

## ВЛИЯНИЕ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

К. Я. Буланова<sup>1)</sup>, Н. В. Герасимович<sup>1)</sup>, И. В. Пухтеева<sup>1)</sup>, С. М. Атрош<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Учреждение образования «Международный государственный институт имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета, ул. Долгобродская, 23/1,  
220070, г. Минск, Беларусь, [bulanova\\_home@tut.by](mailto:bulanova_home@tut.by)

Пролонгированное облучение в дозе 1 Гр приводит как к эритропении, так и к стимуляции антигипоксических механизмов: увеличению среднего объема эритроцитов, повышению в них концентрации гемоглобина и такому изменению его конформации, при которой увеличивается возможность отдачи кислорода тканям. Такие же конформационные изменения гемоглобина наследуются потомством первого поколения от самок, подвергнутых  $\gamma$ -облучению в течение всего периода беременности. Различия в изменениях вязкостных характеристиках плазматических мембран эритроцитов крыс, обусловленные разными поглощенными дозами, указывают на существование в мембранах неоднородных по вязкости липидных доменов, а также о стимуляции восстановительных процессов, приводящих к полной регенерации структурно-функциональных характеристик липидного компонента плазматических мембран при поглощенной дозе 0,5 Гр по сравнению с дозой 0,25 Гр.

**Ключевые слова:** пролонгированное облучение; мембрана эритроцитов; гемоглобин; эритроциты.

## THE EFFECT OF PROLONGED IRRADIATION ON THE ERYTHROCYTES IN EXPERIMENTAL ANIMALS

K. Y. Bulanava<sup>1)</sup>, N. W. Gerasimowitch<sup>1)</sup>, I. W. Puchteeva<sup>1)</sup>, S. M. Atrosch<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Dolgobrodskaya str., 23/1,  
220070, Minsk, Belarus, [bulanova\\_home@tut.by](mailto:bulanova_home@tut.by)

Prolonged irradiation at a dose of 1 Gy leads to both erythropenia and stimulation of antihypoxic mechanisms: an increase in the average volume of red blood cells, an increase in their hemoglobin concentration and a change in its conformation, which increases the possibility of oxygen release to tissues. The same conformational changes in hemoglobin are inherited by first-generation offspring from females exposed to gamma radiation throughout pregnancy. Differences in changes in the viscosity characteristics of the plasma membranes of rat erythrocytes due to different absorbed doses indicate the existence of lipid domains in the membranes with heterogeneous viscosity, as well as the stimulation of regenerative processes leading to complete regeneration of the structural and functional characteristics of the lipid component of plasma membranes at an absorbed dose of 0.5 Gy compared with a dose of 0.25 Gy.

**Keywords:** prolonged irradiation; erythrocyte membrane; hemoglobin; erythrocytes.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2025-1-27-30>

**Введение.** Радиационное облучение организма является одним из факторов риска для здоровья и жизни людей, которые в силу профессиональных обязанностей, условий быта или по медицинским показаниям определенное время вынуждены контактировать с источниками радиации. Кровь является наиболее чувствительной к действию радиации, а постлучевые изменения количества эритроцитов и структурно-функционального состояния молекул гемоглобина способны вызвать нарушение обеспеченности кислородом ряда органов и систем, следовательно, и их функций. Эритроциты, являясь высоко специализированными, безъядерными форменными элементами крови, признаны наиболее удобным объектом для изучения вязкост-

ных характеристик их плазматических мембран, играющими важную роль в координации работы по обеспечению клеток различных тканей кислородом. Целью данной работы является выявление особенностей влияния пролонгированного  $\gamma$ -облучения белых крыс в поглощённой дозе 1 Гр на содержание в крови эритроцитов и гемоглобина в них, а также на вязкостные свойства плазматических мембран и структурно-функциональные характеристики молекул гемоглобина для выработки предложений по коррекции нарушений кислородной обеспеченности органов и тканей в период реабилитации организма.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили: эритроциты, их плазматические мембраны и гемоглобин крыс. Пролонгированное облучение осуществляли на установке «ГАММАРИД-192/120» от цезиевого источника с мощностью дозы  $2,8 \times 10^{-7}$  Гр/с до суммарных поглощенных доз 1 Гр. Крысы, возраст которых на момент начала эксперимента составлял 120 суток, находились под облучением в течение 42 дней (с ежедневными перерывами (30 мин.) для кормления). Клеточный состав крови и содержание гемоглобина в эритроцитах определяли методом проточной цитометрии. Конформационное состояние гемоглобина оценивали по его собственной белковой флуоресценции, а также по кинетическим характеристикам взаимодействия молекул гемоглобина с флуоресцентным зондом 1-анилино-8-нафталинсульфонат (АНС). Относительные величины сорбции зонда регистрировали при длине волны возбуждения 365 нм и длине волны эмиссии – 465 нм. Ширина щелей монохроматора возбуждения испускания составляла 5 нм. Концентрацию гемоглобина на всех стадиях выделения и очистки контролировали на спектрофотометре UV-VIS-2501 PC «Shimadzu» (Япония). Также исследовали гемоглобин крыс (возраст 180 суток), подвергавшихся хроническому облучению в течение всего пренатального периода (21 сутки, суммарная доза 1,1 Гр при мощности  $7,8 \times 10^{-7}$  Гр/с). Кровь для исследований вязкостных характеристик мембран эритроцитов отбирали в пластиковые пробирки по 10 мл (в качестве коагулянта использовали гепарин), центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Осадок эритроцитов промывали переосаждением в физрастворе NaCl, операцию повторяли 5 раз, эритроцитарные мембраны, полученные после лизирования эритроцитов, осаждали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 30 мин при температуре 4 °С. Вязкостные характеристики плазматических мембран оценивались с использованием флуоресцентного зонда пирена (конечная концентрация 4 мкМ). В возбужденном состоянии молекулы пирена способны объединяться в долгоживущие комплексы-эксимеры, испускание квантов у которых смещено в более длинноволновую область по сравнению с мономером. Эксимеризация является диффузионно-контролируемым процессом и может характеризовать микровязкость окружения зонда. При возбуждении зонда светом с длиной волны 337 нм флуоресценция определялась суммарным вкладом пирена, локализованного как вблизи белка, так и в общей липидной фазе. При стимуляции флуоресценции квантами относительно низковолновой части спектра (286 нм) – эмиссия определялась молекулами пирена, расположенными в прибелковой области, так как формировалась за счет безизлучательного переноса энергии на зонд с мембранных триптофанилов. Для оценки полярности липидного бислоя и аннулярного липида использовалось отношение интенсивности флуоресценции при 385 нм и 373 нм мономерной части спектра пирена. Структурное состояние мембран оценивали по интенсивности флуоресценции мембранных триптофанилов, эксимеризации пирена; эффективности тушения пиреном триптофановой флуоресценции; полярности окружения зонда в области аннулярных липидов и липидном бислое. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре SFL - 1211A («Solar», Беларусь).

Результаты исследований. Пролонгированное облучение в дозе 1 Гр приводило (таблица 1) к снижению количества эритроцитов во все сроки постлучевого периода (3-30 сутки). Величина гематокрита уменьшилась только на 3 сутки после облучения. На фоне снижения числа эритроцитов наблюдалось увеличение среднего объема этих клеток, среднего содержания

в них гемоглобина, что обеспечивало сохранение нормального уровня гемоглобина в крови после облучения.

Таблица 1

**Гематологические параметры крови крыс  
после пролонгированного облучения в дозе 1 Гр**

Гематологические показатели	Контроль	Сроки после облучения		
		3 сутки	10 сутки	30 сутки
Эритроциты, *10 <sup>6</sup> /μl	7,86±0,12	6,84±0,085	7,30±0,2	6,89±0,18
Гемоглобин, g/l	133±3,85	124±2,35*	129±3,2	125±2,89
Гематокрит, %	36,5±0,67	33,1±0,47*	35,2±1,04	34,1±1,05
Средний объем эритроцитов, fl	46,4±0,4	48,3±0,48	48,2±0,45	49,4±0,56
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, pg	16,7±0,27	18,2±0,25*	17,8±0,2	18,2±0,15
Средняя концентрация гемоглобина, g/l	360±5,4	377±3,1	368±3,45	368±3,96

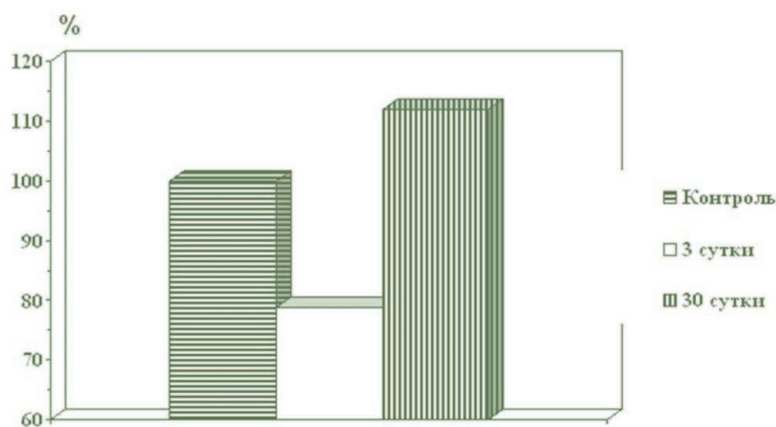
\* Достоверные различие по отношению к данным контроля.

Однако конформация самих молекул гемоглобина изменялась после пролонгированного облучения (рисунок). В контрольной группе животных выявлялось два центра связывания 1,8-АНС молекулой гемоглобина, а у облученных – одно (таблица 2). Снижение сродства гемоглобина к 1,8-АНС, а также уменьшение значений  $I_{max}$  позволило предположить, что причиной подобной перестройки является снижение степени гидрофобности окружения зонда в соответствующем центре связывания. Такие перестройки конформации гемоглобина указывают на повышение способности молекул к отдаче кислорода тканям. Также в постлучевой период в эритроцитах не выявлено увеличения количества метгемоглобина, способного снижать кислородную емкость молекул гемоглобина.

Таблица 2

**Физико-химические характеристики гемоглобина периферической крови крыс  
(возраст 180 суток), подвергнутых  $\gamma$ -облучению в пренатальный период**

Группа	$A_{575}/A_{540}$	Hb mM	$K_s^1 \cdot 10^{-6}M$	$K_s^2 \cdot 10^{-6}M$	$I_{max}^1$ отн.ед.	$I_{max}^2$ отн.ед.	Fe μM
<i>Контрольная группа</i>							
К-85	1,02	21,39		1,56		5,00	370
К-86	1,02	25,56	0,87	3,33	3,65	5,00	350
К-87	1,02	22,56	0,77	2,38	3,64	8,06	370
К-88	1,03	22,95	0,71	1,85	3,67	4,42	390
К-89	1,01	20,48	0,44	2,38	2,79	6,13	360
К-90	1,03	25,82	0,33	2,59	2,94	7,01	380
<i>Опытная группа</i>							
О-93	1,02	24,52	-	1,31	-	5,00	450
О-94	0,99	20,87	-	1,49	-	4,08	480
О-6	1,01	21,39	-	1,68	-	6,99	320
О-7	1,02	22,95	-	1,89	-	5,08	510
О-8	1,02	24,65	-	2,00	-	5,38	740
О-9	1,03	27,39	-	3,28	-	3,77	710
О-10	1,03	29,61	-	2,56	-	3,51	490



Изменение триптофановой флуоресценции гемоглобина крыс после пролонгированного  $\gamma$ -облучения в дозе 1 Гр

В плазматических мембранах пролонгированное  $\gamma$ -излучение в дозе 0,25 Гр приводило на 10-е сутки пострadiационного периода к увеличению полярности липидов, значительно уменьшению микровязкости (увеличению текучести) общего липидного бислоя мембран, но не затрагивало области аннулярных липидов. После облучения в дозе 0,5 Гр достоверных изменений параметров, характеризующих физическое состояние липидного бислоя и аннулярных липидов эритроцитарных мембран, не наступало. Возможно, скорость пострadiационного восстановления структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов могла быть выше после поглощённой дозы 0,5 Гр, чем после 0,25 Гр. Известно, что степень полярности, как правило, увеличивается за счёт плавления липидов. В наших исследованиях выявлено, что увеличение текучести липидного бислоя мембран действительно сопровождалось увеличением полярности общего липидного бислоя. Обнаружение после  $\gamma$ -облучения в дозе 0,25 Гр роста полярности в окружении зонда в прибелковом липиде, вязкостные характеристики которого не изменились, вероятно могут быть обусловлены существованием в мембранах неоднородных по вязкости липидных доменов

**Выводы:** Ионизирующее излучение в дозе 1 Гр приводит к эритропении и стимуляции антигипоксических механизмов: увеличению среднего объёма эритроцитов, повышению в них концентрации гемоглобина и изменению его конформации, позволяющей увеличить возможность отдачи кислорода тканям. Такие же конформационные изменения гемоглобина наследуются потомством первого поколения от самок, подвергнутых в период беременности пролонгированному  $\gamma$ -облучению. Различия в постлучевой период в изменениях вязкостных характеристиках плазматических мембран эритроцитов крыс, обусловленные разными поглощёнными дозами, указывают на существование в мембранах неоднородных по вязкости липидных доменов, а также о стимуляции восстановительных процессов, приводящих к полной регенерации структурно-функциональных характеристик липидного компонента плазматических мембран при поглощённой дозе 0,5 Гр по сравнению с 0,25 Гр. Полученные данные могут быть использованы для решения медико-биологических проблем в отношении категории людей, которые в связи с профессиональными обязанностями или аварийными ситуациями на радиационных объектах длительно подвергаются облучению от источников ионизирующих излучений.