

УДК 661.98+577.115 4:616-053.2:614.876

Є. І. Степанова✉, І. Є. Колпаков, В. В. Василенко, В. Г. Кондрашова, О. М. Литвинець,
В. М. Зигало*Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна*

ЗМІНИ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ У ДІТЕЙ-МЕШКАНЦІВ РАДІОАКТИВНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЙ

Мета дослідження: оцінка змін системи оксиду азоту за рівнем його стабільних метаболітів в сироватці крові та їх співставлення з вмістом ^{137}Cs в організмі дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій.

Матеріали та методи дослідження. Обстежені діти шкільного віку – мешканці радіоактивно забруднених територій. Визначення рівнів азотистих сполук (NO^{2-} та NO^{3-}) проводили за стандартною методикою з використанням реактиву Грісса. Вміст ^{137}Cs в організмі дітей визначали за допомогою лічильника випромінювання людини.

Результати. У дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій дослідження вмісту метаболітів оксиду азоту в сироватці крові виявило зниження рівня нітриту при відсутності достовірних змін вмісту нітрату і суми метаболітів NO . У значної частини дітей при підвищенні вмісту ^{137}Cs в організмі спостерігалось зниження рівня нітриту в сироватці крові.

Ключові слова: діти, Чорнобильська катастрофа, радіоактивно забруднені території, стабільні метаболіти оксиду азоту, ^{137}Cs .

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 334–344.

Ye. I. Stepanova✉, I. Ye. Kolpakov, V. V. Vasylenko, V. H. Kondrashova, O. M. Litvinets, V. M. Zyhala

State Institution “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

Changes in stable metabolites of nitric oxide in children-residents of radioactively contaminated territories

Objective. An evaluation of the changes in nitric oxide system by the level of its stable metabolites in the blood serum and their comparison with content of ^{137}Cs in the body of children-residents of radioactively contaminated territories.

Materials and methods. The children of school age, the residents of radioactively contaminated territories were examined. The levels of nitrogen compounds (NO^{2-} and NO^{3-}) were determined by the standard method using Griss-reagent. ^{137}Cs content was determined in the children body by whole-radioactive body counter.

Results. Studies of nitric oxide metabolite content in the blood serum revealed the decrease in nitrite level under an absence of the significant changes in nitrate content and sum of NO metabolites in the children-residents of radioactively contaminated territories. An increase in ^{137}Cs content in the body was accompanied by a decrease of nitrite level in the blood serum of a significant part of children.

Key words: children, Chernobyl accident, radioactively contaminated territories, stable metabolites of nitric oxide, ^{137}Cs .

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:334-344.

✉ Степанова Євгенія Іванівна, e-mail: profstepanova@i.ua

Спостереження за станом здоров'я дітей, які мешкають на радіоактивно забруднених територіях, свідчать про те, що його рівень залишається низьким, а механізми погіршення остаточно не визначені [1, 2].

Значне місце в цих механізмах з великою вірогідністю займає оксид азоту (NO). Проте вивченню цієї проблеми до теперішнього часу присвячені лише нечисленні експериментальні роботи. Важлива біологічна роль NO, підтверджена низкою досліджень, обумовила зацікавленість цією молекулою у теоретичній та практичній медицині. Встановлено, що роль і функції NO в організмі людини дуже багатогранні. Він являє собою унікальний, за своїм походженням та механізмом дії, вторинний месенджер у більшості клітин організму. Зокрема, оксид азоту бере участь у реалізації багатьох основних фізіологічних функцій, таких як вазодилатація, нейротрансмісія, регуляція тонуусу гладеньких м'язів, реакції імунної системи тощо [3, 4]. Доведена його роль у патогенезі різноманітних запальних процесів, розвитку артеріальної та легеневої гіпертензії, атеросклерозу, діабетичної ангіопатії, тромбоемболії, а також захворювань нервової, травної систем та патології нирок [4, 5].

Тому за фізіологічних умов NO швидко, за лічені секунди, перетворюється у нітрит та нітрат, які легко виводяться з організму. У зв'язку з цим біологічні ефекти NO обмежені областю його утворення. Потім оксид азоту незворотно інактивується реакцією з гемоглобіном у просвіті кровоносної судини та з супероксидним радикалом у стінці кровоносної судини [6, 7].

Загальноприйнятим відображенням вмісту NO в організмі є рівні нітритів і нітратів, які досліджуються у сироватці крові методом, що базується на відновленні нітратів до нітритів з визначенням останніх реакцією з реактивом Грісса [8, 9].

Недостатня продукція NO, який синтезується в ендотеліальних клітинах судинної стінки, вважається однією з основних причин дисфункції ендотелію і поєднана з розвитком порушень в серцево-судинній, дихальній та інших системах організму. Разом з тим, його надлишкова продукція, за рахунок якої зберігається антимікробний ефект при запаленні, може перетворитися з ланки адаптації в ланку патогенезу і стати не менш небезпечним пошкоджуючим фактором для організму, ніж дефіцит NO [10].

Свідченням ендотеліальної дисфункції можна вважати як позитивні, так і негативні відхилення від

Monitoring of health status in the children-residents of radioactively contaminated territories indicates that its level remains low, and the mechanisms of deterioration are not determined completely [1, 2].

Nitric oxide (NO) takes a significant place in these mechanisms with high confidence. However, only a small number of experimental works is devoted to studying of this problem to date. Interest in this molecule of theoretical and practical medicine was caused by the important biological role of NO, confirmed by several studies. It was established that the role and functions of NO in the human body are very multifarious. This is a unique, by its origin and mechanism of action, secondary messenger in the majority of body cells. In particular, nitric oxide is involved in the realization of many basic physiological functions such as vasodilation, neurotransmission, regulation of smooth muscle tone, immune response, etc. [3, 4]. Its role was proved in pathogenesis of different inflammatory processes, development of arterial and pulmonary hypertension, atherosclerosis, diabetic angiopathy, thrombogenicity, and diseases of the nervous system, the digestive system and renal pathology [4, 5].

Therefore, NO, in a few seconds, is quickly converted into nitrite and nitrate, that are easily excreted from the body under physiological conditions. In this regard, the biological effects of NO are limited to the area of its formation. Then nitric oxide is irreversibly inactivated by reaction with hemoglobin in the lumen of the blood vessel and superoxide radical in the blood vessel wall [6, 7].

The levels of nitrite and nitrate, that are assayed in the blood serum by the method based on the recovery of nitrates to nitrites with the determining the latter by the reaction with Griess-reagent are generally accepted reflection of NO content in the body [8, 9].

Insufficient production of NO, synthesized in the endothelial cells of the vascular wall, is considered as one of principal causes of endothelial dysfunction and is connected with the development of disorders in the cardiovascular system, the respiratory system and other systems of the body. At the same time, its excessive production, due to which the antimicrobial effect is preserved in inflammation, can be transformed from adaptation link to pathogenesis link and become no less dangerous damaging factor than NO deficit for the body [10].

An evidence of endothelial dysfunction can be considered both positive and negative deviations of

норми стабільних метаболітів NO та їх сумарного показника [10].

У нечисленних експериментальних дослідженнях доведено, що малі дози радіації, отримані впродовж тривалого часу, спричиняють значні зміни в пулах стабільних метаболітів NO, що може бути причиною порушення NO-залежних фізіологічних функцій організму і маркером розвитку ендотеліальної дисфункції [11, 12].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Оцінка змін системи оксиду азоту за рівнем його стабільних метаболітів в сироватці крові та їх співставлення з вмістом ^{137}Cs в організмі дітей- мешканців радіоактивно забруднених територій.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження стабільних метаболітів оксиду азоту проведені у 175 дітей шкільного віку (від 10 до 18 років). З них основну групу склали 134 дитини, які народилися та постійно проживають в зонах радіоактивного забруднення. Території проживання дітей основної групи належать до 2-ї зони (зона обов'язкового відселення – територія з щільністю забруднення ^{137}Cs понад 555 кБк/м² або ^{90}Sr понад 111 кБк/м²) та 3-ї зони (зона гарантованого добровільного відселення – територія з щільністю забруднення ізотопами ^{137}Cs від 185 до 555 кБк/м² або ^{90}Sr від 5,55 до 111 кБк/м²).

Обстежені діти основної групи не мали клінічно вираженої патології органів дихання та патології серцево-судинної системи органічного характеру. Виявлена у них хронічна патологія у стані компенсації була представлена захворюваннями зубів (суб- та декомпенсована форми карієсу), ЛОР-органів (тонзиліти, аденоїдити, фарингіти), травного каналу (гастрити, дуоденіти) та жовчовивідних шляхів (холецистити, холангіти), вегетативною дисфункцією.

Контрольна група складалася з 41 практично здорової дитини, які проживали в “чистих” щодо радіоактивного забруднення регіонах і не належали до постраждалих внаслідок Чорнобильської аварії контингентів.

Вміст ^{137}Cs в організмі дітей визначали за допомогою лічильника випромінювання людини Скриннер-3М. Рівень інкорпорованого цезію коливався від 269 до 6 253 Бк у тілі.

Визначення рівнів азотистих сполук (NO^{2-} та NO^{3-}) проводили за стандартною методикою з використанням реактиву Грісса. Відновлення нітрату до нітриту

stable NO metabolites and their total index from the norm [10].

Low doses of radiation received for a long time induced the significant changes in the pools of stable NO metabolites, that can be the cause of disorders in NO-dependent physiological functions of the body and the marker of endothelial dysfunction development, that was demonstrated by not numerous experimental studies [11, 12].

OBJECTIVE

The evaluation of changes in NO system by the level of its stable metabolites in serum and their comparison with ^{137}Cs content in the body of children-residents of radioactively contaminated territories.

MATERIALS AND METHODS

Stable NO metabolites were studied in 175 children of school age (from 10 to 18 years). The main group of them consisted of 134 children who were born and lived permanently in the zones of radioactive contamination. The territories of residence of children from main group belong to the 2nd zone (zone of obligatory resettlement – density of territorial contamination by ^{137}Cs > 555 kBq/m² or ^{90}Sr > 111 kBq/m²) and the 3rd zone (zone of guaranteed voluntary resettlement – density of contamination by ^{137}Cs isotopes from 185 to 555 kBq/m² or ^{90}Sr isotopes – from 5.55 to 111 kBq/m²).

Clinically expressed pathology of the respiratory system and pathology of the cardiovascular system of organic character was absent in examined children of main group. Chronic pathology determined in them in compensation state was introduced as dental diseases (sub- and decompensated form of caries), diseases of the ENT (tonsillitis, adenoiditis, pharyngitis), the digestive tract (gastritis, duodenitis), and biliary tract (cholecystitis, cholangitis), vegetative dysfunction.

The control group consisted of 41 practically healthy children living in “clean” regions concerning radioactive contamination who were not belonged to the victim contingents as a result of the Chernobyl accident.

^{137}Cs content in the children body was determined using human radioactive counter Skrynner-3M. The level of incorporated cesium ranged from 269 to 6253 Bq in the body.

The levels of nitrogen compounds (NO^{2-} and NO^{3-}) were determined by the standard method using the Griss-reagent. Recovery of nitrate to nitrite

проводили металічним цинком в розчині оцтової кислоти. Іони NO^{2-} виявляли діазореакцією з реактивом Грісса, з подальшим колориметричним визначенням азоз'єднання рожевого кольору.

Розрахунок кількості нітрат-іонів проводили за різницею сумарної кількості нітрат- і нітрит-іонів та кількості нітрит-іонів. Кількість нітриту та нітрату розраховували за калібрувальним графіком згідно з методикою визначення [8, 9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження вмісту метаболітів NO в сироватці крові показало, що у дітей основної групи в порівнянні з контролем спостерігалось достовірне зниження рівня нітриту, за відсутності достовірних відмінностей вмісту нітрату і суми метаболітів NO (табл. 1).

На підставі біохімічного обстеження групи практично здорових дітей, які мешкають у "чистих" щодо радіоактивного забруднення регіонах (контрольна група), визначено межі фізіологічних коливань вмісту нітрату, нітриту, сумарного показника стабільних метаболітів оксиду азоту у сироватці крові. Отримані результати наведені в таблиці 2.

Враховуючи вищевикладене, біохімічними критеріями дисфункції в системі оксиду азоту, яку можна розглядати і як ендотеліальну дисфункцію, слід вважати відхилення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові за межі діапазону фізіологічних коливань: $\pm \sigma$ від середнього показника практично здорових дітей (контрольна група) (табл. 2).

Це становить у відсотках:

а) підвищення або зниження рівня нітриту в сироватці крові на 46,1 % і більше від середнього показника контролю;

was conducted using metallic zinc in a solution of acetic acid. NO^{2-} ions were detected by diazoreaction with the Griss-reagent, followed by colorimetric determination of azoconnection of pink colour.

Quantity of nitrate ions was calculated by the difference of the total amount of nitrate- and nitrite ions and the amount of nitrite ions. Nitrite and nitrate quantities were calculated by the calibration graph according to the method of determination [8, 9].

RESULTS AND DISCUSSION

A significant decrease in nitrite level in the absence of significant differences in nitrate content, and also the sum of NO metabolites observed in children of the main group compared with the controls was revealed by studying NO metabolites in the blood serum (Table 1).

The limits of physiological fluctuations in content of nitrate, nitrite, sum index of stable metabolites of nitric oxide in the blood serum were determined in the group of practically healthy children living in the clean regions regarding radioactive contamination (control group) owing to basis of biochemical examination. The results are presented in Table 2.

The deviations of stable nitric oxide metabolite content in the blood serum outside the range of physiological fluctuations: $\pm \sigma$ of the average index in practically healthy children (control group), must be considered as the biochemical criteria of dysfunction in nitric oxide system that can be regarded as the endothelial dysfunction, taking into account of above-mentioned (Table 2).

This is presented by percentage:

a) an increase or a decrease in the level of nitrite in the blood serum by 46.1 % or more of the average control index;

Таблиця 1

Вміст метаболітів NO в сироватці крові дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій ($M \pm m$)

Table 1

Content of NO metabolites in the blood serum of children-residents of radioactively contaminated territories ($M \pm m$)

Показник Index	Основна група Main group	Контрольна група Control group	p
Нітрит, мкмоль/л Nitrite, $\mu\text{mol/L}$	6,47 \pm 0,31	9,58 \pm 0,69	< 0,001
Нітрат, мкмоль/л Nitrate, $\mu\text{mol/L}$	35,91 \pm 1,16	34,98 \pm 2,55	> 0,05
Сума метаболітів NO (нітрит+нітрат), мкмоль/л Sum of NO metabolites (nitrite + nitrate), $\mu\text{mol/L}$	42,46 \pm 1,29	44,57 \pm 2,84	> 0,05

Таблиця 2

Показники вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та діапазон їх коливань в сироватці крові у практично здорових дітей-мешканців "чистих" щодо радіоактивного забруднення регіонів

Table 2

Indices of content of stable metabolites of nitric oxide and the diapason of their fluctuations in the blood serum of practically healthy children-residents of "clean" regions with regard to their radioactive contamination

Показник Index	(X ± m)	σ	Діапазон коливань Range of fluctuations
Нітрит, мкмоль/л Nitrite, μmol/L	9,58 ± 0,69	4,42	5,16 – 14,00
Нітрат, мкмоль/л Nitrate, μmol/L	34,98 ± 2,55	16,33	18,65 – 51,31
Сума метаболітів NO (нітрит+нітрат), мкмоль/л Sum of NO metabolites (nitrite + nitrate), μmol/L	44,57 ± 2,84	18,18	26,39 – 62,75

б) підвищення або зниження рівня нітрату в сироватці крові на 46,7 % і більше від середнього показника контролю;

в) підвищення або зниження сумарного показника вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові на 40,8 % і більше від середнього показника контролю;

Відповідно до вказаних критеріїв у 39,6 % дітей основної групи проти 22,0 % дітей контрольної групи ($p < 0,05$) спостерігалось зниження рівня нітриту в сироватці крові за нижню межу фізіологічних коливань.

Рівень нітриту знаходився у межах діапазону фізіологічних коливань у 59,7 % дітей основної групи і 48,8 % дітей контрольної групи ($p > 0,05$).

Підвищення рівня нітриту в сироватці крові за верхню межу фізіологічних коливань спостерігалось у 1 дитини основної групи (0,75 %) і мало місце у 29,3% дітей контрольної групи ($p < 0,001$).

Частота відхилень рівня нітрату у сироватці крові за межі діапазону фізіологічних коливань не мала суттєвих відмінностей у дітей основної та контрольної груп. Відповідно частота зниження становила 20,9 і 22,0 % ($p > 0,05$), частота нормальних значень – 63,4 і 65,9 % ($p > 0,05$), частота підвищення – 15,7 і 12,2% ($p > 0,05$).

Частота зниження сумарного показника вмісту стабільних метаболітів NO в сироватці крові за нижню межу фізіологічних коливань становила серед дітей основної групи 23,9 % проти 19,5% у контролі ($p > 0,05$), частота нормальних значень відповідно 59,7 і 65,9 % ($p > 0,05$). Частота підвищення 16,4 і 14,6 % ($p > 0,05$).

Було проведено зіставлення частоти відхилень рівнів метаболітів NO в сироватці крові від діапазо-

b) an increase or a decrease in the level of nitrate in the blood serum by 46.7 % or more of the average control index;

c) an increase or a decrease in the sum indicator of the content of stable nitric oxide metabolites in the blood serum by 40.8 % or more of the average control index.

The decrease in nitrite level in the blood serum below the lower limit of physiological fluctuations was noted in 39.6 % children of the main group versus 22.0 % children of the control group ($p < 0.05$) according to specified criteria.

Nitrite level was within the range of physiological fluctuations in 59.7 % children of the main group, and 48.8 % children of the control group ($p > 0.05$).

Increased level of nitrite in the blood serum over the upper range of physiological fluctuations was observed in 1 child of the main group (0.75 %) and in 29.3 % children of the control group ($p < 0.001$).

There were insignificant differences in the frequency of deviations in nitrate content in serum outside of the range of physiological fluctuations in children of both groups. Accordingly, the frequency of decrease was 20.9 and 22.0 % ($p > 0.05$), the frequency of the normal indices – 63.4 and 65.9 % ($p > 0.05$), the frequency of increase – 15.7 and 12.2% ($p > 0.05$).

The frequency of decrease in the sum index of stable NO metabolite content in the blood serum below the lower limit of physiological fluctuations was 23.9 % among children of the main group vs. 19.5 % in controls ($p > 0.05$), the frequency of normal indices – 59.7 and 65.9 % respectively ($p > 0.05$). The frequency of an increase was 16.4 and 14.6% ($p > 0.05$).

A comparison of the frequency of deviations in the levels of NO metabolites in the blood serum outside

ну фізіологічних коливань і вмісту ^{137}Cs в організмі дітей, які мешкають на радіоактивно забруднених територіях (табл. 3–5).

Визначено, що при зниженні рівня нітриту в сироватці крові за нижню межу фізіологічних коливань у частини (39,6 %) дітей у порівнянні з нормальним показником у іншій частини (59,7 %) дітей спостерігалось достовірне підвищення середнього показника вмісту ^{137}Cs в організмі. Відповідно ($1271,3 \pm 185,8$) Бк і ($867,1 \pm 97,5$) Бк ($p < 0,05$) (табл. 3).

При відхиленні рівня нітрату від діапазону фізіологічних коливань не спостерігалось достовірних відмінностей середніх показників вмісту ^{137}Cs в організмі дітей основної групи. Так, 20,9 % дітей, у яких визначено зниження рівня нітрату мали середній показник вмісту ^{137}Cs в організмі ($1192,1 \pm 138,4$) Бк, що достовірно не відрізнявся від аналогічного показника 63,4 % дітей, які мали

of the range of normal physiological fluctuations and ^{137}Cs content in the body was realized in children living in contaminated territories (Table 3–5).

The decrease of nitrite level in the blood serum below of low range of physiological fluctuations was accompanied by a significant increase in the average index of ^{137}Cs content in the body of one part of children (39.6 %) compared to normal index in the another ones (59.7 %). It consisted of (1271.3 ± 185.8) Bq and (867.1 ± 97.5) Bq, respectively ($p < 0.05$) (Table 3).

There were no the significant differences of averages index of ^{137}Cs content in children of the main group under the deviation of nitrate level inside the range of physiological fluctuations. Thus, 20.9 % children with determined decrease in nitrate level had average index of ^{137}Cs content in the body (1192.1 ± 138.4) Bq, that was insignificantly different from same index of 63.4 % children with normal

Таблиця 3

Відхилення за межі фізіологічних коливань рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові та вміст ^{137}Cs в організмі дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій (рівень нітриту)

Table 3

Deviations of the levels of stable NO metabolites in the blood serum outside the range of physiological fluctuations and ^{137}Cs content in the body of children-residents of radioactively contaminated territories (nitrite level)

Показник Index	Оцінка відхилень / estimated deviations			p		
	зниження / decrease	норма / norm	підвищення / increase	I-II	I-III	II-III
	I	II	III			
Кількість дітей Number of children	53	80	1	-	-	-
Частота відхилень (%) Frequency of deviations (%)	39,6	59,7	0,75	-	-	-
Вміст ^{137}Cs в організмі, Бк Level of ^{137}Cs in the body, Bq	$1271,3 \pm 185,8$	$867,1 \pm 97,5$	-	< 0,05	-	-

Таблиця 4

Відхилення за межі фізіологічних коливань рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові та вміст ^{137}Cs в організмі дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій (рівень нітрату)

Table 4

Deviations of the levels of stable NO metabolites in the blood serum outside the range of physiological fluctuations and ^{137}Cs content in the body of children-residents of radioactively contaminated territories (nitrate level)

Показник Index	Оцінка відхилень / estimated deviations			p		
	зниження / decrease	норма / norm	підвищення / increase	I-II	I-III	II-III
	I	II	III			
Кількість дітей Number of children	28	85	21	-	-	-
Частота відхилень (%) Frequency of deviations (%)	20,9	63,4	15,7	-	-	-
Вміст ^{137}Cs в організмі, Бк Level of ^{137}Cs in the body, Bq	$1192,1 \pm 138,4$	$1088,0 \pm 92,6$	$993,1 \pm 171,4$	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Таблиця 5

Відхилення за межі фізіологічних коливань рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові та вміст ¹³⁷Cs в організмі дітей- мешканців радіоактивно забруднених територій (сумарний вміст метаболітів NO)

Table 5

Deviations of the level of stable nitric oxide metabolites in the blood serum outside of the rate of physiological fluctuations and ¹³⁷Cs content in the body of children-residents of radioactively contaminated territories (total content of NO metabolites)

Показник Index	Оцінка відхилень / estimated deviations			p		
	зниження / decrease	норма / norm	підвищення / increase	I-II	I-III	II-III
	I	II	III			
Кількість дітей Number of children	32	80	22	-	-	-
Частота відхилень (%) Frequency of deviations (%)	23,9	59,7	16,4	-	-	-
Вміст ¹³⁷ Cs в організмі, Бк Level of ¹³⁷ Cs in the body, Bq	1128,6 ± 122,5	921,6 ± 101,4	1114,9 ± 168,3	> 0,05	> 0,05	> 0,05

нормальний рівень нітрату в сироватці крові (1 088,0 ± 92,6) Бк (p > 0,05) і показника 15,7 % дітей з підвищеним рівнем нітрату в сироватці крові (993,1 ± 171,4) Бк (p > 0,05) (табл. 4)

При зниженні сумарного показника рівня стабільних метаболітів NO в сироватці крові за межі діапазону фізіологічних коливань у частини обстежених (23,9 % дітей) в порівнянні з іншою частиною, що мала нормальний показник (59,7 % дітей), не спостерігалось суттєвих відмінностей вмісту ¹³⁷Cs в організмі – відповідно (1 128,6 ± 122,5) Бк і (921,6 ± 101,4) Бк, (p > 0,05). Середній вміст ¹³⁷Cs в організмі у 16,4 % дітей з підвищеним за межі діапазону фізіологічних коливань рівнем сумарного показника метаболітів NO в сироватці крові становив (1114,9 ± 168,3) Бк і не мав достовірних відмінностей від аналогічних показників у дітей зі зниженим і нормальним сумарними рівнями метаболітів NO (p > 0,05) (табл. 5).

Отримані нами дані можна пояснити, спираючись на результати досліджень ряду авторів. Так, за даними [11, 12], відносне зниження рівня нітриту є проявом зниження активності ендотеліальної NO-синтази (eNOS). При цьому вирівнювання в порівнянні з контролем сумарних показників метаболізму NO за рахунок нітрату пов'язують з посиленням ПОЛ та підвищенням активності індукцйбельної NO-синтази (iNOS).

В експериментальних роботах [11, 12], присвячених визначенню ключових механізмів, задіяних в регуляції NO-системи за умов впливу малих доз радіації, відмічається наступне.

За фізіологічних умов основним шляхом синтезу NO в організмі є конститутивний синтез NO за дії

level of nitrate in the blood serum (1088.0 ± 92.6) Bq (p > 0.05) and index of 15.7 % children with increased nitrate level in the blood serum (993.1 ± 171.4) Bq (p > 0.05) (Table 4).

Significant differences in ¹³⁷Cs content in the body were not observed in some examined children (23.9 %) compared with other ones with normal index (59.7 %) – (1 128.6 ± 122.5) Bq and (921.6 ± 101.4) Bq respectively (p > 0.05) under the decrease of total index of stable NO metabolites in blood serum outside the range of physiological fluctuations. The average ¹³⁷Cs content in the body was (1114.9 ± 168.3) Bq in 16.4 % children with increased level of the total index of NO metabolites in the blood serum outside of the range of physiological fluctuations without significant differences from analogous parameters in children with low and normal cumulative levels of NO metabolites (p > 0.05) (Table 5).

Our data can be explained by the results obtained by several scientists. Thus, according to data of some authors [11, 12] the relative decrease in nitrite is a manifestation of strenuous activity of endothelial NO-synthase (eNOS). At the same an alignment is associated with increased lipid peroxidation and increased activity of inducible NO-synthase (iNOS) as compared to the control of total indices of NO metabolism due to nitrate.

In experimental studies [11, 12] devoted to determining the key mechanisms involved in the regulation of NO-system under the influence of small doses of radiation, the following is observed.

Under physiological conditions the principal way of NO synthesis is constitutive NO synthesis in a

Ca²⁺-залежної ендотеліальної ізоформи NO-синтази (eNOS), тоді як за умов патології – індукбельний синтез NO Ca²⁺-незалежною індукбельною ізоформою NO синтази (iNOS). Як відповідь на дію радіації має місце гіперекспресія iNOS, тоді як активність eNOS, навпаки, знижується, незважаючи на підвищений рівень внутрішньоклітинного кальцію, що є одним з її активаторів. Отже, за дії радіації в залежності від терміну дії і дози може мати місце як Ca²⁺-залежна, так і Ca²⁺-незалежна регуляція активності eNOS.

Автори [11, 12] наводять біохімічні механізми, що можуть зумовити такі зміни експресії і активності різних ізоформ NOS за дії радіації, які полягають у наступному. Експресія iNOS індукується цитокінами а також стероїдними гормонами. За нормальних умов рівень експресії iNOS невисокий, але при окисному стресі, що є загальною відповіддю клітин на дію патологічних чинників, у тому числі радіації, рівень експресії iNOS може значно підвищуватися. За цих умов підвищується генерація O²⁻, який є дуже потужним підсилювачем експресії iNOS. Як відомо, за дії радіації, у тому числі низьких доз, зростає генерація O²⁻ різними оксидазами. Отже, окисний стрес, що виникає за хронічної дії низьких доз радіації, може бути основною причиною гіперекспресії iNOS в кардіоваскулярній системі [11, 12].

Експресія eNOS запускається різними пептидними гормонами, в тому числі ангіотензином II, інсуліном, гіпоксією та іншими факторами, причому посилення експресії відбувається при підвищенні рівня H₂O₂. За дії радіації має місце значне підвищення рівня H₂O₂ в кардіоваскулярній системі, отже гіперекспресія eNOS за радіаційного впливу може мати за причину окисний стрес, як і у випадку з iNOS. На відміну від iNOS активність eNOS залежить не лише від рівня її експресії, а здійснюється за рахунок активації Ca²⁺ чи фосфорилування білка ферменту різними протеїнкіназами [11, 12].

Як показали експериментальні дослідження [11, 12], біохімічним механізмом пошкоджуючої дії малих доз радіації на систему оксиду азоту було зниження конститутивного синтезу NO ізоферментом eNOS, на що вказують низькі рівні нітрит-аніону в органах серцево-судинної системи, як при отриманні одноразової низької дози іонізуючого випромінювання, так і при тривалому перебуванні в умовах підвищеного радіаційного фону.

case of the action of Ca²⁺-dependent endothelial isoform of NO-synthase (eNOS), whereas under pathology – inducible NO synthesis by Ca²⁺-independent inducible isoform of NO synthase (iNOS). iNOS overexpression is occurred as a response to radiation effect, whereas eNOS activity is in contrast reduced, despite the increased level of intracellular calcium, which is one of its activators. Thus, Ca²⁺-dependent as well as Ca²⁺-independent regulation of eNOS activity can take place under the effects of radiation, depending on duration of action and dose.

Several authors [11, 12] suggest the biochemical mechanisms that can result in such changes of expression and activity of different NOS isoforms under radiation effect, that is as follows. iNOS expression is induced by cytokines and steroid hormones too. Under normal conditions, the level of iNOS expression is low, but under oxidative stress, which is a common cellular response to the effect of pathological factors, including radiation, the level of iNOS expression can increase significantly. O²⁻ generation, which is a very powerful amplifier of iNOS expression is increased under these conditions. As known, O²⁻ generation by different oxidases is increased under the radiation effects, including low dose. Thus, the oxidative stress that occurs under chronic effect of low radiation doses can be a principal cause of iNOS overexpression in cardiovascular system.

eNOS expression is initiated by different peptide hormones, including angiotensin II, insulin, hypoxia and other factors, and reinforcement of expression is occurred at increased levels of H₂O₂. Under radiation effect a significant increase of H₂O₂ in the cardiovascular system is noted, thus eNOS overexpression under radiation exposure can be caused by oxidative stress, as in the case of iNOS. In contrast to iNOS, eNOS activity depends not only on the level of its expression but it is proceeded due to Ca²⁺ activation or phosphorylation of the protein enzyme by different protein kinases [11, 12].

As was shown by experimental studies [11, 12], the biochemical mechanism of the damaging effect of low doses of radiation on nitric oxide system was the decrease in constitutive NO synthesis by eNOS isoenzyme, as was indicated by low levels of nitrite anion in the organs of the cardiovascular system at single low dose of ionizing radiation as well as at prolonged stay under conditions of increased radiation background.

На підставі своїх досліджень автори [12] прийшли до загального висновку, який полягає у тому, що низькі дози радіації, отримані протягом тривалого часу, спричиняють значні зміни у пулах стабільних метаболітів NO, що може бути причиною порушень ряду NO-залежних фізіологічних функцій. Значне зниження рівня нітриту за цих умов може призводити до окисного стресу. Високі рівні одночасної генерації O^{2-} та NO, зв'язуючись, можуть призводити до утворення токсичного ONOO⁻. Довказом цього є низькі рівні нітриту, що утворюється спонтанно за наявності молекулярного кисню, на фоні або підвищених, або контрольних рівнів нітрату, який в основному утворюється при деградації пероксинітриту, тобто, при високому рівні супероксидного аніону.

Таким чином, проведені нами дослідження пулів стабільних метаболітів оксиду азоту виявили у дітей- мешканців радіоактивно забруднених територій зниження рівня нітриту на тлі не відмінних суттєво від контрольних рівнів нітрату та сумарного показника метаболітів NO, що узгоджується з експериментальними роботами [11, 12]. За думкою авторів цих робіт подібні зміни є характерними для наслідків як гострого так і хронічного впливу малих доз іонізуючого випромінювання на організм.

На підставі обстеження групи практично здорових дітей- мешканців "чистих" у відношенні радіоактивного забруднення регіонів (контрольна група) визначено межі фізіологічних коливань вмісту нітриту, нітрату, сумарного показника метаболітів оксиду азоту в сироватці крові.

Серед дітей- мешканців радіоактивно забруднених територій в порівнянні з контролем спостерігалось підвищення частоти відхилень за нижню межу фізіологічних коливань рівня нітриту, і практична відсутність осіб з підвищеним рівнем цього показника (1 дитина). Не спостерігалось достовірних відмінностей від контролю частоти як підвищення так і зниження за межі фізіологічних коливань рівня нітрату та сумарного вмісту метаболітів NO в сироватці крові.

Серед дітей- мешканців радіоактивно забруднених територій при зниженні рівня нітриту в сироватці крові за межі діапазону фізіологічних коливань у значної частини обстежених, в порівнянні з дітьми, які мали нормальні значення цього показника, відмічалось підвищення вмісту ^{137}Cs в організмі.

Based on their own researches, the authors [12] came to the general conclusion, that low doses of radiation received during a long period of time, caused the significant changes in the pools of NO stable metabolites, which can be the cause of disorders of several NO-dependent physiological functions. Significant decrease in nitrite level can lead to oxidative stress under these conditions. High levels of simultaneous generation of O^{2-} and NO, that is binding, can lead to the formation of toxic ONOO⁻. This is proved by the low nitrite levels formed spontaneously under the presence of molecular oxygen against a background of increased or control levels of nitrate, which is mainly formed by peroxy nitrite degradation, i.e. at high levels of superoxide anion.

Thus, the decreased nitrite level against a background of insignificantly different from control levels of nitrate and total index of NO metabolites was revealed by our studies concerning pools of stable nitric oxide metabolites in children-residents of contaminated territories, which is consistent with experimental work [11, 12]. The authors of such works consider that similar changes are specific to the consequences of both acute and chronic influences of low doses of ionizing radiation on the body.

The range of physiological fluctuations in content of nitrite, nitrate, total index of nitric oxide metabolites in the blood serum was determined based on the examination of a group with practically healthy children-residents of "clean" regions regarding radioactive contamination ones (control group).

An increased frequency of deviations outside the low range of physiological fluctuations in nitrite levels, and practical absence of person with increased level of this indicator (1 child) were observed among the children-residents of radioactively contaminated territories compared with the controls. No significant difference of frequency, compared to control, an increase as well as a decrease outside the range of physiological fluctuations in nitrate level and total content of NO metabolites in the blood serum.

The decreased nitrite level in the blood serum inside of the range of physiological fluctuations was accompanied by the increased content of ^{137}Cs in the body in a significant part of examined patients comparing to children with normal values of this index, among the children-residents of radioactively contaminated territories.

ВИСНОВКИ

1. Дослідження вмісту метаболітів NO в сироватці крові показало, що у дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій у порівнянні з контролем спостерігалось достовірне зниження рівня нітриту, і не відмічалось достовірних відмінностей рівня нітрату і сумарного показника вмісту метаболітів NO.
2. Серед дітей, які мешкають на радіоактивно забруднених територіях, у порівнянні з контролем, відмічалось підвищення кількості осіб зі зниженим рівнем нітриту у сироватці крові, і практична відсутність осіб з його підвищеними значеннями (1 дитина).
3. У значної частини дітей-мешканців радіоактивно забруднених територій при зниженні рівня нітриту у сироватці крові спостерігалось підвищення вмісту ¹³⁷Cs в організмі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Романенко А. Ю. Стан здоров'я дітей, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи (за даними 20-річних спостережень) / А. Ю. Романенко, Є. І. Степанова // Журн. АМН України. – 2006. – Т.12 №2. – С.296–306.
2. Чернобыльская катастрофа и здоровье детей / Е. И. Степанова, В. Ю. Вдовенко, В. Г. Кондрашова, И. Е. Колпаков // Новая медицина тысячелетия. – 2010. – № 4. – С. 18–22.
3. Головченко Ю. И. Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. / Ю. И. Головченко, М. А. Трещинская // Consilium Medicum Ukraine. – 2008. – № 11. – С. 35–40.
4. Волошин П. В. Эндотелиальная дисфункция у больных с церебральным ишемическим / П. В. Волошин, В. А. Малахов, Н. А. Завгородная // Междунар. неврол. журнал. – 2007. – № 2. – С. 115–120.
5. Дубинина В. Г. Оксид азота и дисрегуляторная патология организма человека / В. Г. Дубинина // Буковинський мед. вісн. – 2005. – Т. 9, № 4. – С. 23–26.
6. Марков Х. М. Роль оксида азота в патогенезе болезней детского возраста / Х. М. Марков // Рос. вестн. перинатол. и педиат. – 2000. – № 4. – С. 41–47.
7. Ernesto L. Oxidative Stress. Nitric oxide synthase and superoxide dismutase / L. Ernesto, V. Schiffrin // Hypertension. – 2008. – Vol. 51. – P. 31–34.
8. Grand F. Optimization of the measurement of nitrite and nitrate in serum by the Griss reaction / F. Grand, J. Guitton, J. Coudable // Ann. Biol. Clin. (Paris). – 2001. – Vol. 59. – P. 559–565.
9. Победьонна Г. П. Роль змін показників перекисного окислення ліпідів, ферментів антиоксидантного захисту та метаболітів оксиду азоту у формуванні системного окислювального стресу у хворих із загостренням бронхіальної астми / Г. П. Победьонна // Лік. справа (Врач. дело). – 2005. – № 5-6. – С. 36–40.
10. Воронина Л. П. Генетические, биохимические и функциональные маркеры состояния вазорегулирующей функции эндотелия / Л. П. Воронина // Сибирск. мед. журн. – 2011. – № 3. – С. 29–31.

CONCLUSIONS

1. The significant decrease in nitrite level without the significant differences in nitrate level and the sum index of NO metabolites was revealed by the studies of NO metabolites in the blood serum in children-residents of radioactively contaminated territories compared with controls.
2. An increased number of persons with reduced levels of nitrite in the blood serum and practical absence of persons with its heightened indices (1 child) were noted among children living in radioactively contaminated areas compared with controls.
3. The decrease in nitrite content in the blood serum was accompanied by the increased ¹³⁷Cs content in the body of a significant part of the children-residents of radioactively contaminated territories.

REFERENCES

1. Romanenko AYU, Stepanova Yel. [Health status of children affected by the Chernobyl disaster (according to the 20-year observation)]. Zhurnal Akademii Medychnykh Nauk Ukrainy. 2006;12(2):296-306. Ukrainian.
2. Stepanova Yel, Vdovenko VYu, Kondrashova VG, Kolpakov IYe. [Chernobyl disaster and the health of children]. Novaya meditsina tysiacheletia. 2010;(4):18-22. Russian.
3. Holovchenko Yul, Treshchinskaya MA. [Review of modern concepts of endothelial dysfunction]. Consilium Medicum Ukraine. 2008;(11):35-40. Russian.
4. Voloshin PV, Malakhov VA, Zavgorodniaya NA. [Endothelial dysfunction in patients with cerebral ischemic insult: sex, age, severity of the disease, new possibilities of medicament correction]. Mezhdunarodny neurologicheskiy zhurnal. 2007;(2):115-20. Russian.
5. Dubinina VG. [Nitric oxide and dysregulation pathology of human organism]. Bukovynsky medychnyi visnyk. 2005;9(4):23-6. Russian.
6. Markov KhM. [The role of nitric oxide in the pathogenesis of children diseases]. Rossiiskii Vestnik perinatologii i pediatrii. 2000;(4):41-7. Russian.
7. Ernesto L, Schiffrin V. Oxidative stress. Nitric oxide synthase and superoxide dismutase. Hypertension. 2008 Jan;51(1):31-2.
8. Grand F, Guitton J, Coudable J. Optimization of the measurement of nitrite and nitrate in serum by the Griss reaction. Ann Biol Clin (Paris). 2001;59:559-65.
9. Pobed'onna HP. [The role of changes in indices of peroxidation of lipids, enzymes of antioxidant defence and metabolites of nitric oxide in the formation of systemic oxidative stress in patients with acute exacerbation of bronchial asthma]. Likarska sprava (Vrachebnoe delo). 2005;(5-6):36-40. Ukrainian.

11. Сосудистая реактивность и метаболизм реактивных форм кислорода и азота при действии низких доз радиации / М. Н. Ткаченко, А. В. Коцюруба, О. В. Базилюк [и др.] // Радиц. биол. Радиоэкол. – 2009. – Т. 49, № 4. – С. 462–471.
12. Вплив малих доз радіації на судинну реактивність та окисний метаболізм кисню і азоту в серцево-судинній системі / М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач, А. В. Коцюруба [та ін.] // Журн. АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 20–32.
10. Voronina LP. [The genetic, biochemical, and functional markers in the state of vasoregulating endothelial function]. Sibirskiy Meditsinskii Zhurnal. 2011;(3):29-31. Russian.
11. Tkachenko MN, Kotsyuruba AV, Bazilyuk AV, et al. [The vascular reactivity and metabolism of reactive forms of oxygen and nitrogen under the action of low doses of radiation]. Radiats Biol Radioecol. 2009;49(4):462-71. Russian.
12. Tkachenko MM, Sagach VF, Kotsyuruba AV, et al. [The effect of low doses of radiation on vascular reactivity and oxidative metabolism of oxygen and nitrogen in the cardiovascular system]. Zhurnal Akademii Medychnykh Nauk Ukrainy. 2007;13(1):20-32. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції 4.07.2014

Received: 4.07.2014