

Л. И. ХАРЧЕНКО, Т. Е. ПАВЛОВСКАЯ, В. А. НЕСТЕРОВ

О ПРИРОДЕ ЭФФЕКТА МОЩНОСТИ ДОЗЫ ПРИ γ -ОБЛУЧЕНИИ БЕЛКОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 IV 1974)

Зависимость радиационного поражения от мощности дозы излучения в пределах от нескольких рентген до сотен рентген в секунду широко исследована на биологических объектах с использованием таких тестов, как летальная доза, выживаемость, средняя продолжительность жизни. Причем отмечают следующие особенности этого явления: влияние мощности дозы наблюдается, как правило, в присутствии кислорода (¹, ²), увеличение мощности дозы и уменьшение концентрации кислорода в облучаемой ткани действует одинаково: радиационное поражение уменьшается (³, ⁴), эффект мощности дозы, наблюдаемый при низких концентрациях кислорода, исчезает с увеличением концентрации кислорода в облучаемом в тех же условиях объекте (⁵⁻⁷). Высказывают предположение, что эффект мощности дозы на биологических объектах зависит от локального поглощения кислорода в первичных радиационно-химических реакциях, протекающих со скоростью, превышающей скорость диффузии газа, поддерживающей обычный уровень оксигенирования, что способствует созданию в образце состояния, называемого «радиационно-индуцированной гипоксией». Исследование этого вопроса на молекулярном уровне почти отсутствуют. Указание на влияние интенсивности излучения на радиационно-химические выходы процесса связывания кислорода белком были получены нами ранее (⁸). Цель настоящей работы — выявление роли кислорода в создании эффекта мощности дозы при облучении белка, основанное на прямом определении величины связывания кислорода белком в процессе облучения в зависимости от интенсивности излучения.

В качестве объекта исследования был взят серумальбумин человека (САЧ). Облучение 10% водного раствора и сухих образцов белка γ -лучами Co^{60} дозой 1000 кр проводили на гамма-установке ГУРХ-100000 при мощностях излучения 50, 100, 200 и 400 р/сек, в атмосфере кислорода, обогащенного на 41% изотопом O^{18} . Концентрацию O^{18} определяли на масс-спектрометре СН-6 с точностью $\pm 2\%$ в Институте атомной энергии им. И. В. Курчатова. Подготовка образцов CO_2^{18} для масс-спектрометрического определения описана ранее (⁸).

Выбранный в нашей работе диапазон мощностей дозы позволил получить следующую количественную зависимость величины связывания кислорода молекулами белка от этого параметра: с повышением интенсивности излучения в 8 раз (от 50 р/сек до 400 р/сек) количество связанного кислорода на одну молекулу белка в растворе и в сухих образцах уменьшается более чем в полтора раза (табл. 1). Это означает, что процесс радиационно-индуцированного связывания кислорода белком зависит от распределения дозы во времени, причем наиболее эффективным является излучение меньшей мощности и, следовательно, наиболее продолжительного времени облучения. Время, за которое образец получает дозу 1000 кр при мощностях дозы 50, 100, 200 и 400 р/сек, составляет 166, 83, 42 и 21 мин. соответственно.

Для проявления эффекта мощности дозы решающее значение имеет стадия облучения, которая наступает после того, как будет израсходован весь первоначально растворенный кислород, поскольку исходные условия оксигенирования образцов одного вида одинаковы. В случае 10% водных растворов САЧ эта стадия начинается после того, как на каждую молекулу белка свяжется по 0,92 атома кислорода (исходя из растворимости O_2 (9)). Оставшуюся часть дозы образец получает в условиях недостатка кислорода, когда газ поступает в раствор путем диффузии. При облучении с мощностью дозы 400 р/сек, занимающем всего 21 мин., время для диффузии O_2 значительно меньше, чем при облучении с мощностью дозы

Таблица 1

Радиационно-индуцированное связывание кислорода молекулами САЧ при облучении в дозе 1000 кр

Мощность дозы, р/сек	Число атомов кислорода на 1 молекулу САЧ	
	10% водный раствор	сухой образец
50	3,90	2,08
100	3,15	1,63
200	2,62	1,30
400	2,24	1,07

Таблица 2

Радиационные выходы связывания кислорода (G) при облучении белка в дозе 1000 кр

Мощность дозы, р/сек	G (число молекул O_2 на 100 эв)	
	10% водные растворы	сухие образцы
50	2,79	14,90
100	2,25	11,65
200	1,88	9,30
400	1,61	7,65

50 р/сек, когда время облучения составляет 166 мин. Кроме того, благодаря высокой плотности радиационно-индуцированных радикалов при облучении в условиях наших опытов, диффузия не идет на полную глубину образца (8), поэтому часть образца облучается фактически в бескислородных условиях после израсходования первоначально растворенного кислорода. Поскольку плотность радикалов тем выше, чем выше интенсивность излучения, то и глубина проникновения O_2 в образец во время облучения уменьшается с ростом мощности дозы. Эти факторы определяют более высокую эффективность менее интенсивного излучения для процесса связывания кислорода белком. Действительно, наиболее высокие выходы радиационно-индуцированного связывания кислорода (рассчитанные как число связанных молекул O_2 на 100 эв поглощенной энергии при дозе 1000 кр) наблюдаются при использовании менее интенсивного излучения и, следовательно, наиболее продолжительного времени облучения (табл. 2).

Следует отметить, что эффект мощности дозы, который в данном случае обусловлен участием O_2 в радиационно-химических реакциях, будет наблюдаться только тогда, когда выбранный диапазон мощностей и общая доза облучения будут достаточны для того, чтобы был связан весь первоначально растворенный кислород и достигнуто состояние гипоксии в облучаемом объекте. Если применять облучение с мощностями дозы, измеряемыми десятками и сотыми частями рентгена в 1 мин., то количество связываемого кислорода будет незначительно, состояние гипоксии в образце не будет достигаться, и эффект мощности дозы или будет отсутствовать, или, в случае биологических объектов, он будет определяться другими причинами, например наличием репарационных процессов.

Таким образом, при снижении мощности дозы облучения увеличивается количество кислорода, участвующего в радиационно-химических реакциях.

Следует ожидать, что на характер проявления описанного в работе эффекта мощности дозы оказывают влияние условия снабжения кислородом облучаемых объектов. Известно (10), что в водном растворе и сухом

препарате сывороточного альбумина различны коэффициенты диффузии O_2 к белковым молекулам: в растворе порядка 10^{-5} см²·сек⁻¹, твердых телах порядка 10^{-9} см²·сек⁻¹. Из этого следует, что растворы белка лучше окисигенированы, чем сухие препараты. При облучении этих образцов оказалось, что с уменьшением мощности дозы от 400 до 50 р/сек радиационно-индуцированное связывание кислорода возрастает в обоих случаях, но в разной степени; для менее окисигенированных сухих образцов — в 1,94 раза, а для лучше снабжаемого кислородом раствора — в 1,74 раза (табл. 1). Следствием этого является постепенное уменьшение разницы в количестве связываемого O_2 между сухим белком и раствором с уменьшением мощности излучения (рис. 1): если при мощности дозы 400 р/сек в сухом образце на каждую молекулу белка присоединяется в 2,09 раза меньше атомов кислорода, чем в растворе, то при мощности дозы 50 р/сек — в 1,87 раза меньше. Это означает, что с уменьшением мощности дозы, а следовательно с увеличением продолжительности облучения, доля радиационного поражения, связанная с участием кислорода, возрастает в большей степени для менее окисигенированного объекта.

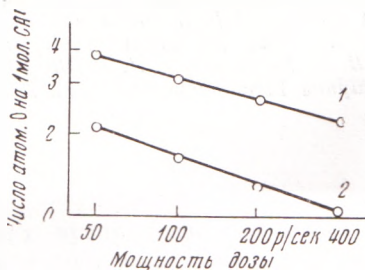


Рис. 1. Связывание кислорода сывороточным альбумином человека при облучении 10% водных растворов (1) и сухих препаратов (2) в зависимости от мощности дозы, в логарифмической системе координат

В связи с изложенными данными интересно рассмотреть те работы, в которых исследовано влияние условий снабжения кислородом биологических объектов на величину их радиационного поражения в зависимости от мощности дозы излучения (¹¹, ¹²). Так, например, при действии радиации на асцитную форму карциномы Эрлиха мышей найдено, что при снижении мощности дозы отчетливо уменьшается защитное действие пониженного содержания O_2 в облучаемой ткани (¹¹). В качестве одной из возможных причин этого явления предполагается участие кислорода в первичных радиационно-химических реакциях, поэтому уменьшение количества O_2 в облучаемой ткани влечет уменьшение биологического действия излучения, причем тем больше, чем больше мощность дозы (¹²). Полученные нами данные указывают на то, что с уменьшением мощности дозы уменьшается разница в количестве связываемого во время облучения кислорода между более окисигенированными и менее окисигенированными образцами белка. Тем самым подтверждается возможность объяснения радиобиологического эффекта мощности дозы с позиций кислородного эффекта.

Таким образом, впервые количественно показано, что при γ -облучении белка количество участвующего в радиационно-химических реакциях кислорода зависит от мощности дозы. Более эффективным для связывания кислорода белком оказывается менее интенсивное облучение, что объясняется достижением в образце в процессе облучения состояния гипоксии, после чего количество продифундировавшего в образец и связанного кислорода будет определяться общим временем облучения и плотностью радиационно-индуцированных радикалов. Наблюдаемый эффект мощности дозы имеет место лишь в определенном диапазоне мощностей дозы.

Авторы приносят глубокую благодарность В. П. Бочину за помощь в проведении части экспериментов.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ *D. L. Dewey*, *Radiation Res.*, v. 38, 3, 467 (1969). ² *S. Hornsey, D. K. Bewley*, *Intern. J. Rad. Res.*, v. 19, 5, 479 (1971). ³ *D. L. Dewey, J. W. Boag*, *Nature*, v. 183, 1450 (1959). ⁴ *L. Cercek, B. Cercek*, *Intern. J. Rad. Res.*, v. 19, 4, 361 (1971). ⁵ *S. Hornsey*, *Intern. J. Rad. Res.*, v. 18, 6, 539 (1970). ⁶ *E. R. Epp, H. Weiss, A. Santomaso*, *Radiation Res.*, v. 34, 2, 320 (1968). ⁷ *T. Alper, J. L. Moore, P. Smith*, *Radiation Res.*, v. 32, 4, 780 (1967). ⁸ *Т. Е. Павловская, Л. И. Харченко*, ДАН, т. 200, 2, 481 (1971). ⁹ *Р. И. Школьникова*, Уч. зап. Ленингр. унив., сер. хим., № 18, 64 (1959). ¹⁰ *J. W. Boag*, In: *Current Topics in Radiation Research*, v. 5, Amsterdam, 1969, p. 141. ¹¹ *И. Б. Бычкова, И. В. Шиффер*, *Радиобиология*, т. 10, 1, 135 (1970). ¹² *О. П. Смирнов*, *Радиобиология*, т. 7, 2, 289 (1967).