

ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА У ЛЮДЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ В ЗНАЧИТЕЛЬНЫХ ДОЗАХ

В.И. ТЕЛЬНОВ, Г.В. ЖУНТОВА

Филиал №1 ГНЦ РФ – Институт биофизики г. Озерск, Челябинская область

Обследовано 416 работников предприятия атомной промышленности в возрасте от 52 до 78 лет, подвергшихся хроническому воздействию внешнего гамма-облучения в дозах 1,0-7,56 Гр и инкорпорации плутония-239, в 32,3% случаев превышавшей 1,5 кБк. У обследованных лиц изучена связь комплекса из 26 биохимических и иммунохимических показателей с радиационными факторами при разных генотипах гаптоглобина (Hr). В результате установлено, что наибольшее число изменений биохимических показателей, связанных с радиационным воздействием, наблюдалось у людей с генотипом Hr 2-2 (7 показателей), в меньшей степени - при генотипе 2-1 (5 показателей) и в еще меньшей степени - при генотипе 1-1 (4 показателя). У обследованных людей с генотипом Hr 2-2 по сравнению с лицами, имеющими другие генотипы, отмечено также более выраженное повышение энтропии сывороточных белков при одинаковых суммарных дозах внешнего гамма-облучения.

Ключевые слова: биохимический статус, генетический полиморфизм, генотипы гаптоглобина, внешнее гамма-облучение, инкорпорация плутония-239, эффекты облучения при генотипах, генетика радиорезистентности.

ВВЕДЕНИЕ. Известно, что человеческая популяция характеризуется значительным генетическим полиморфизмом. Примерно треть генов в геноме человека представлены двумя и более аллельными вариантами. Среди открытых генетических полиморфных систем преобладают ферментные и белковые системы крови [1]. Проблема биохимического полиморфизма и его медико-биологическое значение привлекает все большее внимание исследователей [2,3]. Столь выраженная генетическая гетерогенность у людей определяет их групповые и индивидуальные различия. Эти различия могут проявляться в виде неодинаковой предрасположенности к заболеваниям, неоднотипной реакции на неблагоприятные воздействия и своеобразия физиологических, в том числе биохимических, процессов у людей с разными генотипами [4-8]. Вышеизложенное свидетельствует о важности генотипического подхода к анализу медико-биологических явлений. В связи с этим изучение роли полиморфных генетических систем в эффектах облучения у людей представляется актуальной проблемой радиационной медицины и экологии. В последние годы в этом направлении получены обнадеживающие результаты [9-11].

Среди многообразных аспектов названной проблемы, включающих оценку роли отдельных генетических полиморфных систем в реакциях людей на облучение на разных уровнях биологической организации, в настоящем сообщении приводятся результаты изучения биохимического статуса у лиц с различными генотипами гаптоглобина (Hr), подвергшихся хроническому переоблучению в условиях профессионального контакта с источниками ионизирующего излучения.

МЕТОДИКА. Обследовано 416 работников первого в стране предприятия атомной промышленности (280 мужчин и 136 женщин) в возрасте от 52 до 78 лет, которые 35-40 лет назад подверглись хроническому внешнему переоблучению и воздействию аэрозолей плутония-239 (основная группа). Суммарные дозы внешнего гамма-облучения у обследованных людей колебались от 1,0 до 7,56 Гр. У 304 человек в те же сроки была диагностирована хроническая лучевая болезнь, вызванная преимущественно внешним переоблучением. При биофизическом обследовании у 344 человек была обнаружена инкорпорация плутония-239, в 32,3% случаев превышавшая 1,5 кБк [12].

Обследование состояло в проведении генетико-биохимического, биохимического и иммунохимического исследований. При этом генотипы Нр (1-1, 2-1 и 2-2) определяли с помощью вертикального электрофореза в 5% полиакриламидном геле [13]. Биохимическое обследование включало определение в сыворотке крови: холестерина (ХС), гликемии натощак (Го), энтропии электрофоретического состава сывороточных белков (ЭБ), мочевой кислоты (МК), гормонов щитовидной железы: трийодтиронина (Т₃) и тироксина (Т₄) радиоиммунологическим методом; группы клинически значимых ферментов и их изоферментов: аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) трансаминаз, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), кислой фосфатазы (КФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и ее изоферментов (ЛДГ 1-5), щелочной фосфатазы (ЩФ) и ее изоферментов: печеночной нормальной ЩФ (ЩФ_{пн}) и костной ЩФ (ЩФ_к) - [14]. Иммунохимическое обследование состояло из определения основных классов иммуноглобулинов (IgA, IgG и IgM) и циркулирующих иммунных комплексов при 3 и 4% концентрации полиэтиленгликоля-6000 (ЦИК₃ и ЦИК₄ соответственно). Использовали стандартизованные методы исследования, описанные ранее [15]. Кровь для исследования получали в утренние часы натощак. Индекс массы тела (ИМТ) определяли как отношение массы тела обследуемого в кг к квадрату роста в метрах.

Группу сравнения представили работники того же предприятия соответствующего возрастно-полового состава и стажа работы, у которых уровни радиационного воздействия не выходили за рамки допустимых пределов, в частности суммарные годовые дозы внешнего гамма-облучения не превышали 0,05 Гр, а инкорпорация плутония-239 в организме была ниже 0,740 кБк [12].

Статистическую обработку результатов исследования проводили на основе общепринятых методов биометрии [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ При сопоставлении исследованных показателей в основной группе относительно группы сравнения были выявлены некоторые изменения. Они заключались в повышении ЭБ, МК и частоты выявления костной ЩФ у переоблученных людей (табл. 1). По остальным показателям различий не обнаружено. При сравнении исследованных показателей у мужчин и женщин основной группы установлены определенные отличия. Так, у мужчин более высокими были значения МК и АЛТ, а у женщин - ХС, ЛДГ, ЩФ и ее изоферментов, что в основном согласуется с литературными сведениями [17].

Сравнительный анализ показал, что лица основной группы, имеющие разные генотипы Нр, были сопоставимы по уровням радиационного воздействия и основным биологическим характеристикам (табл. 2). Это позволило провести изучение исследованных показателей в зависимости от величины радиационного воздействия у людей при разных генотипах Нр.

На первом этапе для оценки характера и степени изменений исследованных показателей у облученных людей использовали дисперсионный анализ с выделением двух градаций по величине суммарной дозы внешнего гамма-облучения (менее и более 3,5 или 4,0 Гр) и уровню инкорпорации плутония-239 (менее и более 1,48 кБк).

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови у обследованных людей

Показатели	Группа сравнения		Основная группа	
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
ХС, ммоль/л	109	$6,13 \pm 0,26$	416	$6,48 \pm 0,09$
Г _о , ммоль/л	151	$5,3 \pm 0,08$	—	$5,5 \pm 0,05$
ЭБ, усл. ед.	—	$1,2506 \pm 0,0119$	—	$1,2895 \pm 0,0081^*$
МК, мкмоль/л	—	$300 \pm 8,0$	—	$343 \pm 6,5^*$
Т ₃ , нмоль/л	82	$1,29 \pm 0,024$	222	$1,24 \pm 0,024$
Т ₄ , нмоль/л	—	$125 \pm 2,0$	—	$126 \pm 2,3$
АЛТ, нмоль/с. л	151	$136 \pm 8,5$	416	$138 \pm 4,5$
АСТ, нмоль/с. л	—	$97 \pm 6,8$	—	$107 \pm 5,8$
ГГТП, нмоль/с. л	—	610 ± 41	—	604 ± 30
КФ, нмоль/с. л	90	$178 \pm 7,5$	—	$177 \pm 3,9$
ЛДГ, нмоль/с. л	118	1405 ± 44	—	1468 ± 26
ЛДГ - 1, %	—	$27,4 \pm 0,32$	—	$27,8 \pm 0,21$
ЛДГ - 2, %	—	$35,1 \pm 0,43$	—	$34,3 \pm 0,26$
ЛДГ - 3, %	—	$22,5 \pm 0,31$	—	$23,1 \pm 0,20$
ЛДГ - 4, %	—	$6,8 \pm 0,17$	—	$7,0 \pm 0,12$
ЛДГ - 5, %	—	$7,9 \pm 0,24$	—	$7,7 \pm 0,17$
ЩФ, нмоль/с. л	—	$409 \pm 15,1$	—	$430 \pm 8,7$
ЩФпн, нмоль/с. л	—	$345 \pm 13,5$	—	$347 \pm 7,8$
ЩФк, %	—	$29,4$	—	$48,5^*$
ЩФк, нмоль/с. л	35	$110 \pm 11,7$	189	$85 \pm 9,4$
Ig A, г/л	94	$2,20 \pm 0,11$	351	$2,31 \pm 0,05$
Ig G, г/л	—	$11,87 \pm 0,45$	—	$11,80 \pm 0,19$
IgM, г/л	—	$1,23 \pm 0,09$	—	$1,29 \pm 0,03$
ЦИК ₃ , усл. ед.	—	$0,24 \pm 0,007$	—	$0,25 \pm 0,005$
ЦИК ₄ , усл. ед.	—	$0,31 \pm 0,009$	—	$0,31 \pm 0,006$

Примечание: здесь и далее $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ - средняя арифметическая с ее ошибкой; * $p < 0,05$ по отношению к группе сравнения

Таблица 2. Сравнительная характеристика обследованных людей с разными генотипами гаптоглобина ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показатели	Типы Нр		
	1 - 1	2 - 1	2 - 2
	n	n	n
	54	202	160
Суммарная доза γ - облучения, Гр	$2,81 \pm 0,24$	$2,96 \pm 0,12$	$2,91 \pm 0,14$
Максимальная доза γ - облучения за год, Гр	$1,17 \pm 0,13$	$1,16 \pm 0,08$	$1,24 \pm 0,09$
Доля лиц с инкорпорацией ^{239}Pu	85,2%	79,7 %	85,6 %
Содержание ^{239}Pu у лиц с инкорпорацией, кБк	$3,093 \pm 0,907$	$2,790 \pm 0,585$	$2,505 \pm 0,437$
Средний возраст, лет	$61,6 \pm 0,91$	$60,0 \pm 0,34$	$60,2 \pm 0,42$
Доля женщин	37,0 %	32,7 %	31,9 %
Индекс массы тела (ИМТ)	$28,6 \pm 0,51$	$28,1 \pm 0,32$	$27,7 \pm 0,33$

Выделенные согласно градациям подгруппы людей были сопоставимы по среднему возрасту (58,8-61,3 года) и ИМТ (27,7-28,6). Учитывая половые различия, о которых говорилось выше, анализ проводили у мужчин и женщин отдельно. При двухфакторном дисперсионном анализе биохимических и иммунохимических показателей у лиц основной группы были выявлены изменения некоторых из них, связанные только с

внешним облучением и имеющие в ряде случаев половые особенности (табл. 3). В частности, у мужчин и женщин при суммарной дозе внешнего гамма-облучения

Таблица 3. Дисперсионный анализ сдвигов показателей у обследованных людей при внешнем облучении

Показатели	Пол	Характер изменений показателей	Результаты дисперсионного анализа		
			η^2 (%)	F	p
ХС	Ж	Повышение	3,3	4,25	< 0,05
МК	М+Ж	Повышение	2,9	8,21	< 0,01
ЭВ	М+Ж	Повышение	1,8	4,90	< 0,05
ТЗ	М+Ж	Снижение	2,6	5,83	< 0,05
ЛДГ	Ж	Повышение	3,8	5,11	< 0,05
ЩФ	М	Повышение	2,4	6,35	< 0,05
ЩФк, %	М	Повышение	1,6	3,85	< 0,05

Примечание: градации внешнего гамма-облучения: 1,0-4,0 и более 4,0 Гр; для ТЗ: 1,0-3,5 и более Гр; η^2 – сила статистического влияния факторов; F – критерий Фишера.

более 4,0 Гр были повышены значения МК и ЭВ, а при суммарной дозе более 3,5 Гр – снижен уровень ТЗ. У мужчин при суммарной дозе более 4,0 Гр наблюдалось повышение активности ЩФ и частоты выявления ее костного изофермента. При той же дозе у женщин отмечалось повышение уровня ХС и активности ЛДГ (табл. 3). При этом спектр изоферментов ЛДГ существенно не изменялся. Остальные показатели не обнаружили зависимости от радиационных факторов. Следует отметить, что значения перечисленных выше показателей у людей с суммарной дозой облучения менее 3,5-4,0 Гр соответствовали популяционной норме, а их изменения, отмеченные в таблице 3 при больших градациях радиационных факторов, как правило, не выходили за рамки физиологических колебаний, то есть были умеренными.

Полученные результаты стали основанием для проведения второго этапа исследования, а именно, оценки характера изменений перечисленных в таблице 3 показателей при радиационном воздействии у людей с разными генотипами Нр. В итоге было установлено (табл. 4), что повышение уровня МК при суммарной дозе гамма-облучения более 4,0 Гр наблюдалось только у лиц с типами Нр 2-1 и 2-2 и отсутствовало при типе 1-1. В отличие от МК более высокая активность ЩФ и частота выявления костной ЩФ у мужчин при той же дозе внешнего воздействия, а также повышение активности ЛДГ у женщин при соответствующих дозах внешнего облучения обнаружались при всех генотипах Нр. Однако вследствие выделения генотипических групп и, следовательно, уменьшения числа людей в них от исходного, сдвиги последних двух показателей не достигали достоверности. Повышение ХС у женщин при суммарной дозе более 4,0 Гр и снижение ТЗ у мужчин и женщин при суммарной дозе более 3,5 Гр также имели генотипические особенности, а именно, наблюдались у людей с генотипом Нр 2-2 и отсутствовали при типах 1-1 и 2-2.

Что касается ЭВ, то увеличение этого показателя у обследованных людей при суммарной дозе внешнего облучения более 4,0 Гр наблюдалось при всех генотипах Нр. Вместе с тем, можно было отметить ее более высокие значения при меньших и больших дозах облучения у лиц с генотипом 2-2 по сравнению с соответствующими дозами облучения у людей с другими генотипами (табл. 4). Учитывая, что у практически здоровых людей с разными генотипами Нр величина ЭВ не различается [6], можно предположить, что более выраженный сдвиг ЭВ у обследованных лиц с генотипом 2-2 отражает повышенную реакцию на облучение, однако, данное предположение требует дальнейшего изучения. Необходимо отметить, что для тех показателей, которые не

обнаружили связи с радиационным воздействием при дисперсионном анализе у всего контингента облученных людей, не было выявлено каких-либо изменений при разных уровнях радиационного воздействия в подгруппах с отдельными генотипами Нр.

Таблица 4. Биохимические показатели у людей с разными генотипами гаптоглобина при различных уровнях радиационного воздействия ($\bar{X} \pm S_x$)

Показатели	Пол	Тип Нр 1-1		Типы Нр 2-1 и 2-2	
		Суммарная доза γ -облучения, Гр:			
		1,0 - 4,0	> 4,0	1,0 - 4,0	> 4,0
МК, мкмоль/л	М+Ж	363 \pm 29	368 \pm 32	332 \pm 6	377 \pm 14*
ЛДГ, нмоль/с.л	Ж	1431 \pm 125	1550 \pm 243	1503 \pm 47	1605 \pm 101
ЩФ, нмоль/с.л	М	392 \pm 32	485 \pm 35*	403 \pm 10	477 \pm 24*
ЩФк, %	М	40,0	57,1	36,5	53,0
ХС, ммоль/с.л Энтропия белков, усл. ед. Т ₃ , нмоль/л	Ж М+Ж М+Ж	Типы Нр 1-1 и 2-1		Тип Нр 2-2	
		Суммарная доза γ -облучения, Гр:			
		1,0 - 4,0	> 4,0	1,0 - 4,0	> 4,0
		6,6 \pm 0,23	6,6 \pm 0,43	6,6 \pm 0,22	7,6 \pm 0,44*
		1,2605 \pm 0,0092	1,3029 \pm 0,0139*	1,2932 \pm 0,0112	1,3491 \pm 0,0178*
		Суммарная доза γ -облучения, Гр:			
		1,0 - 3,5	> 3,5	1,0 - 3,5	> 3,5
		1,27 \pm 0,029	1,19 \pm 0,054	1,28 \pm 0,040	1,04 \pm 0,048*

* - отмечены достоверные ($p < 0,05$) различия в подгруппах с разными уровнями радиационного воздействия при одинаковых генотипах Нр

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о важном значении генетической системы Нр в проявлении молекулярных эффектов хронического переоблучения у людей. В целом наибольшее число изменений биохимических показателей при радиационном воздействии наблюдалось у людей с генотипом 2-2, в меньшей степени - при типе 2-1 и в еще меньшей степени - при типе 1-1 (табл. 4). Эти генотипические особенности в биохимических сдвигах у обследованных лиц вероятно отражают неодинаковую реакцию на облучение, связанную с генотипами Нр, и хорошо согласуются с данными о различиях в радиочувствительности людей при разных генотипах Нр, полученными нами ранее при оценке других показателей [10,18].

При содержательной оценке наблюдаемых биохимических сдвигов у людей, облученных в значительных дозах (более 3,5-4,0 Гр) следует отметить, что их большая часть (повышение активности ЩФ и частоты выявления ЩФк у мужчин, повышение содержания ХС у женщин, увеличение ЭБ и снижение Т₃ на фоне неизменного Т₄ у мужчин и женщин) могут указывать на ускорение инволюционных изменений, по крайней мере, на молекулярном уровне. Более выраженный характер этих изменений у людей с генотипом Нр 2-2 совпадает с имеющимся в литературе представлением об относительно меньшей жизнеспособности носителей данного генотипа [19].

ЛИТЕРАТУРА

1. Харрис Г. (1973). Основы биохимической генетики человека. М.: Мир.
2. Алтухов Ю.П. (1989) Генетические процессы в популяциях. М.: Наука.
3. Тосиюки Я., Кадзунори Ц., Сусуму С., Масатака А., Тамияо Я., Масая А. (1979) Биохимия наследственности: Пер. с япон. М.: Медицина.
4. Долматова И.Ю., Рафигов Х.С. (1990) 2-ой Всес. съезд мед. ген.: Тез. докл. М.: 133.
5. Касенов К.У., Сундетов Ж.С. (1985). Генетика, **21**, 347-349.
6. Тельнов В.И. (1994). Клин. лаб. диагностика, №1. 35-37.
7. Токарская З.Б., Тельнов В.И., Сурина А.Г. (1994). Лаб. дело. №4 52-55.
8. Schwaib B.K., Talukder G., Sharma A. (1980). Med. Biol., **58**, 246-263.
9. Левин В.И., Иванов Е.П., Буглова Е.Е., Муравская Г.В., Семенов Г.В. (1990) 2-ой Всес. съезд мед. ген.: Тез. докл. М., 250.
10. Тельнов В.И. (1993) Современные достижения мед. радиологии: Тез. докл. конф. С.-П., 327-330.
11. Backman L., Norderson L. (1988). Hum. Hered. **38**. 56-58.
12. Нормы радиационной безопасности НРБ-76/87 и Основные санитарные правила работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений ОСП-72/87. М.: Энергоатомиздат, 1988.
13. Спицын В.А. (1985) Биохимический полиморфизм человека. М: Изд-во МГУ.
14. Тельнов В.И. (1994). Мед. труда, №2, 4-8.
15. Тельнов В.И., Вологодская И.А., Кабашева Н.Я. (1993). Мед. радиол., **38**, 8-12.
16. Плохинский Н.А. (1970). Биометрия. М.: Изд-во МГУ.
17. Клиническая оценка лабораторных тестов (1986) /ред. Н.У. Тиц: Медицина, 480 с.
18. Тельнов В.И. (1994). Генетика, **30**, 1274-1277.
19. Раутиан Г.С., Мироненко В.П., Калабушкин В.А. (1988). Генетика, **24**, 2226-2236.

THE GENOTYPE ANALYSIS OF THE BIOCHEMICAL STATUS AT THE SIGNIFICANT DOSES IRRADIATED PEOPLE

TELNOV V.I., ZHUNTOVA G.V.

Branch N1 SSC of Russian Federation - Institute of Biophysics, Ozyorsk, Chelyabinsk region

416 workers of the enterprise of a nuclear industry aged from 52 to 78 years exposed to chronic influence of external gamma - irradiation in summary doses 1,0-7,56 Gy and plutonium-239 incorporation, (in 32,3 % of cases exceeding the allowable limit) were studied. A correlation between a complex of 26 biochemical and immunochemical parameters and the radiating factors was investigated at different haptoglobin genotypes (Hp). It was established, that the greatest number of changes of biochemical parameters related to radiating influence, was observed at the people with a genotype Hp 2-2 (7 parameters), to a lesser degree - at a genotype Hp 2-1 (5 parameters) and in some more smaller degree - at a genotype Hp 1-1 (4 parameters). All investigated people with a genotype 2-2 were characterised by increase of serum protein entropy.

Key words: biochemical status, genetic polymorphism, haptoglobin genotypes, external γ -irradiation, Plutonium-239 incorporation, genetics of radioresistance.