

Շ. Մ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Ն. Տ. ԱԴՅԱՆ, Լ. Գ. ՏԵՓԱՆՅԱՆ

АНОМАЛЬНОЕ СВЕЧЕНИЕ КЛЕТОК, ИНДУЦИРОВАННОЕ РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ В АТМОСФЕРЕ ПОВЫШЕННЫХ ДАВЛЕНИЙ КИСЛОРОДА

По современным данным радиохимии и радиобиологии, большая доля поражающего фактора ионизирующих излучений обусловлена реакциями окисления, осуществляющимися радикалами и перекисями, возникающими в субстрате при облучении. Состояние свободных радикалов при облучении, по-видимому, действует на белковый, нуклеиновый, липидный и другие обмены. Главной задачей при исследовании начальных механизмов, как известно, является изучение пусковых реакций, имеющих большой выход и приводящих к неотвратимым (фатальным) изменениям. Посредством метода электронного парамагнитного резонанса показано наличие свободных радикалов в облученном организме. Однако во всех этих исследованиях существует принципиальное ограничение названного метода из-за воды в бисубстрате. В 1962 г. в Харрогейте [4] был представлен новый метод [2, 3, 6], названный методом определения сверхслабой хемилюминесценции. Было показано, что сверхслабое свечение возникает при рекомбинации перекисных радикалов RO_2 при окислении углеводов.

Измерения интенсивности сверхслабого свечения клеток и тканей дают возможность следить за изменением количества радикалов при лучевых воздействиях в липидных структурах и оценить кинетические особенности протекающей при этом реакции окисления. Известно также, что в клетке происходит ферментативное окисление липидов, связанное с наличием в клетках антиоксидантов, тормозящих цепные окислительные реакции липидов и поддерживающих стационарный режим их протекания.

Поэтому всякий внешний фактор, который может индуцировать непосредственное образование радикалов в организме, ускоряет развитие этой реакции и тем самым повышает скорость расходования антиоксидантов.

В понимании пусковых механизмов радиационного поражения немаловажная роль принадлежит кислороду. Кислород действует только при облучении, поэтому его действие распространяется только на ранних стадиях радиационно-химических процессов, а радиобиологический эффект пропорционален концентрации его. В литературе имеются скудные данные и гипотезы об «аномальном» переходе кислородного эффекта, выяв-

ляющегося при повышенных давлениях. Представленная работа целиком посвящена этому вопросу.

Метод регистрации и результаты измерений. Все измерения проводились на разработанной в нашей лаборатории хемилюминесцентной установке [1], детектором которой является ФЭУ-42 (рис. 1), работающий в квантометрическом режиме. В первой камере размещаются объект, ФЭУ и вращающийся диск с оптическими фильтрами, во второй цилиндрической камере смонтирован реверсивный двигатель, который после измерения уровня свечения переводит объект на облучение и обратно под ФЭУ. Время манипуляции составляет 10—12 сек.

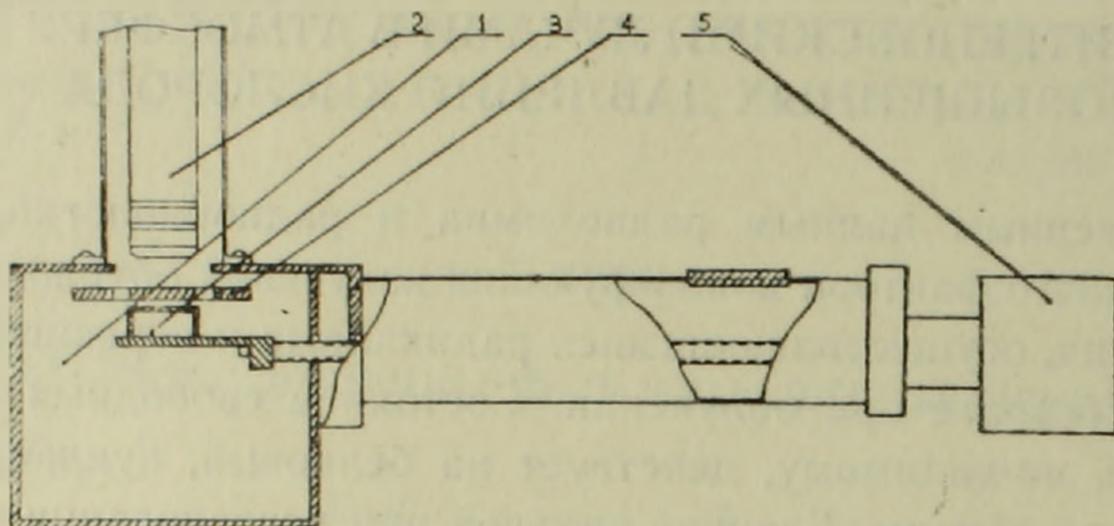


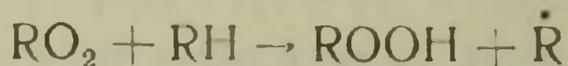
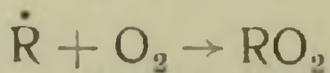
Рис. 1. Схема установки для изучения ХЛ: 1) основная камера, 2) фотоэлектронный умножитель (ФЭУ), 3) экспериментальный столик, 4) диск с фильтрами, 5) реверсивный двигатель.

Объектом наших исследований служили 4—5-дневные корешки гороха сорта Виктория. После проращивания семян в термостате (24°C) они помещались в специальный контейнер и облучались рентгеновской установкой при энергии 248 кэв, интенсивности тока 20 Ма.

Вначале снимались кривые доза-эффект, начиная от 500 р до 5 кр. Затем относительно к контролю снимались кривые свечения в атмосфере азота, служащего контролем для кислорода. Следующая серия экспериментов была проделана с кислородом, где снималась зависимость интенсивности свечения от давления, в пределах 0,2—9 атмосфер. Регистрировалось также одновременное воздействие облучения и кислорода. Измерялся уровень хемилюминесценции при действии протекторов.

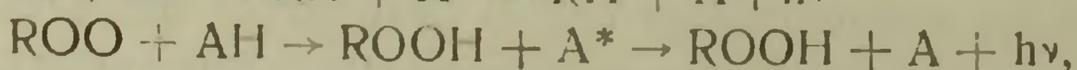
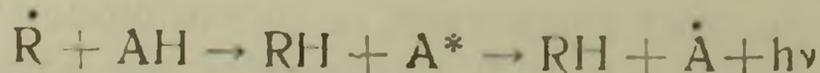
Результаты и их обсуждение. Кривая доза-эффект до 3 кр имеет прямую зависимость (рис. 2), при 4 и 5 кр наблюдается насыщение. Дальнейшие эксперименты проводились при дозе 3 кр.

Механизм внутренней конверсии световых потоков в настоящее время не раскрыт полностью, однако имеющиеся в литературе интерпретации основаны на реакциях окисления углеводородов.



При воздействии $RO_2 + RO_2$ образуется промежуточный продукт и свет.

В организме антиоксиданты автоматически поддерживают нормальный уровень окисления. Для биологического свечения была предложена реакция [5],



где АН—антиоксидант.

После снятия контрольных точек, т. е. выхода хемилюминесценции, регистрировалось свечение при азотной концентрации. При давлении

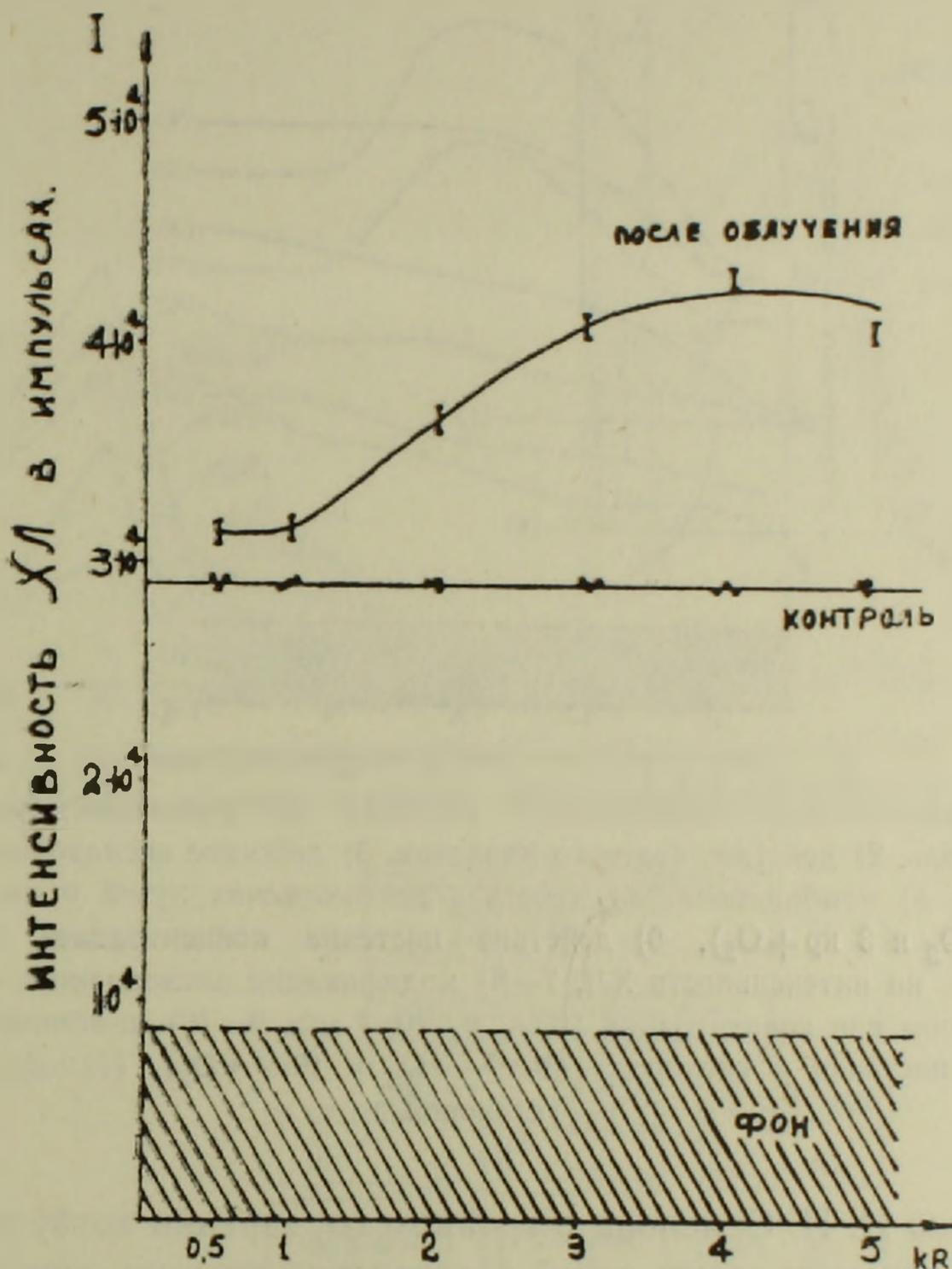


Рис. 2. Зависимость интенсивности ХЛ от дозы рентгеновского излучения.

0,2 атм азота уровень свечения резко падает и не наблюдается эффект снижения при увеличении давления (рис. 3). При кислородном давлении, наоборот, уровень свечения повышается, кислород активно входит в реакцию и процесс окисления усиливается. Скорость такой реакции при повышенных давлениях кислорода замедляется и кривая выходит на плато.

Другая картина наблюдается при действии радиопротекторов цистина и цистофоса. Цистофос — моонатриевая соль β -аминофосфорной кислоты, $M = 179,11$. Они являются антиокислителями, резко ингибируя выход ХЛ и переводят интенсивность на более низкий уровень. После этих экспериментов на корешки воздействовали одновременно X-лучами и кислородом. Оказалось, что выход хемилюминесценции при действии $2 \text{ кр} + \text{O}_2$ усиливается, и при давлении до 9 атмосфер интенсивность медленно растет.

Абсолютно другая картина при действии $3 \text{ кр} + \text{O}_2$. Эта кривая показывает наличие «верхнего» и «нижнего» предела кислородного давления. С первого взгляда кажущийся «парадокс» можно объяснить по тео-

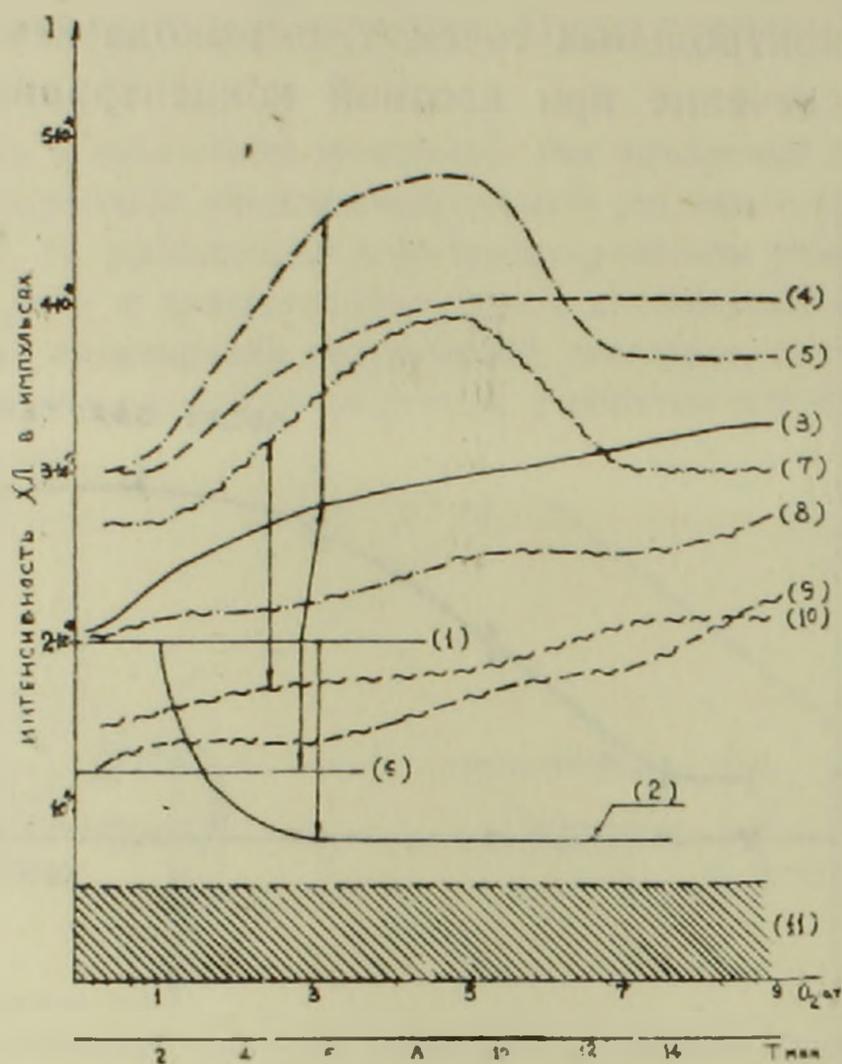


Рис. 3. Зависимость интенсивности свечения от различных факторов: 1) контроль, 2) действие азотного давления, 3) действие кислородного давления, 4–5) комбинированное действие рентгеновских лучей и кислорода (2 кр + O_2 и 3 кр + O_2), 6) действие цистеина концентрацией 10^{-2} и 10^{-3} м/л на интенсивность ХЛ, 7–8) модификация кислородного эффекта L-цистеином при концентрации 10^{-2} и 10^{-3} м/л, 9–10) комбинированное влияние цистеина и кислорода ($10^{-2} + O_2$ и $10^{-3} + O_2$), 11) общий фон установки.

рии академика Н. Н. Семенова о тройном соударении возбужденных молекул, приводящем к срыву цепей и остановке реакции окисления. Хотя вероятность регистрации таких реакций очень мала в жидкой фазе и в нашем случае можно было получить только при 3 кр + O_2 , однако не исключено, что и в живом организме могут быть такие реакции. Существование такой реакции подтверждают также контрольные опыты в модификации с цистеином. Интересным оказался тот факт, что хотя цистеин тормозил процесс окисления, характер реакции оставался прежним.

Большое значение имеет также измерение спектров ХЛ как в норме, так и после действия ионизирующей радиацией, кислородом и протекторами. Оказалось, что спектр ХЛ везде оставался почти постоянным (рис. 4, 5). Отсюда вытекает, что во всех экспериментах продукт, ответственный за ХЛ, остается постоянным.

Рассмотрим общую картину схематически (рис. 6). Рассматривая реакции в углеводородах, видим, что выход светового кванта возможен от рекомбинации радикалов типа R и RO_2 . В биоорганизмах радикал, встречаясь с антиоксидантом, может дать активный радикал A, например, при взаимодействии двух активных радикалов $A^* + A^*$ возможно образование кванта света. Возможна также реакция RO_2 с антиоксидантами, тогда мы имеем гидроперекись и квант света.

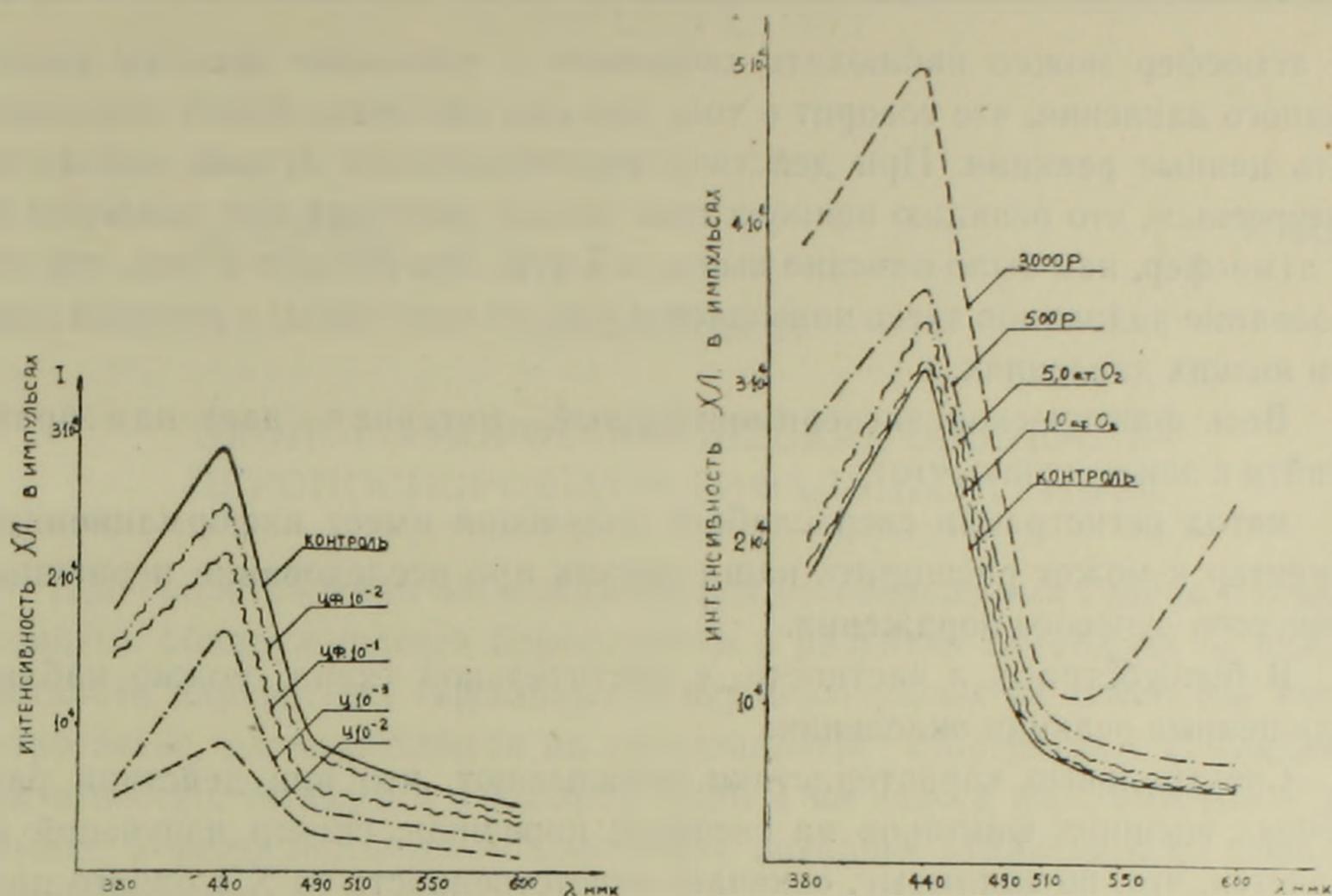


Рис. 4—5. Спектральная зависимость интенсивности ХЛ при действии цистозоса и цистеина в разных концентрациях кислорода и облучения.

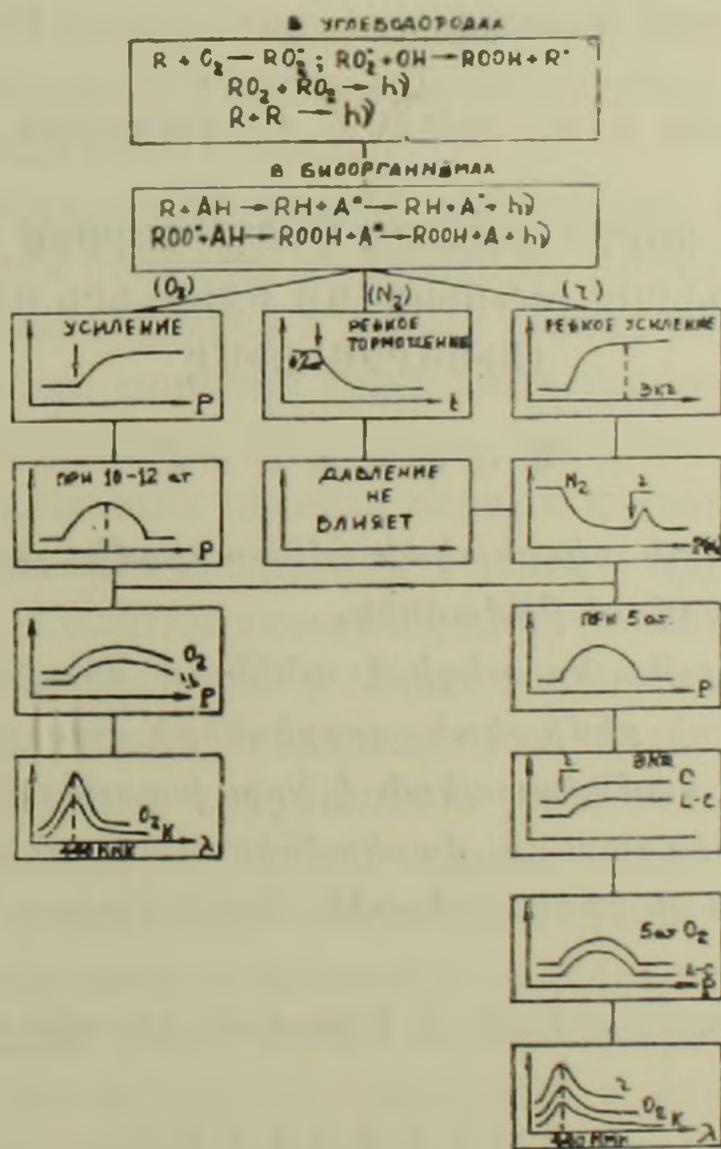


Рис. 6. Схема и сравнительная характеристика хемилюминесцентных процессов (объяснение в тексте).

Схематически, имея такую реакцию, мы можем рассмотреть в отдельности что происходит в корешках при действии кислородом, азотом и радиацией. Здесь важно подчеркнуть, что при действии кислородом в

12 атмосфер можно наблюдать «верхний» и «нижний» пределы кислородного давления, что говорит о том, как сам кислород может инициировать цепные реакции. При действии рентгеновскими лучами оказалось интересным, что реакцию цепного типа можно получить при давлении не 12 атмосфер, как было описано выше, а 5 атм. Это говорит о том, что образование радикалов здесь повышается уже от излучения, и реакция идет при низких давлениях.

Весь фактический экспериментальный материал дает нам право прийти к заключению, что:

метод регистрации сверхслабого излучения имеет информационный характер и может расширить наши знания при исследовании первичных процессов лучевого поражения.

В биосубстрате, в частности в растительной ткани, можно наблюдать цепные реакции окисления.

Спектральные характеристики показывают, что при действии различных внешних факторов на свечение корешков, спектр излучений не меняется, что, по-видимому, означает ответственность за ХЛ одного продукта, и при облучении не наблюдается внутренней конверсии.

Ереванский физический институт, ГКАЭ
лаборатория радиационной биофизики

Поступило 30.XII 1970 г.

ԱՎԱԿՅԱՆ Ծ. Մ., ԱԺՅԱՆ Ն. Ս., ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ Լ. Գ.

**ԹԹՎԱԾՆԱՅԻՆ ԲԱՐՁՐ ՃՆՇՄԱՆ ՄԻՋԱՎԱՅՐՈՒՄ ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ
ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐՈՎ ԻՆԴՈՒԿՑՎԱԾ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԱՆԲՆԱԿԱՆՈՆ
ԼՈՒՍԱՐՁԱԿՈՒՄԸ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ճառագայթահարման սկզբնական մեխանիզմի լուսաբանման հարցում կարևոր տեղ է հատկացվում թթվածնին:

Թթվածնի ազդեցությունը տեղի է ունենում միայն ճառագայթահարման ընթացքում, ռադիացիոն-քիմիական պրոցեսների վաղ շրջանում և ռադիոկենսաբանական էֆեկտը համեմատական է նրա խտությանը:

Գրակրոնության մեջ շատ քիչ վարկածներ և տվյալներ կան թթվածնի «անբնականոն» փոխանցման էֆեկտի մասին: Այն ի հայտ է գալիս վերջինի բարձր ճնշման դեպքում:

Այս հարցի պարզաբանմանն է նվիրված վերոհիշյալ աշխատանքը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Ц. М., Аджян Н. С. Биофизика, 2, 11, 717, 1966.
2. Васильев Р. Ф., Вичутинский А. А., ДАН СССР, 142, 3, 1962а, 615—1962б.
3. Васильев Р. Ф., Вичутинский А. А. Журн. физ. химии, 36, 1799—1962в.
4. Тарусов Б. Н. Труды 11-ой Международной конференции по радиационным исследованиям, Харрогейт, 1962.
5. Тарусов Б. Н. Первичные процессы лучевого поражения, Госатомиздат, М., 1962.
6. Colli L. Facchini, cimento, 11, 225, 1954.