

2000 107

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
КЫРГЫЗСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ПРОФИЛАКТИКИ И МЕДИЦИНСКОЙ ЭКОЛОГИИ**

---

На правах рукописи

**КУЛДАНБАЕВ  
НУРБЕК КУДАЙБЕРГЕНОВИЧ**

УДК 577.352+577.3:614.876

**ПРИМЕНЕНИЕ И ЗНАЧИМОСТЬ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО  
МЕТОДА В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ И ГИГИЕНИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЯХ**

14.00.25 - фармакология; 14.00.07 - гигиена

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Бишкек - 2000 г.

Работа выполнена на базе лабораторий:

- экспериментальной и клинической фармакологии адаптивных процессов ЦНИЛ Кыргызской государственной медицинской академии;
- гигиены окружающей среды и токсикологии Кыргызского НИИ профилактики и медицинской экологии.

Научные руководители:

доктор медицинских наук,  
профессор

А.З.Зурдинов

кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник

А.А.Шаршенова

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,  
старший научный сотрудник

В.Г.Барчуков

доктор медицинских наук,  
профессор

Б.С.Мамбеталиев

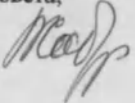
Ведущая организация: Российский университет дружбы народов

Защита диссертации состоится "23" июни 2000 г. в "14<sup>00</sup>" часов на заседании Специализированного Совета К 14.99.96 Кыргызской государственной медицинской академии по адресу: 720061, г.Бишкек, ул.Ахунбаева, 92.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеках Кыргызской государственной медицинской академии и Кыргызского НИИ профилактики и медицинской экологии

Автореферат разослан "22" мая 2000 г.

Ученый секретарь Специализированного Совета,  
кандидат медицинских наук, доцент

 Т.С.Сабирава

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Поиск и разработка качественных и быстрых методов для изучения ранних и неспецифических механизмов нарушения защитно-приспособительных реакций организма является актуальным направлением биологии и медицины.

К одним из наиболее используемых биофизических методов, позволяющих изучать процессы на уровне мембраны клеток, молекул веществ, относится хемиллюминесцентный анализ [Ю.А.Владимиров, 1991; Д.Ф.Шакиров, 1999; T.Iwaoka et al., 1987; W.L.Robison et al., 1997]. Данный метод позволяет, во-первых, определить наиболее ранние изменения в исследуемых объектах, во-вторых - прост, надежен, точен и экономичен, удобен при проведении рутинных измерений.

Возможности метода значительно расширяются при использовании хемиллюминесцентных зондов и активаторов, увеличивающих квантовый выход хемиллюминесценции [М.П.Шерстнев, 1991; P.Pei, S.M.Hsu, 1988].

Хемиллюминесцентный метод анализа можно использовать для изучения биологически активных веществ и проведения скрининга фармакологических препаратов, для оценки воздействия факторов окружающей среды на различные объекты [Ю.А.Владимиров, 1991; Я.И.Гонский и др., 1996; А.З.Зурдинов и др., 1999; A.Bast, 1996; H.Vaeuml et al., 1997].

Общезвестно, что результаты лечения зависят от оптимального контроля проводимой терапии и своевременного прогнозирования исхода заболевания. С этой целью предложены и нашли широкое применение такие методы, как определение в жидких средах организма уровня «средних молекул», парамеписный тест и др. Однако большинство из них обладают рядом существенных отрицательных сторон - низкая точность измерения, длительность проведения анализа, необходимость содержания лабораторных животных. Эти недостатки отсутствуют при проведении хемиллюминесцентного метода анализа.

Полученная с помощью биохемиллюминесцентного анализа объективная информация позволяет контролировать эффективность проводимых лечебных мероприятий, прогнозировать течение и исход заболевания у различных категорий больных [М.П.Шерстнев, 1991; W.A.Pryor, 1989].

Важное научно-практическое значение имеет использование метода биохемиллюминесценции для выявления и мониторинга изменений свободнорадикальных процессов в организме человека и животных при воздействии на них различных факторов окружающей среды [А.Б.Чешевик, И.Б.Буко, 1996; Д.Ф.Шакиров и др., 1999; G.Akerblom, 1995; J.D.Currey et al., 1997]. Среди физических факторов, которые оказывают существенное

влияние на жизнеспособность клеток живых организмов, на первом месте стоят ультрафиолетовое и ионизирующее излучения [Ю.А.Владимиров, 1989; E.Romano et al., 1997].

Проблеме радиационного мониторинга окружающей среды и состояния здоровья населения всегда уделялось особое внимание [С.П.Ярмоненко, 1994; Т.З.Сейсембеков и др., 1995; B.D.Amigo, 1997].

Одним из важных направлений научных исследований, в соответствии с принятой многими странами (в том числе Кыргызстаном) стратегии ВОЗ "Повестка дня на XXI век", является изучение влияния ионизирующего излучения на объекты окружающей среды и здоровье человека.

В Кыргызстане горнодобывающий и металлургический сектор относится к важнейшим отраслям экономики. В «Национальном плане по охране окружающей среды Кыргызской Республики» (1995) и «Государственном плане действия по гигиене окружающей среды Кыргызской Республики» (1999) отмечено, что в горнодобывающей отрасли существуют "горячие точки". Проблемными местами в данном секторе являются Кыргызский горнорудный комбинат в г.Кара-Балта, бывшая урановая шахта в пгт.Каджи-Сай, хвостохранилища и отвалы радиоактивных отходов в г.Майлуу-Суу, которые могут представлять реальную угрозу здоровью населения и экосистемам.

В связи с вышесказанным разработана качественная и информативная методика, позволяющая устанавливать наиболее ранние физико-химические изменения в различных объектах, вследствие воздействия на них ионизирующего излучения, является одним из актуальных проблем.

Работа выполнялась в рамках тем научно-исследовательских работ КГМА, КНИИПиМЭ (госрегистрационный №0000724) и программы INTAS 97-0842.

Цель работы. Оценка роли и возможности применения хемиллюминесцентного метода анализа в медико-биологических исследованиях.

В соответствии с целью исследования необходимо было решить следующие задачи:

- изучить течение свободнорадикального процесса в биологических объектах больных и здоровых людей при некоторых неинфекционных заболеваниях с помощью хемиллюминесцентного метода анализа;
- провести оценку эффективности фармакотерапии у лиц с ишемической болезнью сердца и отдаленными последствиями облучения хемиллюминесцентным методом анализа;
- исследовать степень облученности модельного фармакологического

объекта в эксперименте, используя хемиллюминесцентный метод анализа;

- изучить радиозоологическую ситуацию в районе размещения хвостохранилищ, отвалов горнодобывающих предприятий и селитебных зон;
- на основе хемиллюминесцентного метода анализа оценить степень радиоактивной загрязненности водных объектов изучаемых регионов.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые определена возможность применения хемиллюминесцентного метода анализа для выявления облученности ионизирующим излучением различных объектов. Для изучения свободнорадикальных процессов при радиационном воздействии (на примере водной среды и фармакологических соединений) в качестве модельной хемиллюминесцентной системы предложено применение желточных липопротеидов. С помощью метода биохемиллюминесценции проведен мониторинг фармакотерапии при некоторых неинфекционных заболеваниях.

Практическая значимость работы. На основе результатов экспериментальных исследований оценена возможность применения хемиллюминесцентного метода анализа в клинической медицине, фармакологии и гигиене. Использование метода хемиллюминесценции в лечебно-профилактических учреждениях позволяет проводить оценку эффективности лекарственной терапии, установить реальные сроки пребывания больных в условиях стационарного лечения. Хемиллюминесцентный анализ может быть отнесен к числу экспресс-методов и использован при осуществлении контроля качества водных объектов в целях определения их гигиенической безопасности.

Внедрение. Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедр фармакологии Кыргызской государственной медицинской академии и приборостроения технологического университета «Дастан».

Разработаны и утверждены 2 рационализаторских предложения: «Модификация калориметрического метода определения йод-ионов в воде» - №100 (27.08.96 г.); «Применение хемиллюминесцентного метода для оценки облученности объектов» - №114 (18.09.97 г.).

Результаты исследований использованы при реализации проекта экологического мониторинга по Чуйской области Национальным Центром экологической стратегии и политики при Министерстве охраны окружающей среды (справка №4U-111, от 23.12.98 г.).

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены: на II Международной конференции студентов и молодых ученых КГМА «Актуальные вопросы современной медицины» (Бишкек, апрель 1995 г.); на III съезде гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и

инфекционистов Кыргызской Республики (Бишкек, 1997 г.); на IV, V Международных конференциях «Социально-психологическая реабилитация населения, пострадавшего от экологических и техногенных катастроф» (Минск, май 1997 г., май 1998 г.); на IV Международном симпозиуме «Проблемы саногенного и патогенного эффектов экологического воздействия на внутреннюю среду организма» (Бишкек, июль 1999 г.); на заседании Ученого Совета КНИИПиМЭ (протокол №7 от 14 января 1999 г.), на расширенном заседании кафедры фармакологии и ЦНИЛ КГМА (протокол от 08.12.99 г.).

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Хемилюминесцентный метод анализа апо-В содержащих липопротеидов крови человека позволяет оценить скорость процесса перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца и провести мониторинг фармакотерапии при данном заболевании.
2. С помощью метода биохемилюминесценции возможна регистрация изменения уровня процесса свободнорадикального окисления в биообъектах, вследствие влияния радиационного фактора. У ликвидаторов аварий на Чернобыльской АЭС процесс перекисного окисления липидов плазмы крови протекает более интенсивно, чем у здоровых лиц, что является следствием воздействия ионизирующего излучения.
3. Хемилюминесценция биологических сред человека является интегральным показателем оценки эффективности фармакотерапии у больных с неинфекционной патологией. При этом реальные сроки окончания лечения больных могут определяться временем нормализации показателей хемилюминесценции биообъектов человека.
4. Маркером изменений физико-химических свойств различных объектов (вода, фармакологические соединения), при воздействии на них радиационного фактора, может служить модельная хемилюминесцентная система на основе желточных липопротеидов.
5. Данные, полученные на основе метода биохемилюминесценции, могут использоваться в качестве прогностического теста для оценки экологической ситуации. Изменения параметров хемилюминесценции в результате радиационного воздействия свидетельствуют о наличии дисбаланса в изучаемых объектах и необходимости проведения более детальных исследований.

Структура и объем диссертации: работа изложена на 124 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав, содержащих данные собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Диссертация

проиллюстрирована 1 схемой, 3 рисунками, 19 таблицами. Библиография представлена 243 источниками литературы (в т.ч. 109 на английском языке).

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследований. Биологическим материалом являлась плазма крови человека. В качестве стандартной хемилюминесцентной системы использовали суспензии желточных липопротеидов и апо-В содержащих липопротеидов крови человека [Ю.М.Лопухин, 1983; М.П.Шерстнев, 1990].

Измерение собственной хемилюминесценции желточных липопротеидов и плазмы крови проводилось по методу М.П.Шерстнева и соавт. (1991). Измерение активированной хемилюминесценции родамином Ж и нильским синим проводилось в соответствии с методами Т.Б.Атанаева и соавт. (1990) и Т.К.Азимбаева (1993).

Оценка параметров хемилюминесценции. Основными параметрами, которые учитывались в ходе исследований, были амплитуда быстрой ( $h$ ) и медленной ( $H_m$ ) вспышек свечения, интенсивность стационарной ( $H_s$ ) хемилюминесценции, время достижения максимума амплитуды стационарной ( $\tau$ ) хемилюминесценции, светосумма ( $S_6$ ) хемилюминесценции за 6 минут.

Для изучения эффекта ионизирующего излучения в качестве модельного объекта в эксперименте использовали лекарственный препарат - раствор феназепама (7-бром-(орто-хлорфенил)-2, 3-дигидро-1Н-1, 4-бензодиазепин-2-он) в диметилсульфоксиде. Данный фармакологический препарат подвергали гамма-облучению в дозе 0,5 Мрад.

Эколого-гигиенические исследования. Изучены результаты анализов на удельную альфа- и бета-радиоактивность проб воды, полученные в лаборатории радиологии Департамента госсанэпиднадзора МЗКР. Исследования были выполнены на приборах ДП-100-АД-М и УМФ-1500М в соответствии инструктивно-методического указания (1960).

Дозиметрические измерения осуществляли прибором типа СРП-68-01, поверенного в поле образцового гамма-источника из радия-226 на установке типа УПД-1 в Госагентстве по геологии и минеральным ресурсам Кыргызской Республики.

Статистическая обработка результатов. Полученные в ходе работы данные подвергались компьютерной обработке с помощью пакета программ Microsoft Excel и расчета критериев Стьюдента, Фишера.

Стандартная ошибка измерения  $\pm 1,6$  раз меньше, чем до облучения (табл. 4).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка эффективности фармакотерапии у пациентов с ишемической болезнью сердца. Для изучения процессов свободнорадикального окисления в организме человека при ишемической болезни сердца нами был применен метод регистрации хемилюминесценции плазмы крови человека.

Результаты хемилюминесцентных исследований показали (табл. 1), что у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) идет более интенсивно, чем у практически здоровых людей.

Согласно В.К.Серковой и соавт. (1998), возникновение и развитие ИБС сопровождается активацией свободнорадикального окисления липидов, что способствует дальнейшему прогрессированию заболевания и снижению антиоксидантной защиты организма.

Таблица 1

Активированная родамином Ж хемилюминесценция апо-В содержащих липопротеидов плазмы крови здоровых и больных ИБС людей

Параметры ХЛ	Интенсив-сть ХЛ, $\times 10^5$ квант/с 4л		Достов-ть различий
	Здоровые	Больные	
Кол-во проб - п	33	19	
Быстрая - h	11,3 $\pm$ 0,9	18,6 $\pm$ 1,6	p<0,001
Медленная - H <sub>н</sub>	12,7 $\pm$ 1,3	20,6 $\pm$ 0,7	p<0,01
Стационар.-H <sub>с</sub>	7,1 $\pm$ 0,4	13,5 $\pm$ 1,5	p<0,001

После проведения соответствующей фармакотерапии, которая включала: препараты влияющие на липидный обмен (клофибрат, ловастатин, холестирамин); нитраты (нитроглицерин, нитронг); бета-адреноблокаторы (анаприлин, метопролол); антагонисты кальция (верапамил, коринфар); аспирин; комплекс витаминов (аскорбиновая кислота, токоферола-ацетат, никотиновая кислота и др.), было установлено, что показатели хемилюминесценции апо-В содержащих липопротеидов крови больных ИБС практически не отличались от таковых здоровых людей (табл. 2).

Полученные в ходе исследований результаты согласуются с данными литературы. Комплекс препаратов, применяемых при атеросклерозе и ИБС, способствуют нормализации процессов свободнорадикального окисления липидов, восстанавливают антиоксидантную защиту крови и липидно-транспортную систему организма [М.П.Шерстнев, 1991; Ю.О.Теселкин и др., 1997].

практически нормализации и указателем ликвидности. Диссертация.

Таблица 2

Активированная родамином Ж хемилюминесценция апо-В содержащих липопротеидов плазмы крови здоровых и больных ИБС людей до и после лечения

Параметры ХЛ	Интенсивность ХЛ, $\times 10^5$ квант/с $\times 4л$		
	Здоровые	Больные	
		до лечения	после лечения
Кол-во проб - п	33	19	15
Быстрая-h	11,3 $\pm$ 0,9	18,6 $\pm$ 1,6*	12,1 $\pm$ 0,8**
Медленная-H <sub>н</sub>	12,7 $\pm$ 1,3	20,6 $\pm$ 0,7*	11,6 $\pm$ 1,1**
Стационарная-H <sub>с</sub>	7,1 $\pm$ 0,4	13,5 $\pm$ 1,5*	8,4 $\pm$ 0,7**
Достоверность	-	p<0,001*	p<0,001**

Примечание: \* - разница между здоровыми и больными, \*\* - разница до и после лечения

Оценка эффективности фармакотерапии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Использование хемилюминесцентного метода анализа для отслеживания свободнорадикальных процессов в биологических материалах человека, подвергшегося радиационному воздействию, следует отнести к новому направлению научных исследований в части мониторинга здоровья [Ю.А.Владимиров и др., 1991; М.П.Шерстнев, 1991].

В этой связи нами был изучен уровень перекисного окисления липидов крови «чернобыльцев», до и после проведения им соответствующей лекарственной терапии.

Результаты исследований показали, что у лиц, участвовавших в ликвидации аварии, отмечается интенсификация процесса перекисного окисления липидов, чем у здоровых обследуемых, что подтверждается увеличением светосуммы хемилюминесценции плазмы крови «чернобыльцев» в 1,2 раза (табл. 3).

Фармакотерапия ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС проводилась в зависимости от течения основной патологии и включала: психотропные средства (пиррацетам, диазепам, аминазин, амитриптилин и др.); препараты, устраняющие спазм мозговых сосудов (кавинтон, трентал); витамины (токоферола-ацетат, никотиновая кислота, аскорбиновая кислота и др.); биогенные стимуляторы (экстракт алоэ), а также использовались фармакологические средства для лечения сопутствующих заболеваний.

После проведения курса лечения у «чернобыльцев» достоверно снижались (p<0,001) параметры хемилюминесценции плазмы крови до таковых показателей практически здоровых лиц. В частности, максимум стационарной вспышки ХЛ у пациентов с отдаленными последствиями облучения был в 1,6 раза ниже, чем до лечения (табл. 4).

Таблица 3

Показатели активированной родамином Ж хемиллюминесценции плазмы крови у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС до лечения

Параметры ХЛ	Практически здоровые	Ликвид-ры аварии	Достов-ть
Количество - п	16	9	
Быстрая вспышка (h), отн.ед.	21,3±0,25	14,5±0,85	p<0,001
Макс. стационар. вспышка (Hmax), отн.ед.	32,0±0,90	39,0±0,65	p<0,001
Время достижения Hmax, мин.	2,7±0,12	3,3±0,27	p<0,05

Однако, время достижения максимума амплитуды стационарной хемиллюминесценции осталось выше у ликвидаторов аварии на ЧАЭС, чем у практически здоровых, что свидетельствует о качественном различии функции антиоксидантной системы крови «чернобыльцев».

Таблица 4

Показатели активированной родамином Ж хемиллюминесценции плазмы крови у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС после лечения

Параметры ХЛ	Практически здоровые	Ликвид-ры аварии	Достовер-ть
Количество - п	16	9	
Быстрая вспышка (h), отн.ед.	15,7±1,2	14,3±0,4	p>0,05
Макс. стац. ХЛ (Hmax), отн.ед.	23,5±2,3	24,3±1,6	p>0,05
Время достижения Hmax, мин.	2,3±0,1	3,2±0,2	p<0,001

Таким образом, проведение комплексной фармакотерапии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС приводит к значительному уменьшению скорости свободнорадикального окисления липидов.

Полученные результаты позволяют сделать следующие заключения: светосумма излучения хемиллюминесценции плазмы крови больных ишемической болезнью сердца и у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС в 1,2-1,6 раза выше, чем у практически здоровых лиц; проведение комплексной фармакотерапии позволяет снизить светосумму хемиллюминесценции плазмы крови у данной группы больных до уровня здоровых людей, что свидетельствует об увеличении антиоксидантной

активности их плазмы крови; реальные сроки лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и отдаленными последствиями облучения могут определяться временем нормализации показателей хемиллюминесценции их плазмы крови, в этой связи хемиллюминесцентный метод анализа можно рекомендовать для оценки эффективности проводимой фармакотерапии.

Применение метода хемиллюминесценции для оценки облученности ионизирующим излучением фармакологических объектов. Общеизвестно, что к первичным, или пусковым, радиобиологическим процессам относят два типа действия радиации: прямой и косвенный. Действие излучения на молекулы, приводящее к их поражению, относят к прямому действию. Под непрямым, или косвенным, действием понимают реакцию между растворенными молекулами и «активированными» молекулами (свободными радикалами) в растворах, которые в конечном счете приводят к изменению физико-химических свойств объектов воздействия.

В этой связи выявление таких изменений представляет большой научный и практический интерес.

В экспериментальных исследованиях нами в качестве стандартной липосодержащей системы, в которой инициировались процессы свободнорадикального окисления, использовались липопротеиды желтка. Модельным объектом, который был подвергнут действию ионизирующей радиации, являлся раствор феназепама в диметилсульфоксиде (ДМСО).

Выбор данного лекарственного соединения в качестве объекта изучения не был случайным, т.к. для радиационной медицины он представляет особый интерес.

Диметилсульфоксид обладает уникальной способностью проникать через биомембраны и оказывать бактерицидное, противовоспалительное, вазодилатирующее действие, связывает свободные радикалы, обладает радио- и криопротекторными эффектами, стабилизирует клеточную мембрану. Кроме того, как известно, у людей, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации, в клинической картине преобладает астеноневротический синдром. В этой связи, возможно, использование комбинации ДМСО с феназепамом, который является транквилизатором, будет эффективно для коррекции последствий лучевых поражений.

Результаты экспериментальных исследований показали, что изменение некоторых свойств объекта, который был подвергнут действию радиации, можно определить с помощью метода биохемиллюминесценции (рис. 1). На примере раствора феназепама в ДМСО было установлено, что после облучения препарата гамма-излучением его способность ингибировать

хемилюминесценцию желточных липопротеидов снижается на 10-15% ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, хемилюминесцентный анализ на основе желточных липопротеидов может быть применен для оценки степени облученности фармпрепаратов в качестве экспресс-метода.

**Радиозкологические исследования.** Общеизвестно, что существенный вклад в облучение населения могут вносить излучения от техногенных источников. В этой связи нами было изучено распределение мощности экспозиционной дозы гамма-излучения территорий, где ранее велась добыча и переработка радиоактивного материала и, одновременно, оценена суммарная радиоактивность водных объектов. Исследования были проведены в трех регионах: г. Майлуу-Суу, г. Кара-Балта и пгт. Каджи-Сай.

Анализ данных по гамма-фону показывает, что особое беспокойство вызывают хвостохранилища и отвалы радиоактивных отходов, расположенных в районе г. Майлуу-Суу, состояние которых можно характеризовать как крайне неудовлетворительное и опасное. На хвостохранилище в г. Кара-Балта установлена относительно благополучная радиационная ситуация. В районе пгт. Каджи-Сай обнаружены отдельные локальные точки с высокими значениями мощности экспозиционной дозы гамма-излучения на территориях завода, хвостохранилища и шахты.

Исследования, проведенные в населенных пунктах, показали, что радиационная обстановка в гг. Майлуу-Суу ( $17,0 \pm 0,5$  мкР/ч), Кара-Балта ( $18,1 \pm 0,8$  мкР/ч), пгт. Каджи-Сай ( $24,0 \pm 2,1$  мкР/ч) и прилегающих к ним селах в целом может характеризоваться как относительно благополучная, за исключением отдельных локальных точек в г. Майлуу-Суу ( $246,5 \pm 1,1$  мкР/ч и выше).

### Кинетика железоиницированной хемилюминесценции желточных липопротеидов в фосфатном буфере

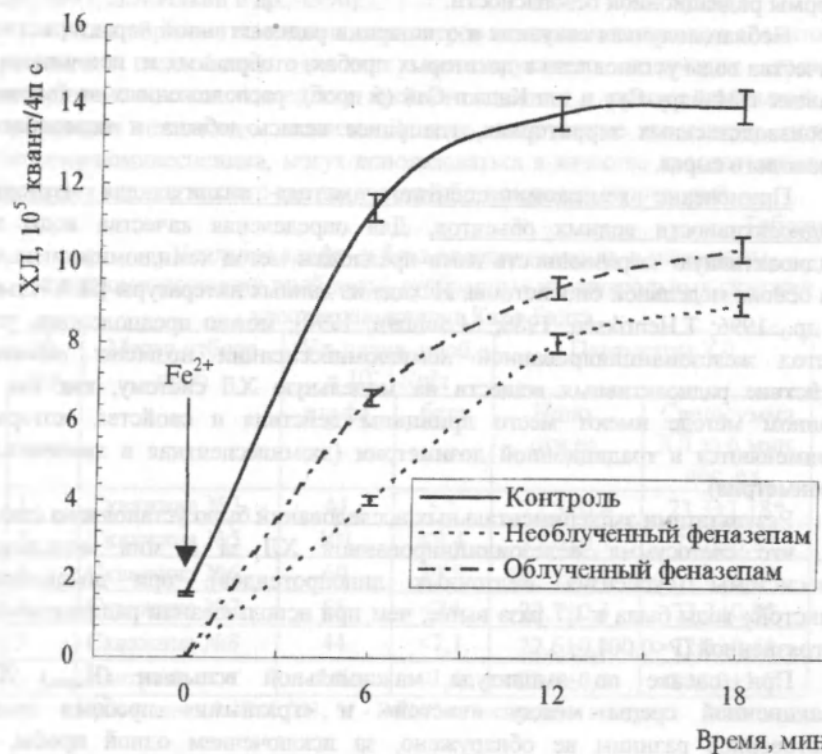


Рис. 1

Анализ данных по удельной альфа- и бета-радиоактивности водных объектов свидетельствует о том, что активность воды из водоисточников, используемых населением для хозяйственно-питьевых нужд, не превышала нормы радиационной безопасности.

Неблагополучная ситуация в отношении радиоактивной характеристики качества воды установлена в некоторых пробах, отобранных из источников в районе г. Майлуу-Суу и шт. Каджи-Сай (5 проб), расположенных на бывших производственных территориях, где ранее велась добыча и переработка уранового сырья.

Применение хемиллюминесцентного метода анализа для изучения радиоактивности водных объектов. Для определения качества воды на радиоактивную загрязненность нами предложен метод хемиллюминесценции на основе модельной биосистемы. Исходя из данных литературы [Л.А. Ильин и др., 1996; Т. Henriksen, 1988; M. Sohrabi, 1990], можно предположить, что метод железиницинированной хемиллюминесценции позволит выявить действие радиоактивных веществ на модельную ХЛ систему, так как в данном методе имеют место принципы действия и свойства, которые применяются в традиционной дозиметрии (люминесцентная и химическая дозиметрия).

Результатами экспериментальных исследований было установлено (табл. 5), что светосумма железиницинированной ХЛ за 6 мин модельной биосистемы (суспензия желточных липопротеидов), при добавлении «чистой» воды была в 1,7 раза выше, чем при использовании радиоактивно-загрязненной ( $P < 0,001$ ).

При оценке по амплитуде максимальной вспышки ( $N_{\max}$ ) ХЛ реакционной среды между «чистой» и «грязными» пробами воды достоверной разницы не обнаружено, за исключением одной пробы, у которой высокие значения определялись и по альфа- и по бета-удельной радиоактивностям, при этом  $N_{\max}$  у радиоактивно-загрязненной воды составила  $19,6 \pm 0,4$  отн. ед., против  $22,6 \pm 0,4$  отн. ед. контрольной пробы ( $P < 0,05$ ).

Из результатов анализа видно, что радиоактивно-загрязненные пробы воды обладали способностью ингибировать начальную стадию развития железиницинированной хемиллюминесценции желточных липопротеидов. Такое влияние «грязной» воды на хемиллюминесценцию модельной биосистемы, возможно, обусловлено тем, что под действием высокорективных молекул происходит окисление части соли  $Fe^{2+}$  до  $Fe^{3+}$ . Как известно, на стадии развития ХЛ важная роль отводится концентрации соли двухвалентного железа, который является источником свободных

электронов, инициирующих все последующие реакции свободнорадикального окисления липидов биологических объектов, сопровождающихся вспышкой хемиллюминесценции [Ю.А. Владимиров и др., 1991; Л.А. Ильин и др., 1996].

Таким образом, изменения параметров хемиллюминесценции объектов в результате воздействия на них ионизирующего излучения должны восприниматься как показатели вредного влияния и явиться сигналом для проведения детального анализа. Данные, полученные на основе метода биохемиллюминесценции, могут использоваться в качестве прогностического теста для оценки эколого-гигиенической безопасности территорий.

Таблица 5

Удельная альфа- и бета-радиоактивность и параметры хемиллюминесценции проб воды, отобранных из контрольных скважин хвостохранилища г. Кара-Балта

№ п/п	Место отбора проб	Уд. актив. проб, $\times 10^{-12}$ Ки/л		Параметры ХЛ	
		альфа	бета	$N_{\max}$ , отн. ед.	Светосумма ХЛ за 6 мин, абс. ед.
1	Скважина №1	44	3,5	$22,3 \pm 0,4$	$73,3 \pm 1,18^*$
2	Скважина №5	101	<9,4	$23,0 \pm 0,7$	$73,6 \pm 0,8^*$
3	Скважина №6	69	29,5	$19,6 \pm 0,4^{**}$	$61,0 \pm 8,2^*$
4	Скважина №7	66	<24	$22,7 \pm 0,4$	$73,3 \pm 0,5^*$
5	Скважина №8	44	<7,1	$22,6 \pm 0,4$	$72,3 \pm 0,4^*$
6	Контроль	2,8	<1,4	$22,6 \pm 0,4$	$124,0 \pm 3,9$

Примечание: \* -  $P < 0,001$ ; \*\* -  $P < 0,05$  относительно контроля

## ВЫВОДЫ

1. Хемиллюминесцентный метод анализа является чувствительным, высокоинформативным и может быть использован для решения задач экспериментально-клинической фармакологии и гигиены. Полученные на его основе данные могут служить интегральным показателем для оценки состояния больных, контроля эффективности проводимой лекарственной терапии и выявления воздействия радиационного фактора на различные объекты.
2. На основе хемиллюминесцентного метода анализа плазмы крови установлено, что уровень процесса перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца и ликвидаторов последствий



аварии на Чернобыльской АЭС в 1,2-1,6 раза выше, чем у практически здоровых лиц.

3. По данным хемилюминесцентного метода, проведение комплексной фармакотерапии позволило снизить процесс свободнорадикального окисления липидов в крови больных ишемической болезнью сердца и «чернобыльцев» до уровня здоровых людей. В связи с чем реальные сроки лечения больных с данными патологиями могут определяться временем нормализации показателей хемилюминесценции крови, а сам метод может быть рекомендован для оценки эффективности проводимой терапии.

4. Обнаружено, что при добавлении в реакционную среду раствора феназепама в диметилсульфоксиде, подвергнутого гамма-облучению, амплитуда стационарной хемилюминесценции снижалась на 20-25%, при использовании необлученного раствора данный показатель уменьшался на 35%.

5. Мощность экспозиционной дозы гамма-излучения на хвостохранилищах №4,5,11,18, расположенных в районе г.Майлуу-Суу, находилась в пределах  $89,5 \pm 13,3$  мкР/ч –  $247,0 \pm 1,8$  мкР/ч, подобные уровни были зарегистрированы практически на всех отвалах. На хвостохранилищах г.Кара-Балта и шт.Каджи-Сай уровни гамма-излучения достигали величин  $136,5 \pm 0,7$  мкР/ч и  $48,5 \pm 1,8$  мкР/ч, соответственно. Гамма-фон на территории селитебных зон, изучаемых населенных пунктов, находился в пределах естественного, за исключением отдельных локальных точек, обнаруженных в г.Майлуу-Суу.

6. Установлено, что светосумма железиницированной хемилюминесценции за 6 мин модельной биосистемы при добавлении контрольной пробы воды была в 1,7 раза выше, чем при использовании радиоактивно-загрязненной пробы.

7. Метод хемилюминесценции на основе желточных липопропротеидов, инициированной солями двухвалентного железа, может быть использован в качестве экспресс-анализа для выявления облученности различных объектов ионизирующим излучением и применен при осуществлении радиозэкологического мониторинга за объектами окружающей среды.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кулданбаев Н.К. Природные источники ионизирующего излучения (обзор). // Сб. научных трудов КНИИПиМЭ «Окружающая среда и здоровье

человека», Бишкек. - 1998. - Т. 4. - С. 96-102.

2. Кулданбаев Н.К. Радиоактивное загрязнение окружающей среды в результате деятельности человека (обзор). Там же, С. 102-111.

3. Кулданбаев Н.К. Использование и роль хемилюминесцентного метода в клинической медицине и в радиационных исследованиях (обзор). // Сб. научных трудов КНИИПиМЭ «Окружающая среда и здоровье человека», Бишкек. - 1999. - Т. 6. - С. 66-73.

4. Зурдинов А.З., Атанаев Т.Б., Тоялиев С.Т., Кулданбаев Н.К. Роль хемилюминесцентных исследований в клинической медицине. // Сб. научных трудов КГМА «Проблемы саногенного и патогенного эффектов экологического воздействия на внутреннюю среду организма», Бишкек. - 1999. - Ч. 2. - С. 47-52.

5. Кулданбаев Н.К., Зурдинов А.З., Шаршенова А.А. Применение хемилюминесцентного метода для качественной оценки облученности фармакологических средств ионизирующим излучением. Там же, С. 67-72.

6. Тоялиев С.Т., Атанаев Т.Б., Зурдинов А.З., Кулданбаев Н.К. Перекисное окисление липидов при ишемической болезни сердца в условиях высокогорья. Там же, С. 125-130.

7. Зурдинов А.З., Шаршенова А.А., Кулданбаев Н.К. Оценка эффективности фармакотерапии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с помощью хемилюминесцентного метода. // Наука и новые технологии. - 1999. - №3. - 69-71.

#### АННОТАЦИЯ

В диссертационной работе рассматриваются возможности применения хемилюминесцентного метода анализа в различных областях медицинской науки.

На основе хемилюминесцентного метода анализа плазмы крови показано, что процессы перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца и ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС протекают более интенсивно, чем у практически здоровых лиц. При этом установлено, что проведение комплексной фармакотерапии позволяет снизить процесс свободнорадикального окисления липидов в крови больных с данными заболеваниями.

Результаты экспериментальных исследований показали, что метод железиницированной хемилюминесценции на основе модельной системы желточных липопропротеидов может быть использован как экспресс-анализ для выявления облученности объектов ионизирующим излучением, в частности, фармакологических препаратов, водных сред и определения их безопасности.

Таким образом, метод биохемилюминесценции является

чувствительным, высокоинформативным и может быть использован для решения задач экспериментально-клинической фармакологии и гигиены. Полученные на его основе данные могут служить интегральным показателем для оценки состояния больных, контроля эффективности проводимой лекарственной терапии и выявления воздействия радиационного фактора на различные объекты.

#### АННОТАЦИЯ

Бул диссертациялык иште медицина илиминин ар-түрдүү тармагында хемиллюминесценттик анализдөө методун колдонуу мүмкүнчүлүгү каралган.

Хемиллюминесценттик изилдөө методикасынын негизинде липиддердин перекисдик кычкылдануу процесси ден-соолугу чын адамдарга караганда жүрөктүн стенокардия (ИБС) оорусу менен ооруган жана Чернобылдагы (АЭС) кырсыкты токтотууга катышкан адамдардын канынын плазмасында өтө тездик менен жүрөөрү көрсөтүлдү.

Ошондой эле, ушул методду колдонуунун негизинде, комплекстүү фармакотерапиянын натыйжасында оорулуулардын канында липиддердин эркин радикалдык кычкылдануу процессин төмөндөтүүгө мүмкүн экендиги аныкталды.

Иондоштурулган нурланууга таасир болгон заттарда, тактап айтканда сууну, фармакологиялык препараттарды изилдөөдө жана алардын зыянсыздыгын аныктоодо, темир менен күчөтүлүп колдонулган липопротеиддердин моделдик системасынын негизиндеги хемиллюминесценттик методун, экспресс-метод катары колдонууга боло тургандыгы такталды.

Демек, биохемиллюминесценттик методикасын гигиеналык жана эксперименттик-клиникалык фармакологиянын маселелерин чечүүдө өтө так жана маалыматка бай методика катары колдонууга болот.

Ушул методиканын негизинде алынган маалыматтар ар кандай объектидеги нурлануунун таасирлерин ачып көрсөтүүдө жана оорулуу адамдарды дарылоонун натыйжалуулугун текшерүүдө, оорулуулардын абалын баалоодо интегралдык көрсөткүч катары кызмат кыла алат.

#### SUMMARY

The thesis examines the possibilities of using chemiluminescent analysis in different fields of medical science.

By the use chemiluminescent analysis it was shown that lipid peroxidation is more intensive in patients ischemic heart disease and in Chernobyl accident clean-up workers than in apparently healthy persons. At the same time, it was found that drug therapy can reduce free radical-related lipid peroxidation in blood in patients with these diseases.

The results of experimental studies showed that iron-initiated chemiluminescence on a yolk lipoprotein mode system can be used as rapid assay for detecting ionizing radiation exposure in different objects such as pharmacological agents, water and determining their safety.

Thus, the biochemiluminescent method is sensitive, highly informative and can be used in addressing issues in experimental clinical pharmacology and hygiene. Data obtained by this method can serve as an integral indicator for the assessing patient's state, monitoring the effectiveness of drug treatment and detecting radiation exposure in different environmental and biological media.