОС с показателями Т- и В-систем иммунитета. Обращает на себя внимание наличие тесных корреляционных связей между активностью СОДэ и содержанием CD8+-лимфоцитов ( $r=-0,99$ ;  $P<0,0003$ ), ГПО и IgG ( $r=0,95$ ;  $P<0,01$ ). Также обнаружена негативная взаимосвязь активности СОДэ и ПОЛ ( $r=-0,87$ ;  $P<0,05$ ).

Таким образом, у потомков ЛПА формируется состояние оксидативного стресса, выраженность которого зависит от характера иммунных нарушений и пола подростка. Оценивая в целом

антиоксидантний гомеостаз подростков с иммунными расстройствами, рожденных от родителей-ЛПА, мы установили дисбаланс в системе ПОЛ–АОС, в большей степени выраженный при нарушении фагоцитарного звена иммунитета и обусловленный интенсификацией индуцированного ПОЛ и угнетением активности СОДс. Обнаруженные изменения могли явиться одной из причин нарушения иммунного статуса потомков ЛПА. Обращают на себя внимание гендерные отличия со стороны изученных показателей. У девушек из семей с радиационным анамнезом интенсификация процессов индуцированного ПОЛ обусловлена угнетением активности ГПО, а у юношей – СОДс. Обнаруженный дисбаланс в системе ПОЛ–АОС у девушек свидетельствует, по-видимому, о формировании у них оксидативного стресса, подтверждением чему является увеличение в 2 раза уровня КОС по сравнению с ровесницами без радиационного анамнеза.



**Рис. Корреляционные связи между показателями ПОЛ–АОС и иммунной систем**

Проведенный корреляционный анализ раскрыл разные взаимоотношения между процессами ПОЛ, АОС и иммунной системой в зависимости от наличия радиационного анамнеза, пола подростка и характера нарушения ИС; подтвердил тесную связь между показателями ПОЛ–АОС и иммунного статуса; подчеркнул, что функционирование практически всех звеньев иммунитета находится в непосредственной зависимости от активности процессов ПОЛ и АОС. У подростков с иммунными нарушениями, рожденных в семьях ЛПА, в отличие от группы сравнения, обнаружены множественные межсистемные связи со средними и высокими коэффициентами корреляции, указывающие на участие процессов ПОЛ в механизмах иммунной регуляции. Следует отметить, что у девушек, в отличие от юношей, установлены достаточно сильные и преимущественно отрицательные связи между показателями про-антиоксидантной и ИС. У юношей из семей ЛПА подчеркивается подавляющее влияние активности СОД на иммунный статус.

Обнаруженные особенности изменений процессов ПОЛ и АОС при нарушениях ИС у потомков ЛПА диктуют необходимость дифференцированного подхода в выборе патогенетического лечения.

**Список литературы**

- Барабой В.А., Олійник С.А., Хмельвський Ю.В. Прооксидантна ланка окислювального гомеостазу за малих доз іонізуючої радіації та низької інтенсивності // Укр. біохім. журнал. – 1994. – Т.66, №3. – С. 3–16.
- Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме ткани при состояниях окислительного стресса // Вопросы мед. химии. – 2001. – Т.47, №6. – С. 561–581.
- Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспект. – М.: Маик, 2001. – 343с.
- Коренев Н.М., Голубова Е.В., Недригайло Л.В. Показатели состояния здоровья детей, рожденных в семьях ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Чернобыль и здоровье людей. – Киев, 1993. – С.167.
- Костюк В.А., Потапович А.К., Ковалева Ж.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т.36, №2. – С. 88–91.
- Кузьменко Д.И., Лаптев Б.И. Оценка резерва липидов сыворотки крови для перекисного окисления в динамике окислительного стресса у крыс // Вопросы мед. химии. – 1999. – №1. – С. 16–23.
- Новоселова Е.Г., Макар В.Р., Семилетова Н.В. и др. Участие антиоксидантов в регуляции клеточного иммунитета // Иммунология. – 1999. – №3. – С. 33–37.
- Степанова Е.И., Ванюрихина Е.А., Кондрашова В.Г. и др. Клиническая и цитогенетическая характеристика детей, родившихся от отцов – участников ликвидации Чернобыльской аварии, перенесших острую лучевую болезнь // Педиатрия. – 1996. – №1. – С. 63–64.
- Траверсе Г.М. Клінічні та параклінічні аспекти стану здоров'я дітей з сімей ліквідаторів аварії на ЧАЕС. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – К., 1996. – 36с.
- Шибкова Д.З., Аклеев А.В. Адаптационно-компенсаторные реакции системы кроветворения при хроническом радиационном воздействии. – М.: Изд-во РАДЭКОН; Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2006. – 346с.
- Шляхова Н.В. Особливості імунореактивності дітей, народжених від батьків-ліквідаторів аварії на Чорнобильській АЕС. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 2002. – 20с.
- Mills G.C. The purification and properties of glutathione peroxoydase of erythrocytes // G. Biol. Chem. – 1959. – Vol.234, №3. – P. 502–506.
- Tzortzis J.D., Sivik D.A., Chang D.L. et al. Chronic oxidative stress induces a hypertrophic phenotype and apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes // Circulation. – 1997. – Vol.96. – P. 149–153.

---

**Представлено: Л.А.Страшок**

**Рекомендовано до друку: Н.В.Багацькою**

*Подано до редакції: 13.04.2009*

© Д.А.Кашкалда, Н.В.Шляхова, Г.О.Бориско, 2009