

А. А. ЛАЛАЯН

О ВЛИЯНИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА
СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ПИГМЕНТ СЕТЧАТКИ—РОДОПСИН

В течение последних лет лаборатория биофизики анализаторов Сектора Радиобиологии АН АрмССР проводит исследования по изучению влияния ионизирующей радиации на сетчатку глаза, которую можно рассматривать как своеобразный участок центральной нервной системы, вынесенный на периферию. Поэтому всякий результат, полученный в опытах на сетчатке, помимо большого интереса для оценки состояния в этих условиях зрительной рецепции, приобретает существенное значение и для характеристики радиочувствительности нервной системы (Г. Г. Демирчоглян, А. А. Аллахвердян, А. Б. Мелик-Мусьян, В. Г. Оганджанян, В. В. Василян, А. А. Лалаян [2, 3]).

При разработке проблемы о действии ионизирующей радиации на сетчатку в лаборатории применялись различные методы—электроретинография (т. е. запись электрических потенциалов ретины—ЭРГ) с использованием контактной линзы—электрода, микроэлектродная техника для записи интраретинальных потенциалов, амперометрическое определение содержания сульфгидрильных групп в сетчатке и измерение абсорбционных спектров экстрагированного из сетчатки зрительного пурпура—родопсина, морфологические и некоторые гистохимические анализы.

В настоящем сообщении приводятся результаты наших экспериментов по анализу действия ионизирующей радиации на свойства родопсина—основного светочувствительного вещества сетчатки.

В работе ставилась задача изучить абсорбционный спектр родопсина после воздействия достаточно широкого диапазона доз рентгеновых лучей при облучении растворов родопсина, сетчаток, а также целых лягушек. Тем самым мы стремились проверить правильность общепринятого мнения о высокой радиорезистентности зрительного пурпура.

Данное сообщение охватывает результаты серий опытов с облучением растворов родопсина и сетчаток.

Зрительный пурпур является пурпурно-красным веществом, содержащимся во внешних сегментах палочек. Он не растворяется в воде, поэтому для его извлечения из сетчатки употребляют детергенты. К их числу относятся соли желчных кислот, сапонин, дигитонин, мыла и некоторые синтетические вещества.

Анализ зрительного пурпура показал, что бóльшую его часть составляет белок, который обладает ультрафиолетовым спектром, характерным для протеинов (Гехт (Necht [6]). Краузе отмечает, что белок составляет 50—65% молекулы зрительного пурпура и является фосфопротеином. По его же данным, наряду с белком, в состав зрительного пурпура входит также липид, на долю которого приходится 35—50% веса молекулы. Природа хромофорного компонента зрительного пурпура была раскрыта работами Уолда (Wald [9]). П. И. Лазарев [4] указывает, что для процесса регенерации зрительного пурпура большое значение имеет контакт с пигментным эпителием. Это говорит о том, что процесс диффузии доставляет постепенно утерянный в ходе фоторецепции материал.

По Хаббарду (Hubbard [7]) зрительный пурпур более устойчив в теле палочки, чем в растворе. Существуют данные Пескина (Peskin [8]), по которым доза радиации 300.000 р. незначительно понижает концентрацию зрительного пигмента. Дозы облучения в 3.000 р. и 10.000 р. не разрушали зрительный пурпур и не нарушали способности сетчатки восстанавливать его. Работой Пескина исчерпываются литературные указания по действию радиации на родопсин.

Наши эксперименты проводились на лягушках зимнего периода *Rana temporaria*. Животные подвергались предварительной световой адаптации в течение 14 ч. При красном свете производилась декапитация лягушек. После удаления роговицы, хрусталика и стекловидного тела пинцетом осторожно отслаивалась сетчатка. Сетчатки промывались в физиологическом растворе для удаления форменных элементов крови и затем дубились в течение одного часа в растворе квасцов. В качестве экстрагирующего вещества был взят сапонин. После двухчасового экстрагирования раствор зрительного пурпура длительно центрифугировался, жидкий слой ставился на лед.

Спектр поглощения родопсина измеряли при помощи спектрофотометра СФ-4 по 8-и точкам спектра (460, 480, 500, 510, 520, 540, 560, 580 $m\mu$). Облучение проводилось терапевтическим рентгеновским аппаратом РУМ-3.

В настоящем сообщении приводятся результаты следующих двух серий опытов: 1. Определен спектр поглощения облученного родопсина дозами 50, 100, 500, 1000, 5.000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 р. по 3 повторности (в каждом опыте использовано 14 глаз). Параллельно, в качестве контроля, был определен спектр поглощения необлученного родопсина. 2. Определен спектр поглощения родопсина при облучении изолированной сетчатки дозами 50, 100, 500, 1000, 5.000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 р. по 3 повторности. Спектр определялся через день после облучения. Исследования показали следующие результаты.

Во всех 75 опытах кривые, характеризующие плотность растворов родопсина, имеют максимум, расположенный между 500—510 $m\mu$ (рис. 1). При облучении родопсина дозами 50, 100, 500, 1.000 р. наблю-

дается малое уменьшение оптической плотности (D) пигмента. Его спектр не изменялся. Средняя величина D для длины волны 500 $m\mu$ у контрольных растворов составила 0.36 при облучении 0.35, 0.3, 0.35, 0.31. При облучении дозами 5.000, 10.000, 20.000, 30.000 р. наблюдается увеличение D —0.48, 0.43, 0.56, 0.43. При облучении 40.000 и 50.000 р. наблюдается заметное понижение D пигмента (0.28, 0.26) (рис. 2).

При облучении сетчатки для всех доз (50, 100, 500, 1.000, 5.000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 р.) наблюдается снижение D (средние величины 0.22, 0.28, 0.21, 0.25, 0.23, 0.16, 0.27, 0.19, 0.17, 0.16), что лучше всего выражено для доз 10.000, 30.000, 40.000, 50.000 р. (рис. 3). Форма спектра поглощения для всех этих доз не изменяется.

Таким образом, результаты приведенных опытов показывают, что уже при облучении растворов родопсина в достаточно широком диапазоне доз наблюдаются определенные изменения. Хотя форма кривой спектра поглощения и не изменяется, однако оптическая плотность (D) этого пигмента претерпевает изменения. Эти особенности действия ионизирующей радиации на изолированный родопсин возможно объяснить тем, что, работая в широком диапазоне доз, мы лучше улавливаем влияние рентгеновского излучения как раздражителя биологических систем (Ю. Г. Григорьев, [1]) и отмечаем фазный характер его дей-

ствия в зависимости от интенсивности и дозы. Факт понижения D родопсина после облучения растворов пигмента был отмечен только для очень больших доз облучения (Пескин [8]). В наших опытах понижение D пигмента наступало при гораздо меньших дозах, что свидетельствует о его более высокой радиочувствительности. Однако это не является следствием выцветания пигмента, поскольку при этом не изменяется форма самого абсорбционного спектра. Что касается повышения D родопсина, то и этот результат не является парадоксальным, поскольку давно установлена возможность регенерации родопсина даже в растворе Чез (Chase [5]). Не исключено, что в определенных условиях ионизирующая радиация как бы стимулирует процесс синтеза пигмента, который продолжается в темноте в пробирке.

Вторая серия наших опытов четко показала, что родопсин проявляет гораздо большую радиочувствительность, когда облучается, находясь в сетчатке глаза. Как следует из проведенных опытов, во всех случаях имеет место падение D родопсина тем больше, чем интенсивнее облучение. Объяснение этому факту видимо следует искать в связи родопсина с белковыми и ферментными системами зрительных рецепторов, сохранении метаболических процессов.

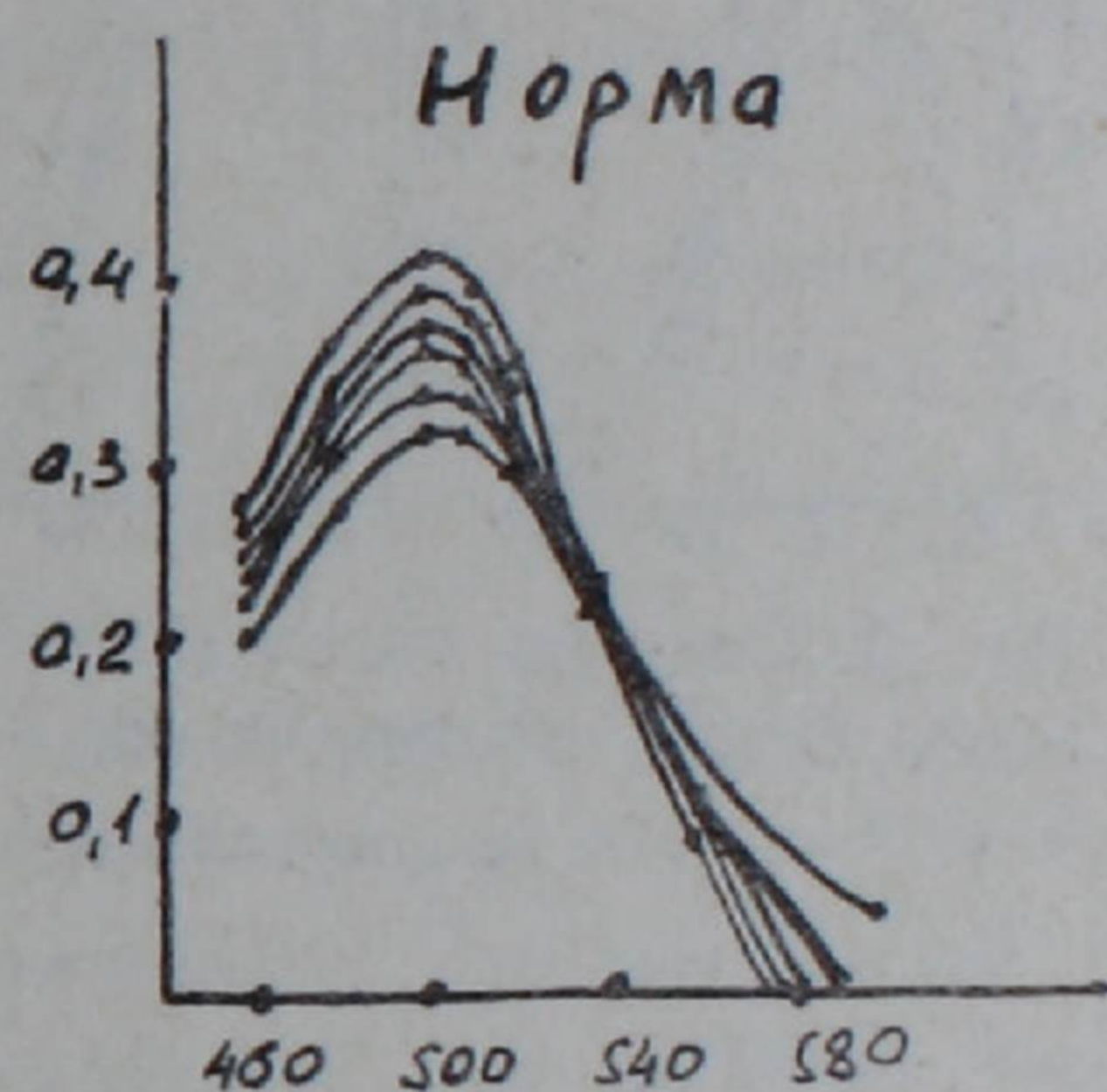


Рис. 1. Спектры поглощения родопсина (контроль). По оси абсцисс—длина волн в $m\mu$; по оси ординат — оптическая плотность родопсина.

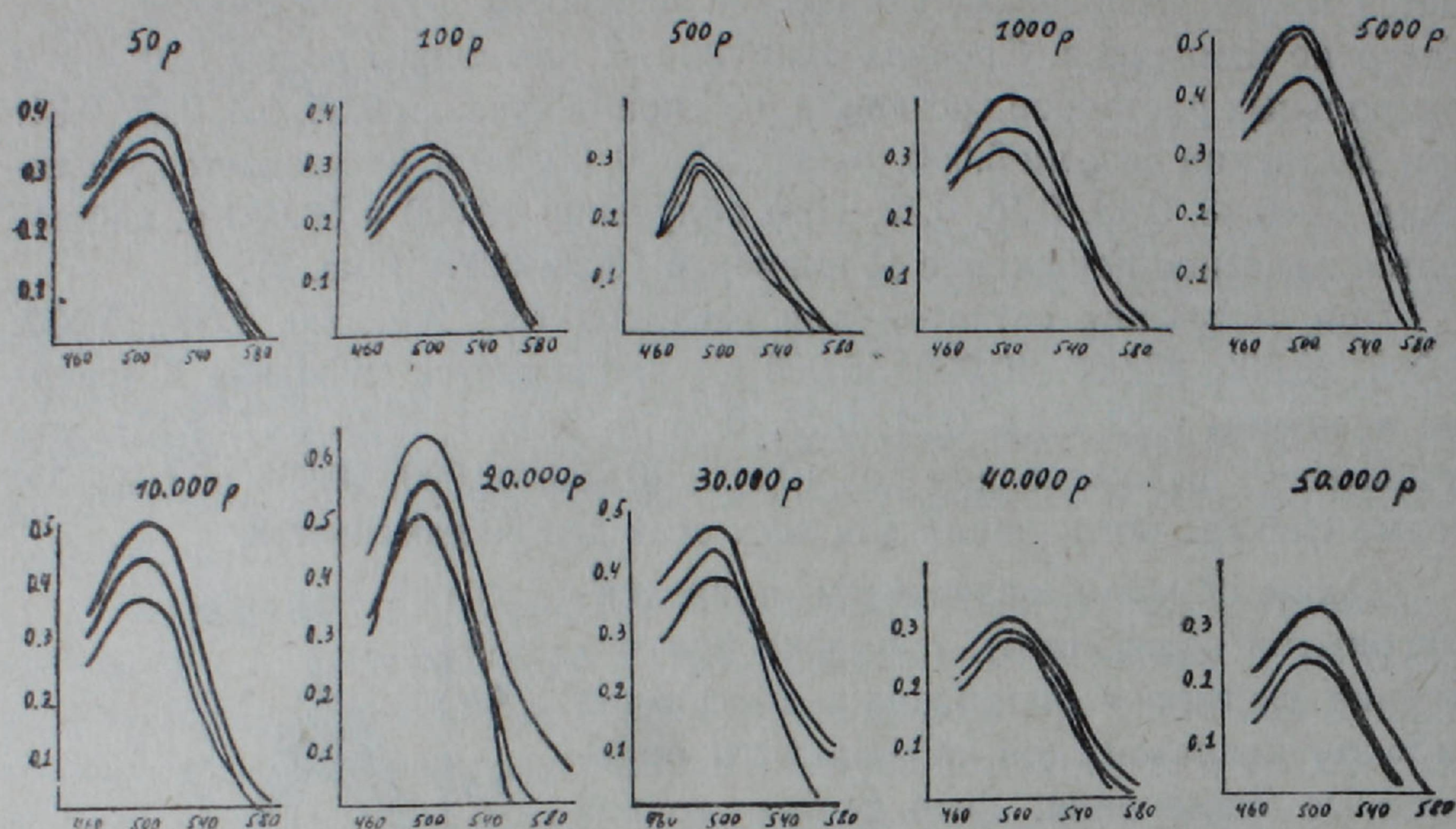


Рис. 2. Спектры поглощения облученного родопсина дозами 50, 100, 500, 1000, 5000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 p. По оси абсцисс—длина волн в nm , по оси ординат—оптическая плотность родопсина.

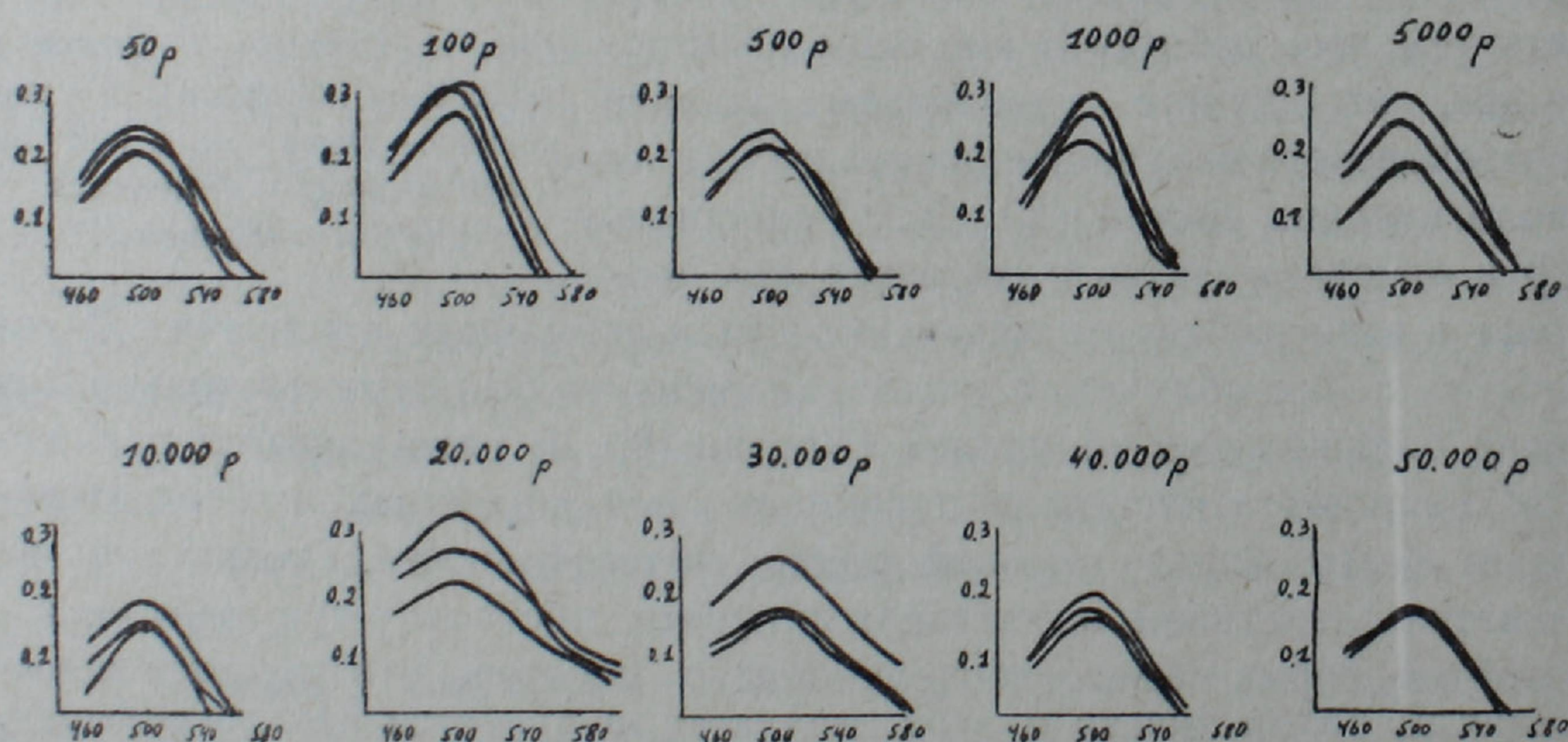


Рис. 3. Спектры поглощения родопсина при облучении изолированной сетчатки дозами 50, 100, 500, 1000, 5000, 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, 50.000 p. По оси абсцисс—длина волн в nm , по оси ординат—оптическая плотность родопсина.

Наши дальнейшие исследования направлены на изучение механизма действия ионизирующей радиации на систему родопсина при облучении целого организма.

Сектор радиобиологии
АН АрмССР

Поступило 5.VII.1962 г.

Ա. Ա. ԼԱԼԱՅԱՆ

ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑԱՆՑԱԹԱՂԱՆԹԻ ԼՈՒՅՍԱԶԳԱՅՈՒՆ ՊԻԳՄԵՆՏ՝ ՌՈԴՈՊՍԻՆԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ներկա հաղորդման մեջ բերվում է ներկու հետևյալ սերիաների արդյունքները.

1. Ճառագայթված ռոդոպսինի կլանման սպեկտրի որոշումը հետևյալ դրզաներով—50, 100, 500, 1000, 5000, 10000, 20000, 30000, 40000, 50000 ռենտգեն. յուրաքանչյուր դրզայից երեք չափում, յուրաքանչյուր չափման մեջ օգտագործվում է 14 աչք: Սրան զուգահեռ, որպես կոնտրոլ որոշված է ճառագայթված ռոդոպսինի կլանման սպեկտրը:

Ռոդոպսինի կլանման սպեկտրը որոշվում է սպեկտրոֆոտոմետրով, սպեկտրի ութ կետերով—460, 480, 500, 510, 520, 540, 560, 580 mμ.

2. Որոշված է ռոդոպսինի կլանման սպեկտրը մեկուսացված ցանցաթաղանթի ճառագայթման դեպքում (50—50000 ռենտգեն):

Հետազոտությունները ցույց են տվել հետևյալ արդյունքները. բոլոր 75 փորձերում ռոդոպսինի օպտիկական խտությունը բնորոշող կորերը ունեն մաքսիմում տեղավորված 500—510 mμ-ում: Ռոդոպսինի ճառագայթման ժամանակ 50, 100, 1000 ռենտգեն դրզաներով, դիտվում է պիգմենտի օպտիկական խտության թեթև իջեցում, 40.000 և 50.000 ճառագայթման ժամանակ՝ ուժեղ իջեցում: Մնացած դրզաների ճառագայթման ժամանակ նկատվում է օպտիկական խտության բարձրացում: Մեկուսացված ցանցաթաղանթի ճառագայթման ժամանակ բոլոր դրզաների դեպքում նկատվում է խտության իջեցում:

Այսպիսով բերված փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ ռոդոպսինի ճառագայթման ժամանակ դրզայի բավականին մեծ դիապազոնում դիտվում է որոշակի փոփոխություններ: Չի ժխտվում, որ որոշակի պայմաններում իոնիզացնող ճառագայթները ստիմուլ են հանդիսանում պիգմենտի սինթեզին: Ռոդոպսինը ի հայտ է բերում ավելի մեծ ռադիոզգայնություն, երբ ճառագայթվում է գտնվելով ցանցաթաղանթի մեջ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Григорьев Ю. Г. Автореферат докторской диссертации. 1962.
2. Демирчоглян Г. Г. 1961. Wissenschaftliche Zeitschrift der Karl-Marx Universität, Leipzig, 10, 3, 231.
3. Демирчоглян Г. Г., Алахвердян М. А., Мелик-Мусьян А. Б., Оганджян В. Г., Василян В. В., Лалаян А. А. Радиобиология, 1962, 3.
4. Лазарев П. П. Ионная теория возбуждения, 1923.
5. Chase A. M. J. Gen. Physiology, 1939, 23, 21.
6. Hecht S. Annual Review of Biochemistry, 1942, 11, 465.
7. Hubbard R. J. Gen. Physiology, 1958, 42, 258.
8. Peskin J. Americ. J. opthalm, 1955, 39, 6.
9. Wold Q. J. Gen. Physiol., 1935, 19, 351.