

Р. Г. МКРТЧЯН

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ПРОТЕОЛИЗА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЦИСТЕИНА И ТИОМОЧЕВИНЫ ДО И ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ГАММА-ЛУЧАМИ

Незначительные нарушения, вызванные действием радиации благодаря развитию самоускоряющихся во времени реакций, увеличиваются и в конечном итоге суммируются в общей картине синдрома острой лучевой болезни со всеми последующими явлениями.

Многими авторами показано, что после облучения в тканях и органах животных образуется ряд токсических продуктов, среди которых главную патогенетическую роль играют органические перекисные соединения высокой химической активности.

Прервать развитие лучевой болезни можно, обезвредив и связав эти токсические „пусковые“ соединения в момент их образования. На этом основана химическая защита от лучевых поражений — использование способности некоторых химических соединений ослаблять вредное действие радиации при введении их в организм непосредственно перед облучением. Полагают, что действие профилактических веществ заключается в подавлении окислительных процессов, усиливающихся в тканях в результате облучений. Возможность осуществления химической защиты от ионизирующих излучений на сухих объектах говорит о том, что не только радикалы и перекиси, образующиеся в водной фазе, ответственны за развитие лучевой болезни. Обнаружено, что в биолипидах при облучении образуется в 80 раз больше активных перекисей, нежели при равных условиях в воде (Б. Н. Тарусов [1]).

Такое разнообразие в наборе и механизмах образования промежуточных токсических продуктов, накапливающихся в облученных организмах, крайне затрудняет вопрос выбора и изыскания новых препаратов для профилактики и лечения лучевой болезни.

Известные до сих пор профилактические вещества по своим свойствам почти все антиокислители, способные связывать свободные радикалы и обрывать развитие цепных реакций. Кроме этого, защитные вещества активно участвуют в реакциях переноса, входят во внутри-комплексные соединения с ионами тяжелых металлов, вызывают аноксию, понижают обменные процессы в облученном организме.

Восстановленный глутатион и цистеин — аминокислоты, содержащие свободные сульфгидрильные группы, были первыми препаратами, оказывающими отчетливое защитное действие от лучевых поражений (Патт [6]). Предполагают, что механизм защитного действия

этих соединений обуславливается их способностью связывать в комплексы ионы металлов переменной валентности. Этим же свойством обладают тиокарбаматы. Наиболее эффективным соединением этой группы оказался диэтилдитиокарбамат натрия (Ван Беккум [4]).

Во многих случаях первичное химическое изменение проявляется в потере органической молекулой атома водорода, либо в результате прямого воздействия излучения, либо вследствие отнятия его свободным радикалом. Это повреждение может быть восстановлено путем так называемой реакции переноса. В этих случаях прибавление в среду некоторых сульфгидрильных соединений оказывает защитное действие (Александр, Чарлсби [3]). Наиболее сильно выраженной антиокислительной активностью обладает меркаптоэтиламин. Несмотря на высокую токсичность и малую терапевтическую широту, меркаптоэтиламин по защитной активности превзошел все исследованные до сих пор профилактические вещества.

Необходимо отметить, что не все вещества, обладающие антиокислительными свойствами, оказывают защитное действие. Здесь сказывается их различная способность проникать в клетки и другие фармакологические свойства. Есть вещества, которые, не обладая свойствами антиокислителей и, не задерживая образования перекисей и радикалов в воде и в чистых липидах, оказывают защитное действие. Это цианиды. Их профилактическое действие сказывается тогда, когда окислительные процессы в организме катализируются тяжелыми металлами.

Среди веществ, не обладающих антиокислительными свойствами или обладающих ими лишь в незначительной степени, профилактический эффект оказывают гистамин, фенилэтиламин, адреналин, триптамин и серотонин. Защитное действие этих веществ объясняется подавлением клеточного дыхания, вследствие чего происходит обелнение тканей кислородом, аналогичное защите путем снижения содержания кислорода во вдыхаемом воздухе. Это физиологическое защитное действие, конечный механизм которого также сводится к подавлению окислительных процессов (Ван Беккум [4]).

Одним из ограничивающих условий применения химических веществ для защиты организма от ионизирующих излучений является их токсичность, которая не позволяет вводить их в организм в достаточном для защиты количестве. Кроме того, при введении профилактических веществ после облучения наблюдается отрицательный эффект вплоть до быстрой гибели животных. По мнению Б. Н. Тарусова [1], начавшийся после облучения процесс ускорения автолитических реакций в организме активируется веществами, имеющими в молекуле свободные сульфгидрильные группы.

Исходя из вышесказанного, в настоящей работе сделана попытка выявить действие цистеина и тиомочевины на выживаемость при даче их животным до и после облучения, а также проследить за ходом изменений процессов автолиза в органах этих животных. Выбор

веществ произведен с учетом необходимости сопоставления результатов, полученных от препарата, содержащего свободную сульфгидрильную группу (цистенин), и препарата (тиомочевина), в молекуле которой нет такой группы.

Относительно влияния некоторых химических веществ на процессы автолиза тканей в норме показано, что вещества с активной сульфгидрильной группой в молекуле ускоряют и интенсифицируют его [2, 5, 7]. В доступной нам литературе не удалось найти указаний, относящихся к изучению действия профилактических веществ на процессы протеолиза при введении в организм животных до и после облучения.

Материал и методика работы. Опыты проводились на белых крысах — самцах 3–4-месячного возраста, весом 120–130 г. Животные подвергались общему однократному облучению γ -лучами на аппарате ГУБЭ—800 дозой 800 рентген. В первой серии опытов, за 10 мин. до облучения, животным внутрибрюшинно вводился 2% раствор тиомочевины с расчетом по 150 мг на 100 г веса животного. Животным второй группы аналогичным способом вводился 2% раствор цистенина по 120 мг на 100 г веса животного. Во второй серии опытов животным вводились вышеуказанные вещества в тех же количествах, спустя 1,5–2 ч. после облучения. Часть животных оставлялась на выживаемость, а у остальных в разные сроки после облучения изучались процессы протеолиза в печени и селезенке. Критерием протеолиза служило изменение количества азота свободных аминокислот в гомогенатах исследуемых органов, инкубируемых при 37°. Количество аминокислот определялось колориметрическим способом по Кокингу и Жему [8].

Животные забивались декапитацией, быстро извлекались печень и селезенка, промывались физиологическим раствором и гомогенизировались в дистиллированной воде гомогенизатором. В первой пробе определялось исходное количество аминокислот, после чего гомогенаты ставились в термостат при 37°. Через каждый час, в течение 7 часов, из термостата брались пробы и тем же способом определялось количество аминокислот. Подопытные животные содержались в условиях ухода и питания лабораторного вивария. Всего в опытах было использовано 400 крыс.

Полученные результаты и их обсуждение. В табл. 1 даны результаты выживаемости. Как видно из таблицы, все животные, подвергавшиеся облучению без введения вышеуказанных веществ, погибают в течение 20 дней от острой лучевой болезни. У этой группы животных гибель начинается уже спустя сутки после облучения, увеличивается во времени и достигает своего максимума на 7–12 сутки после облучения.

При даче цистенина до облучения наблюдается четко выраженное защитное действие: болезнь развивается сравнительно медленно (гибель животных наступает значительно позже (первая крыса погибла на 5 сутки после облучения). В течение 30 дней из этой группы животных погибли 20, что составляет 67%. Как видно из таблицы, и

Таблица 1

в этом случае наиболее массовая гибель животных наблюдается на 7—12 сутки после облучения. Аналогичная картина получается при даче животным тиомочевины до облучения. В этом случае сказывается малая широта профилактического действия тиомочевины. Из 30 крыс, получивших тиомочевину перед облучением, погибли 25, что составляет 83%. Вышеуказанная закономерность — массовая гибель животных на 7—12 сутки после облучения — наблюдается и у данной группы животных.

Картина резко меняется при даче животным вышеуказанных веществ спустя 1,5—2 ч. после облучения. Лучевая болезнь в этом случае у животных развивается бурно и протекает тяжелее. Гибель животных начинается с первых же суток после облучения. При даче цистеина все животные погибают до 15 дня после облучения, а при даче тиомочевины на 14 сутки после облучения.

Необходимо отметить, что в первом случае — при введении цистеина — характерная картина гибели во времени почти сохранена. При введении тиомочевины после облучения массовая гибель животных наблюдается на 5—7 сутки после облучения, то-есть на кривой гибели пик смещается влево. По всей вероятности, в этом случае сказывается и токсичность тиомочевины как азотосодержащего вещества.

При изучении процессов автолиза, протекающих в печени этих животных (сходные результаты были получены и для селезенки), было установлено, что при введении цистеина и тиомочевины животным за 10 м. до облучения процесс этот резко задерживается, по сравнению с контрольной группой, и проявляется спустя 3 ч. после облучения (рис. 1, А). Как видно из кривой, исходные цифры количества

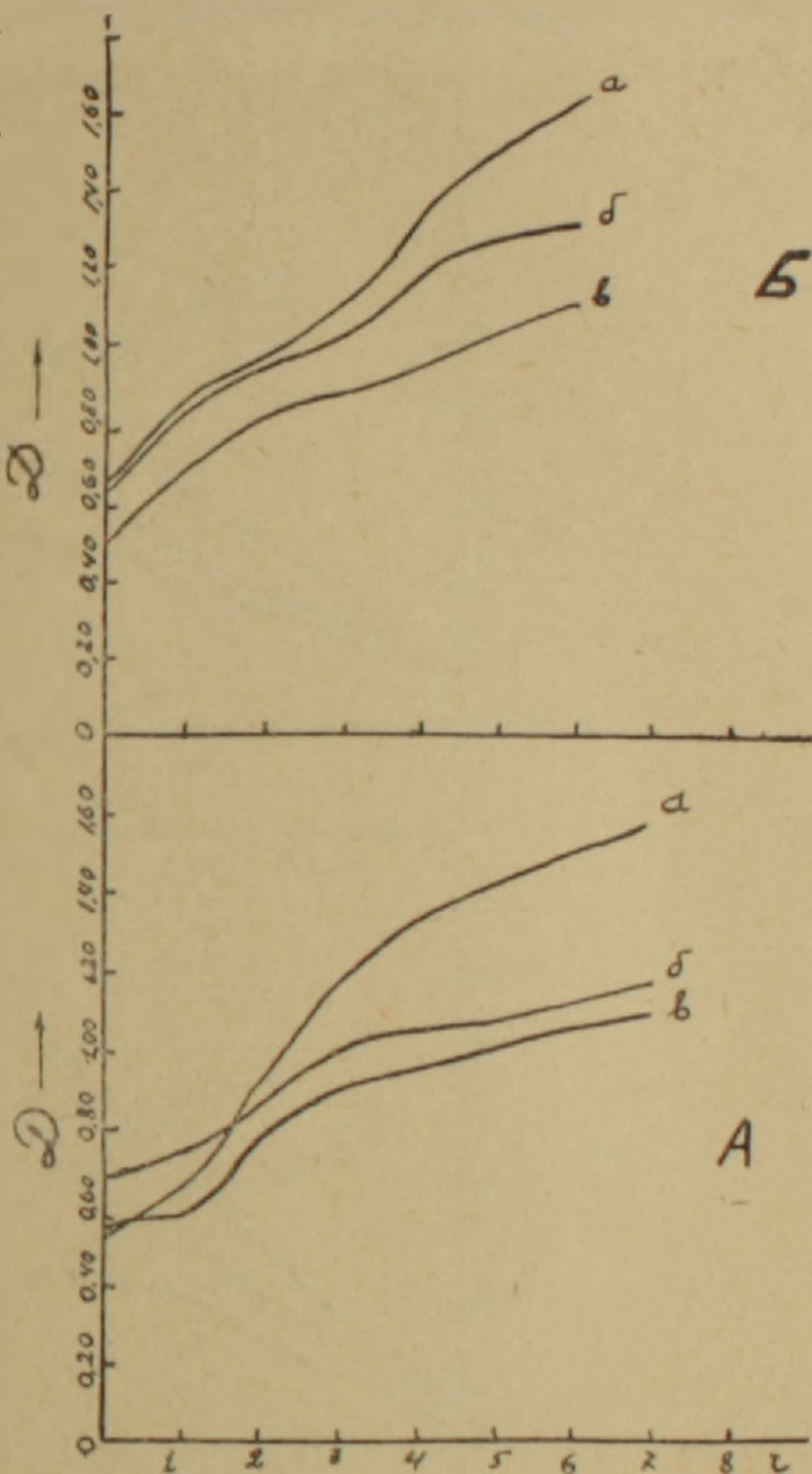


Рис. 1. Кривые автолиза печени при введении цистеина и тиомочевины до облучения: а — контроль, б — цистеин, в — тиомочевина. А — спустя 3 часа, Б — спустя 24 ч. после облучения. Ось абсцисс — оптическая плотность аминокислот, ось ординат — время инкубации проб в часах.

аминоазота в гомогенатах в двух случаях — контроля и тиомочевина — почти одинаковы, а у животных, получивших цистеин до облучения, значительно выше. Ход автолиза меняется уже после 2-часовой инкубации: в контроле он дает быстрый прирост аминоазота, при этом обнаруживая явную тенденцию увеличения выхода реакции во времени.

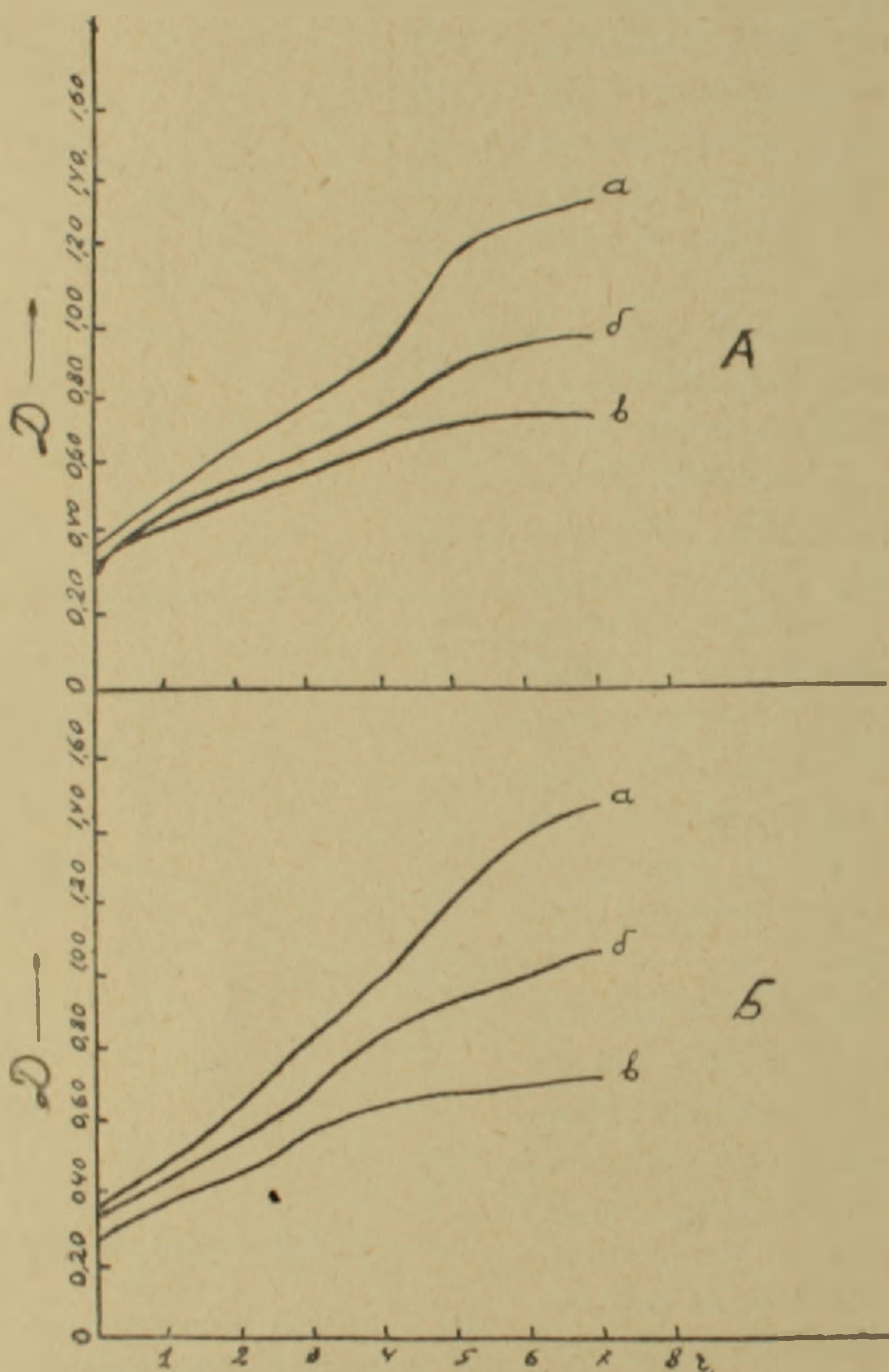


Рис. 2. Кривые автолиза печени при введении цистеина и тиомочевины до облучения: а — контроль, б — цистеин, в — тиомочевина. А — спустя 3 суток, Б — спустя 7 дней после облучения. Ось абсцисс — оптическая плотность аминоазота, ось ординат — время инкубации проб в часах.

В опытных пробах в первые 2 ч. реакции автолиза протекают почти так же, как у контрольной группы. Явные изменения в ходе реакции наблюдаются при дальнейшей инкубации проб, начиная с 3 ч. Как видно, реакции при этом протекают значительно медленнее и имеют сравнительно маленький выход. Необходимо отметить, что за-

задержка автолиза в гомогенатах печени крыс, получивших до облучения тиомочевину, более наглядная, чем у животных, получивших цистеин.

Спустя 24 ч. после облучения значительных изменений в ходе реакций автолиза печени этих животных не наблюдается (рис. 1, Б).

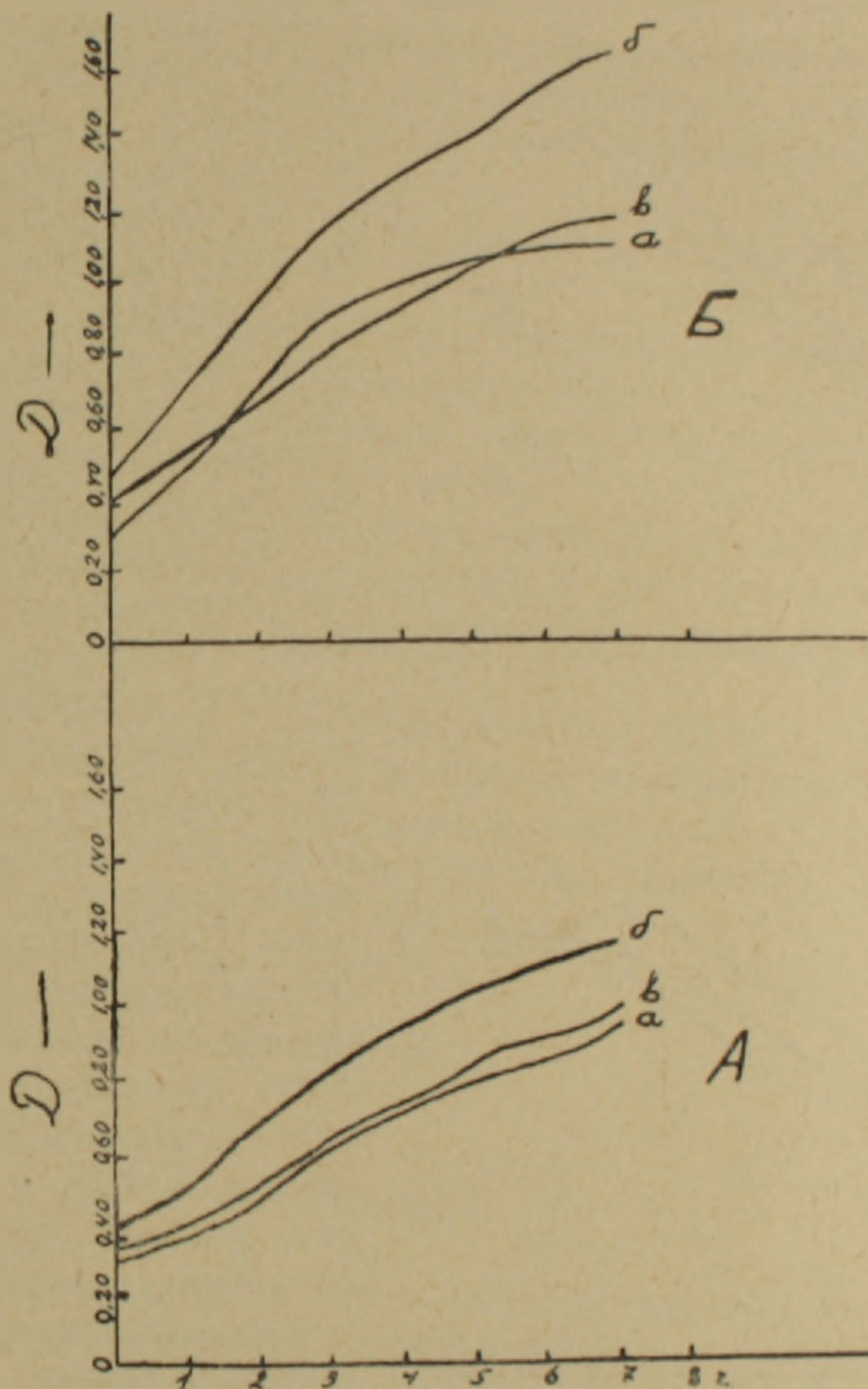


Рис. 3. Кривые автолиза печени при введении цистеина и тиомочевины спустя 1,5—2 ч. после облучения: а — контроль, б — цистеин, в — тиомочевина. А — спустя 3 ч., Б — спустя 24 ч. после облучения. Ось абсцисс — оптическая плотность аминоказота, ось ординат — время инкубации проб в часах.

Она отличается от вышеописанной только тем, что исходное количество аминоказота в контроле выше, чем в опыте, и, что главное, как в случае цистеина, так и тиомочевины, исходные цифры идут на уменьшение, что, по-видимому, говорит о значительной задержке процессов самораспада ткани *in vivo*.

Спустя 3 суток и, особенно, 7 суток после облучения, наблюдается дальнейшая задержка автолитических реакций в гомогенатах печени крыс, получивших до облучения цистеин и тиомочевину (рис. 2, А и Б). Необходимо отметить, что задержка автолиза как *in vitro*, так и *in vivo* сильнее выражена в печени животных, до облучения получивших тиомочевину. По-видимому, в опытах с цистеином помимо защитного-профилактического действия сказывается роль свободной сульфгидрильной группы, которая может отчасти быть причиной незначительного усиления процессов самораспада тканей путем активации катепсинов.

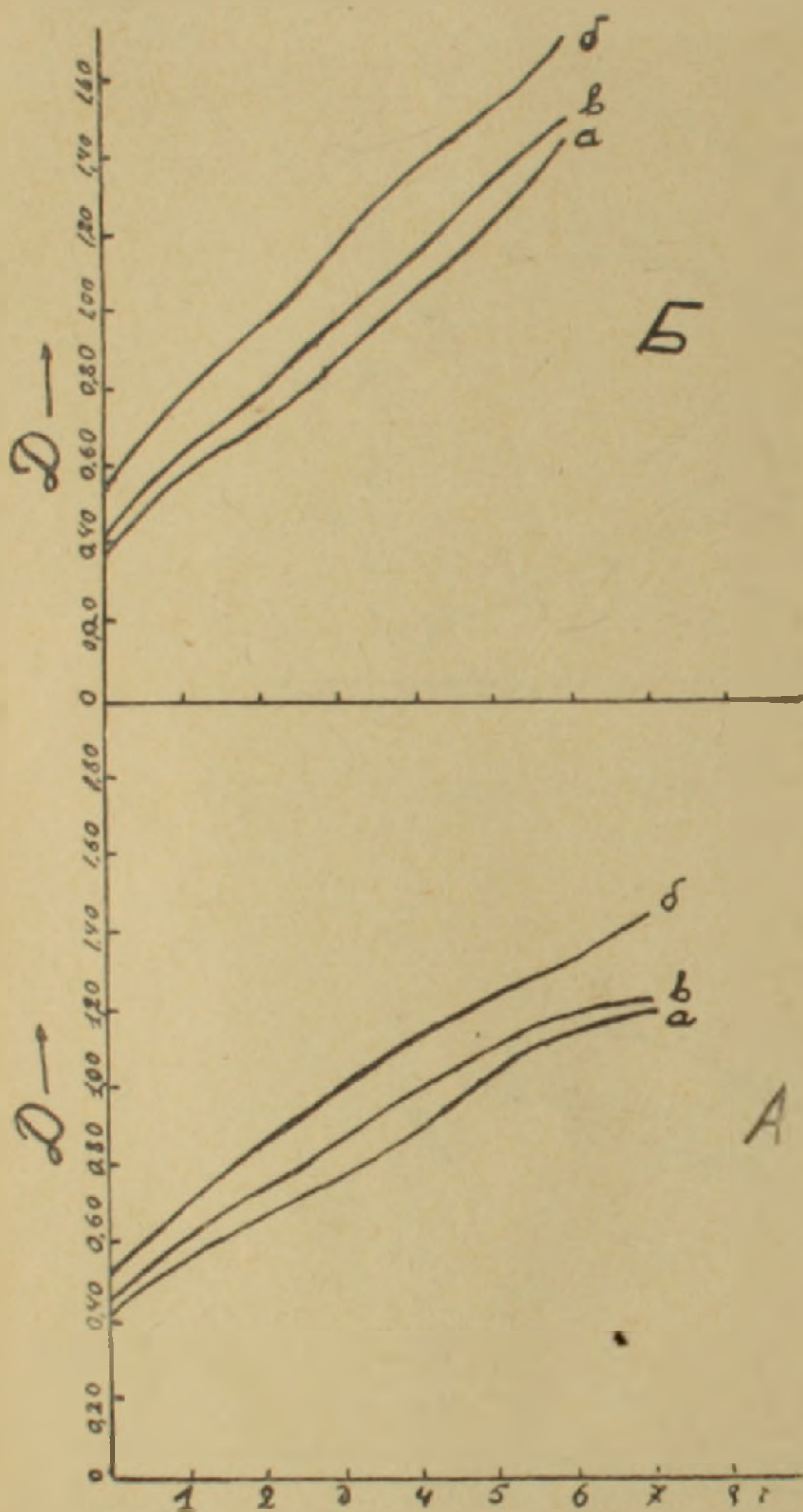


Рис. 4. Кривые автолиза печени при введении цистеина и тиомочевины спустя 1,5–2 ч. после облучения; а — контроль, б — цистеин, в — тиомочевина; А — спустя 3 суток, Б — спустя 7 дней после облучения. Ось абсцисс — оптическая плотность аминокислот, ось ординат — время инкубации проб в часах.

печени крыс, получивших цистеин и тиомочевину, становится более наглядной (рис 4, А и Б), и, что важно отметить, на 7 день после облучения процесс этот с первого часа инкубации проб развивается быстро и бурно, давая почти прямую линию без перегибов (рис. 4 Б). Учитывая факт быстрого физиологического выведения вы-

ведения получивших тиомочевину. По-видимому, в опытах с цистеином помимо защитного-профилактического действия сказывается роль свободной сульфгидрильной группы, которая может отчасти быть причиной незначительного усиления процессов самораспада тканей путем активации катепсинов.

Во второй серии опытов, где животные получали цистеин и тиомочевину после облучения, наблюдается совершенно противоположная картина. Уже спустя 3 ч. и особенно через 24 ч. после облучения автолиз в гомогенатах печени значительно ускоряется по сравнению с контролем, причем процесс более интенсивно протекает в печени животных, получивших цистеин (рис. 3, А и Б), и, что главное, в обоих случаях как с цистеином, так и с тиомочевой исходные количества аминокислот в пробах значительно выше, чем в контроле, что свидетельствует об усилении распада белков печени *in vivo* у этих животных. В более отдаленные сроки после облучения вышеописанная интенсификация процессов автолиза в

шеописанных веществ из организма, с одной стороны, и усиление автолитических процессов в тканях и органах облученных животных вплоть до их гибели, с другой, приходится допустить весьма спекулятивный, но логический вывод, что в последнем случае, а именно при даче цистеина и тиомочевины после облучения, по всей вероятности. эти вещества, стимулируя какие-то „пусковые“ механизмы, могут вовлечь в разные звенья реакций обмена веществ патологически измененные ферментативные процессы, результатом чего и является усиление автолитических процессов, столь рано наблюдающиеся в органах и тканях облученных животных.

Полученные нами результаты позволяют сделать следующие выводы:

- 1) цистеин и тиомочевина при введении животным непосредственно перед облучением значительно повышают выживаемость;
- 2) применение этих веществ после облучения ухудшает общее состояние животных и ускоряет их гибель;
- 3) в случае дачи цистеина и тиомочевины до облучения, в органах животных протеолитические процессы резко затормаживаются, причем эффект задержки от цистеина значительно выше, чем от тиомочевины;
- 4) при даче животным этих веществ спустя 1,5—2 ч. после облучения имеет место значительное ускорение протеолитических реакций, протекающих в органах животных, причем более резко выраженное ускорение этих реакций наблюдается у животных, получивших после облучения цистеин.

Сектор радиобиологии Академии наук АрмССР,

Поступило 7.1 1961 г.

Кафедра биофизики

Московского государственного университета

Ռ. Դ. ՄԿՐՏՅԱՆ

ԳԱՄՄԱ ՃԱԽԱԳԱՅԹՈՒՄԻՅ ԱՌԱՋ ԵՎ ՀԵՏՈ ՑԻՍՏԵԻՆԻ ՈՒ
ԹԻՈՍԻՉԱՆՅՈՒԹԻ ԿԻՐԱՌՄԱՆ ԴԵՊԻՈՒՄ ԿԵՆՍՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ
ԵՎ ՊՐՈՏԵՆՈԼԻԶԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՀԱՐՑԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հեղինակի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ճառագայթումից առաջ և հետո ներարկած ցիստեինի և թիոմիզանյութի ազդեցությունը առնետների կենսոտնակության և լյարդում ու փայծաղում ընթացող պրոտեոլիտիկ պրոցեսների վրա:

Փորձերը կատարվել են 3—4 ամսական արու առնետների վրա, որոնք ենթարկվել են միանվագ դամմա ճառագայթման, 800 ռենտգեն դոզայով:

Կենդանիների առաջին խմբին ճառագայթումից 10 րոպե առաջ ներարկել են ներորովալնային 20/0 150 մգ թիոմիզանյութ, իսկ երկրորդ խմբին՝

20/0 150 մգ ցիստեին, 100 գ կենդանի քաշին: Փորձերի երկրորդ սերիայում կենդանիները ստացել են նույն քանակի նյութեր, միայն ճառագայթումից 1,5—2 ժամ անց:

Հետազոտվող օրգաններում պրոտեոլիզի ինտենսիվությունը որոշվել է ապոտի և ազոատ ամինոթթվի քանակի փոփոխությունների հիման վրա:

Կենդանիների այն խմբերը, որոնք չեն ներարկվել, մահանում են 20 օրվա ընթացքում սուր ճառագայթային հիվանդությունից, իսկ այն կենդանիները, որոնք ճառագայթումից առաջ ստացել են ցիստեին և թիոմիդանյութ, ապրում են երկար:

Ցիստեինի և թիոմիդանյութի ներարկումը ճառագայթումից առաջ զգալիորեն արգելակում է պրոտեոլիտիկ պրոցեսների ընթացքը լյարդում և փայծաղում, ըստ որում ցիստեինից ստացված արգելակումն ավելի ակնառու է:

Ճառագայթումից հետո վերահիշյալ նյութերի ներարկումն զգալիորեն արագացնում է պրոտեոլիտիկ պրոցեսների ընթացքը լյարդում և փայծաղում: Անհրաժեշտ է նշել, որ այս դեպքում ցիստեինն ստացած կենդանիների օրգաններում պրոտեոլիզն ընթանում է ավելի արագ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Тарусов Б. Н. Ж. Природа, 3, 1960.
2. Мкртчян Р. Г. Тр. симпозиума по первичным механизмам биологического действия ионизирующих излучений. М., 1960.
3. Alexander P., Charlesby A. Nature, London, 173, 578, 1954.
4. D. W. van. Bekkum. Acta physiol et pharmacol neerb. 4, 508, 1956.
5. Everett M. R. Mediol biochemistry p. 451 N. Y. L. 1946.
6. Palt H. M. Physiol. Rev, 33, 35, 1953.
7. Haehn H. Autolise, Ergebn, Enzymoforsch Bd 5, 117, 1936.
8. Gemm E. W., Corking E. C. Journ. Biochemis'try. 1, 58, 1954.