

УДК 577.4:616—001.28/29

В. И. Федорченко, В. А. Кузьменко, П. Н. Кулябко,
Е. Е. Чеботарев

КОНЦЕНТРАЦИЯ СТАБИЛЬНЫХ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС, ОБЛУЧЕННЫХ РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ И БЫСТРЫМИ НЕЙТРОНАМИ ПОСЛЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ К ГИПО- И ГИПЕРОКСИИ

Вопросу о влиянии измененного парциального давления кислорода на радиочувствительность животного организма посвящены многочисленные исследования советских и зарубежных авторов. В основном изучали изменения радиочувствительности организмов в зависимости от содержания кислорода в окружающей среде непосредственно в момент облучения. Главный вывод этих исследований состоит в том, что гипоксия в значительной степени снижает эффект облучения, а оксигенация объектов облучения оказывает на них радиосенсибилизирующее действие [7]. Применение же оксигенации или гипоксии до или после облучения, по данным большинства авторов, не влияет на конечный биологический эффект поражающего действия радиации.

Между тем в литературе приводится ряд фактов, свидетельствующих о зависимости радиобиологического эффекта от парциального давления кислорода в среде, в которой находился организм до или после облучения. Так, адаптация к недостатку кислорода приводит к повышению устойчивости к действию ионизирующей радиации [2]. Имеются также данные о благоприятном влиянии кислорода на характер пострadiaционного восстановления биологических структур [1, 3].

Причины обнаруженных явлений, по-видимому, связаны с тем, что ионизирующая радиация оказывает угнетающее действие на энергетический обмен в тканях организма вследствие поражения тканевого дыхания [4]. Поэтому адаптация животных к недостатку кислорода в окружающей среде перед облучением, приводящая к повышению устойчивости организма к повторным воздействиям гипоксии, обуславливает также и повышение их радиоустойчивости [2], а пострadiaционное применение повышенной оксигенации в некоторой мере устраняет возникающую гипоксию.

Исходя из этого нам представлялось интересным исследовать пострadiaционную свободнорадикальную активность тканей, как одного из интегральных показателей интенсивности окислительно-восстановительных процессов в организме животных (белые крысы), предварительно адаптированных к гипо- и гипероксии, при облучении их рентгеновскими лучами и быстрыми нейтронами. Кроме того, важно было проследить за изменением содержания свободных радикалов в тканях облученных животных с последующим воздействием на них острой гипо- и гипероксии.

Методика исследований

В исследованиях были использованы 290 белых крыс весом 130—150 г. Всего проведено три серии опытов. В первой серии животных в условиях барокамеры адаптировали к гипоксии в ступенчатом режиме до «высоты» 6000 м по 8 ч в день на протяже-

нии трех недель. После адаптации животные были распределены на три группы: первая группа — животные, которые подвергались впоследствии воздействию рентгеновского облучения; вторая группа — животные, которые подвергались воздействию быстрых нейтронов и третья — животные, не подвергавшиеся воздействию излучений.

Во второй серии опытов животных также в условиях барокамеры подвергали ежедневно воздействию повышенного давления кислорода на протяжении трех недель. Продолжительность одного сеанса оксигенации составляла 3 ч. Давление кислорода в барокамере было в первую неделю 2 атм, во вторую — 3 атм и в третью — 4 атм. Затем аналогично первой серии опытов животных облучали рентгеновскими лучами и быстрыми нейтронами. Контролем для первой и второй серии опытов служили как интактные животные, так и животные, облученные рентгеновскими лучами и быстрыми нейтронами, но не прошедшие предварительной адаптации к гипо- и гипероксии.

В третьей серии опытов животных сначала облучали рентгеновскими лучами и спустя 24 ч разные группы животных подвергали воздействию острой гипоксии («высота» — 12 000 м, время выхода на «высоту» — 1 ч, длительность экспозиции на «высоте» — 5 мин и повышенного давления кислорода (давление 3 атм, время экспозиции — 3 ч). Рентгеновское облучение осуществляли на аппарате типа РУМ-11. Доза облучения составляла 750 Р, что соответствовало минимальной абсолютно летальной дозе. Облучение быстрыми нейтронами проводили в горизонтальном канале реактора ВВРМ. В процессе облучения животных тепловая мощность реактора была равна 10 МэВ, мощность потока нейтронов — 1,5–2 МэВ, мощность дозы в 1 мин составляла 7 рад, примесь фона не превышала 10%, суммарная доза равнялась 300 рад, что соответствовало минимальной абсолютно летальной дозе.

Животных первой и второй серий опытов декапитировали через 3, 24 и 48 ч после облучения, а животных третьей серии — сразу после воздействия острой гипо- и гипероксии. Для исключения возможности суточных сдвигов в содержании свободных радикалов, декапитацию контрольных и опытных животных проводили в одно и то же время суток. Время забора материала для группы животных, декапитированных в один день, не превышало 30 мин.

Для исследований брали ткани мозга, сердца, легких, печени, почки, селезенки, мышц и кровь. Свободнорадикальные состояния лиофильно высушенных тканей исследовали методом ЭПР на радиоспектрометре РЭ-1301 при комнатной температуре. О величине свободнорадикальной активности судили по интенсивности сигнала ЭПР.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследований пострадиационных изменений свободнорадикальной активности тканей животных первой и второй серий опытов представлены на рис. 1, из которого видно, что облучение интактных животных в летальных дозах рентгеновскими лучами и быстрыми нейтронами, независимо от вида излучений, уже в первые часы после облучения вызывает снижение концентрации свободных радикалов в исследуемых тканях. В последующие сроки измерений (24 и 48 ч) содержание свободных радикалов продолжает оставаться сниженным. На третьи — седьмые сутки после облучения [5, 6] содержание свободных радикалов в тканях животных, облученных рентгеновскими лучами, постепенно приближается к уровню контрольной группы. Для животных, облученных быстрыми нейтронами, характерно более резкое изменение интенсивности свободнорадикальных процессов. При этом виде излучений концентрация свободных радикалов в некоторых тканях в отдельные сроки после облучения бывает даже значительно выше, чем у контрольных животных.

Различные ткани организма обладают разной чувствительностью (по тесту изменения свободнорадикальной активности) к действию рентгеновских лучей и быстрых нейтронов. Так, при действии рентгеновских лучей к более чувствительным к облучению тканям следует отнести ткани селезенки, печени, легкого и кровь, а ткани головного мозга, мышцы, сердца и почек реагируют на облучение рентгеновскими лучами значительно меньшим изменением содержания стабильных свободных радикалов. При облучении животных быстрыми нейтронами к более чувствительным тканям можно отнести, кроме вышеупомянутых, также ткани мышц и сердца. Лишь две из исследуемых тканей — ткань головного

мозга и почки оказались относительно к действию быстрых нейтронов

Адаптация животных к постоянному давлению кислорода во

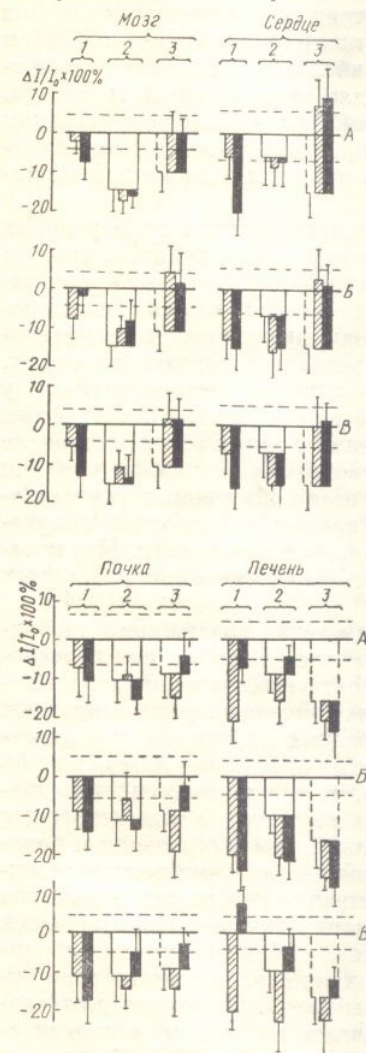


Рис. 1. Относительное изменение концентрации свободных радикалов в тканях животных, адаптированных к гипо- и гипероксии к: А — через 3 ч, Б — через 24 ч, В — через 48 ч.

жению амплитуды сигнала ЭПР является лишь легочная ткань, которая в результате длительной гипоксической оксигенации несколько повышается у животных. При этих видениях, в различных тканях ор

мозга и почки оказались относительно резистентными (по этому тексту) к действию быстрых нейтронов.

Адаптация животных к пониженному или к повышенному парциальному давлению кислорода во вдыхаемом воздухе приводит также к сни-

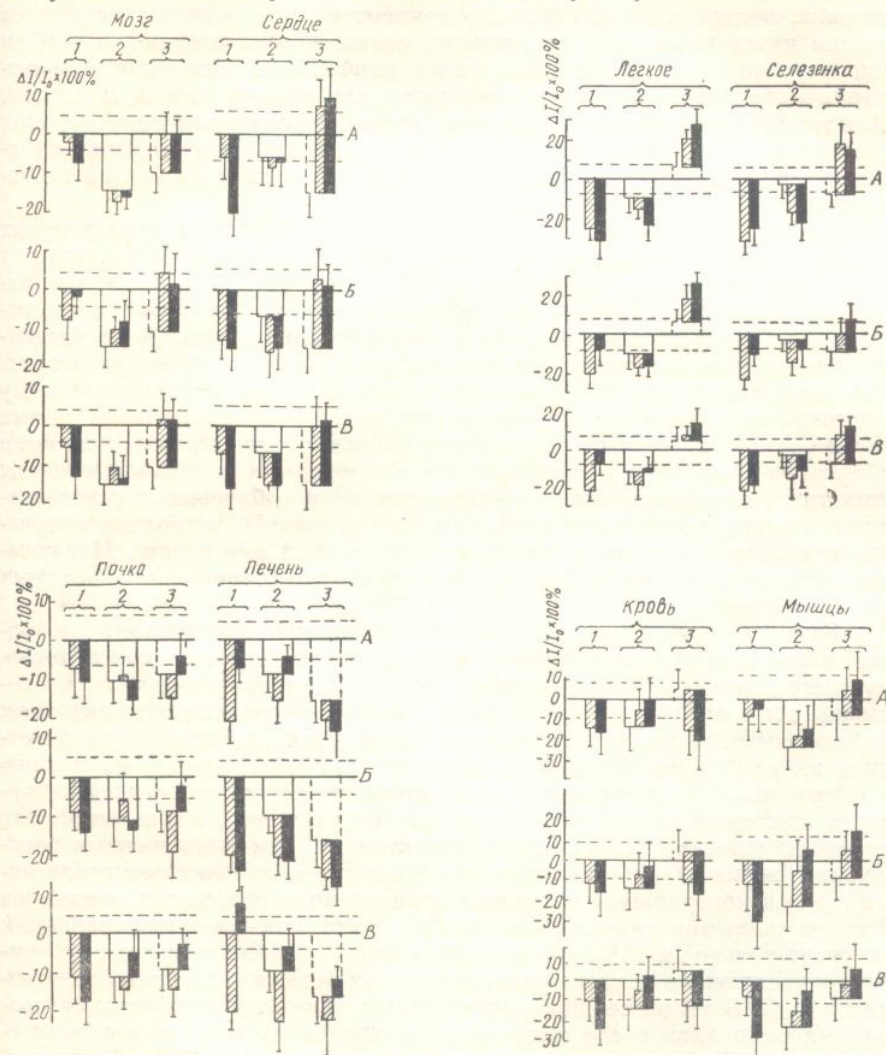


Рис. 1. Относительное изменение концентрации свободных радикалов в тканях адаптированных к гипо- и гипероксии крыс при воздействии ионизирующих излучений: А — через 3 ч, Б — через 24 ч, В — через 48 ч после облучения. 1 — intactные животные, 2 — адаптированные к гипоксии, 3 — адаптированные к гипероксии. Заштрихованные столбики — рентген, черные — нейтроны.

жению амплитуды сигнала ЭПР во всех исследуемых тканях. Исключением является лишь легочная ткань, содержание свободных радикалов в которой в результате длительного прерывистого воздействия гипербарической оксигенации несколько увеличивается по сравнению с контрольными животными. При этих видах воздействий, как и при действии излучений, в различных тканях организма в разной степени изменяется со-

быстрыми нейтронами. У адаптированных к гипоксии животных облучение сопровождается значительно меньшими сдвигами в содержании свободных радикалов в тканях, чем при облучении контрольных крыс и крыс, адаптированных к гипероксии (рис. 1).

Кроме влияния предварительной адаптации к измененному парциальному давлению кислорода во вдыхаемом воздухе на характер свободнорадикальных процессов в тканях облученных животных, интересно было исследовать также влияние на содержание свободных радикалов последующего воздействия гипо- и гипероксии. В литературе имеют-

Рис. 2. Относительное изменение концентрации свободных радикалов в тканях облученных крыс под воздействием гипоксии.

Черные столбики — гипоксия, белые — рентген, бело-черные — рентген-гипоксия.



ся отдельные сведения о влиянии предварительного облучения на устойчивость к действию повышенного давления кислорода [9]. В наших опытах облученных рентгеновскими лучами животных спустя сутки после облучения подвергали воздействию острой гипо- и гипероксии. Результаты измерения концентрации свободных радикалов в тканях после декапитации животных представлены на рис. 2 и 3.

Как видно из рисунков, действие острой гипо- и гипероксии на контрольных животных приводит к некоторому увеличению концентрации свободных радикалов в их тканях, за исключением тканей головного мозга и легкого, в которых она несколько снижена в гипероксических условиях. В случае воздействия гипо- и гипероксии с теми же параметрами на предварительно облученных животных характер изменения содержания свободных радикалов в их тканях существенно отличается от наблюдаемого у необлученных животных. Так, при воздействии гипоксии на облученных животных хотя и обнаруживаются изменения в содержании свободных радикалов в большинстве исследуемых тканей, однако эти изменения не являются статистически достоверными. Исключение составляет лишь ткань головного мозга: у облученных животных снижение концентрации свободных радикалов в этой ткани более значительно, чем снижение, вызванное гипоксией такой же степени у контрольных животных. Воздействие гипероксии на облученных животных приводит к некоторому уменьшению содержания свободных радикалов во всех тканях, в то время как в тканях необлученных животных гипероксия вызывает увеличение количества свободных радикалов. Для тканей мозга, сердца, печени, селезенки и мышц амплитуда изменения концентрации свободных радикалов в тканях облученных животных под воздействием острой гипероксии значительно меньше, чем при облучении контрольных животных, а в ткани легкого, почки и крови она одного и того же порядка как для облученных, так и для необлученных животных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что свободнорадикальное окисление в тканях животных, регистрируемое методом ЭПР, в сильной степени подвержено влиянию воздействия на организм измененного парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе и ионизирующих излучений. Наблюдаемое снижение концентрации свободных радикалов в тканях облученных животных связано, по-види-

тому, с угнетением ионизирующей радиацией обмена веществ и, в первую очередь, с частичным поражением процесса тканевого дыхания в результате повреждения металлосодежащих ферментных систем [4], принимающих непосредственное участие в образовании и гибели свободнорадикальных состояний.

Снижение же концентрации свободных радикалов в тканях животных, адаптированных к противоположным по содержанию кислорода воздействиям — гипо- и гипероксии, объясняется, по-видимому, несколькими разными механизмами нарушения интенсивности свободно-радикаль-

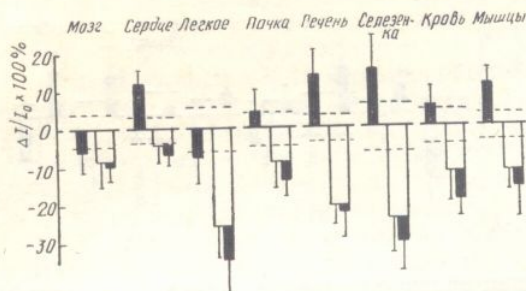


Рис. 3. Относительное изменение концентрации свободных радикалов в тканях облученных крыс при воздействии гипероксии.

Черные столбики — гипероксия, белые — рентген, бело-черные — рентген-гипероксия.

ных процессов. Так, если при адаптации к гипоксии снижение концентрации свободных радикалов связано, вероятно, с гипоксидозом вследствие недостатка кислорода и соответствующим приспособлением окислительных процессов, то в условиях гипероксии это снижение объясняется, по-видимому, частичной инактивацией неустойчивых к избыточному парциальному давлению кислорода ферментов, таких как флавопротеины и цитохром b_2 [8]. О различных механизмах снижения уровня свободнорадикальных состояний при адаптации к гипо- и гипероксии свидетельствует также и различное влияние ионизирующих излучений на содержание свободных радикалов в тканях животных, предварительно адаптированных к этим воздействиям.

При одноразовом воздействии на животный организм повышенного давления кислорода или гипоксии наблюдается увеличение содержания свободных радикалов в тканях подопытных животных. При острой гипоксии, по нашему мнению, это увеличение связано с повышением активности окислительных ферментов, являющимся результатом компенсаторных реакций организма на гипоксию [2], а при острой гипероксии увеличение свободнорадикальной активности тканей, по-видимому, объясняется возрастанием свободных радикалов, образованных под воздействием кислорода как в дыхательной цепи митохондрий, так и в других структурах клетки, в частности в липидных образованиях [9].

Предварительное облучение животных перед воздействием острой гипо- или гипероксии не приводит к статистически достоверным изменениям концентрации свободных радикалов под воздействием этих факторов (как при гипоксии), или даже несколько уменьшает ее (при гипероксическом воздействии). Этот факт можно расценить как нарушение механизмов, приводящих к увеличению свободнорадикальной активности при облучении животных, в случае воздействия острой гипо- и гипероксии.

Величины изменения свободнорадикальной активности в ходе развития лучевого поражения сравнимы как для тканей радиочувствительных органов, таких как селезенка и кровь, так и для тканей органов, считающихся радиорезистентными, например легкое и печень. Не просле-

живается четкой зависимости от степени изменения в них тканевого парциального давления кислорода в значительной степени результатов и свидетельствует о снижении свободнорадикальной активности ЭПР.

1. Баран Л. А. Кислород и витамин. 1973, 152 с.
2. Барбашова З. И. Акклиматизация. Л., 1960, 216 с.
3. Корогодин В. И. Восстановление ионизирующими излучениями: некоторые сравнения. с. 728—743.
4. Манойлов С. Е. Первичные механизмы. Л., 1968, 237 с.
5. Чеботарев Е. Е., Кулябко П. Н., гия, 1975, 15, № 1, с. 143—145.
6. Чеботарев Е. Е., Кулябко П. Н., гия, 1973, 13, № 2, с. 197—201.
7. Щепотьева Б. С., Ардашиков С. фект при действии ионизирующих излучений.
8. Chance B. Oxygen in the animal or
9. Gershman R., Gilbert L., Nye S. V. Poisoning in Mice.— Pros. Soc. E

Институт проблем онкологии АН УССР
Киев

V. I. Fedorchenko, I. E.

CONCENTRATION OF STABLE FREE RADICALS IN TISSUES IRRADIATED AFTER PRELIMINARY ACTION OF HYPO- AND HYPEROXIA

The postradiation free-radical activity in tissues of animals adapted to hypo- and hyperoxia was studied during irradiation. It was shown that under the effect of X-ray irradiation the concentration of free radicals in tissues of the animals adapted to hyperoxia was lower than with the same irradiation of the animals adapted to hypoxia. After the preliminary action of hyperoxia the concentration of free radicals in tissues of the animals adapted to hypoxia was lower than with the same irradiation of the animals adapted to hypoxia.

Institute of Oncology Problems
Academy of Sciences, Ukrainian SSR

живается четкой зависимости свободнорадикальной активности органов от степени изменения в них тканевого дыхания в условиях измененного парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе. Это обстоятельство в значительной степени затрудняет трактовку полученных результатов и свидетельствует о чрезвычайной сложности механизма изменения свободнорадикальной активности тканей, регистрируемых методом ЭПР.

Литература

1. Баран Л. А. Кислород и витамины в онкологической практике. Киев, «Здоров'я», 1973, 152 с.
2. Барбашова З. И. Акклиматизация к гипоксии и ее физиологические механизмы. М.—Л., 1960, 216 с.
3. Корогодин В. И. Восстановление клеток от повреждений, вызванных ионизирующими излучениями: некоторые сравнительные аспекты.—Радиобиология, 1967, 7, № 5, с. 728—743.
4. Манойлов С. Е. Первичные механизмы биологического действия проникающей радиации. Л., 1968, 237 с.
5. Чеботарев Е. Е., Кулябко П. Н., Кузьменко В. А., Федорченко В. И.—Радиобиология, 1975, 15, № 1, с. 143—145.
6. Чеботарев Е. Е., Кулябко П. Н., Кузьменко В. А., Федорченко В. И.—Радиобиология, 1973, 13, № 2, с. 197—201.
7. Щепотьева Б. С., Ардашников С. Н., Лурье Г. Е., Рахманова Т. Б. Кислородный эффект при действии ионизирующих излучений. М., Медгиз, 1959, 186 с.
8. Chance B. Oxygen in the animal organism. Pergamon Press, 1965, p. 494.
9. Gershman R., Gilbert L., Nye S. W., Fenn W. O. Influence of x-irradiation on Oxygen Poisoning in Mice.—Pros. Soc. Exp. Biol. and med., 1954, 86, N 1, p. 27—33.

Институт проблем онкологии АН УССР,
Киев

Поступила в редакцию
30.VII 1976 г.

V. I. Fedorchenko, V. A. Kuz'menko, P. N. Kuljabko,
E. E. Chebotarev

CONCENTRATION OF STABLE FREE RADICALS IN ALBINO RATS TISSUES IRRADIATED WITH X-RAYS AND FAST NEUTRONS AFTER PRELIMINARY ADAPTATION TO HYPO- AND HYPEROXIA

Summary

The postradiation free-radical activity in tissues of animals preliminarily adapted to hypo- and hyperoxia was studied during irradiation with X-rays and fast neutrons. It was shown that under the effect of ionizing radiation changes in the content of free radicals in tissues of the animals adapted to hypoxia are considerably less pronounced than with the same irradiation of the intact animals. In most animals subjected to the preliminary action of hyperoxia the concentration of free radicals in tissues increases after irradiation.

Institute of Oncology Problems,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev