

Огляди

УДК 612.273.1-524:616-001

В.А.Барабой, П.В.Белошицкий, А.Н.Красюк, В.И.Коркач

Кислородзависимые процессы в облученном организме

Розглянута роль кисню в біологічній дії радіації. Кисневий ефект пов'язаний із парамагнітними властивостями молекули кисню та утворенням активних радикалів з киснем. Велике значення має безпосередній вплив кисню на опромінення в репаративних та відновних процесах, а також киснева післядія. Максимальна сенсibiliзуюча дія кисню в середовищі при концентрації 2,5 %. Навпаки, зниження концентрації кисню до 10—5 % при диханні перед опроміненням або під час нього призводить до тканинної гіпоксії, що істотно знижує радіочутливість тканин. Значну роль у радіаційному пошкодженні відіграє перекисне окислення ліпідів. У значній мірі радіація впливає також на кисневий метаболізм. Освітлені теоретичні аспекти мають також важливе практичне значення, особливо радіомодифікуюча та радіозахистна дія кисню. Довгострокова адаптація за умов гірського клімату активує репаративні та відновні процеси, призводить до збільшення кількості мітохондрій, активності дихання та фосфорилування, анаеробного синтезу АТФ, впливає на збільшення концентрації міо- та гемоглобіну, а також резерву антиоксидантної системи. Все це підвищує загальну неспецифічну резистентність до дії радіації та інших несприятливих факторів.

Проблема взаимосвязи кислорода с биологическим эффектом радиации многопланова. Во-первых, кардинальным механизмом лучевого поражения является радиосенсибилизирующий эффект кислорода (кислородный эффект) — усиление в присутствии последнего повреждающего действия радиации на органические соединения, биологические структуры и функции. Во-вторых, радиация оказывает существенное влияние на окислительный метаболизм — потребление кислорода, его транспорт в организме, тканевое дыхание, окислительное фосфорилирование, на оксигеназное и оксидазное окисление. В-третьих, кислород — активный участник процесса пострadiационного восстановления клеток. И, наконец, важная роль кислорода в механизме действия противолучевых средств.

Вклад кислорода в лучевое поражение

Более 70 лет назад впервые было показано усиление эффекта радиации в присутствии кислорода: разрушительное действие рентгеновских лучей на яйца аскариды существенно возрастало в атмосфере кислорода [76]. Однако лишь со временем стало выясняться подлинное значение кислородного эффекта (КЭ), его универсальность.

Парамагнетизм молекул кислорода, его высокое сродство к электрону делают его сильным окислителем [65]. В первоначальных представлениях о механизме лучевого поражения главное внимание уделялось процессу радиолиза воды с образованием ионов, возбужденных электронных состояний, свободных радикалов. Выступая в роли инициаторов цепных физико-хими-

ческих и биохимических реакций, они обуславливают развитие биологических эффектов, вплоть до лучевой гибели клеток и организмов [64]. Первичные продукты радиолиза воды имеют как окислительную, так и восстановительную природу, легко рекомбинируют и имеют очень краткое время жизни, исчисляющееся миллионными долями секунды. Радиационный выход G (число химической измененных молекул облучаемого вещества на 100 эВ поглощенной энергии) первичных продуктов радиолиза составляет: $G_{OH} = 2,7$; $G_{e гидр.} = 2,7$ $G_{H} = 0,55$; $G_{H2O2} = 0,71$ [37]. Присутствие растворенного в воде кислорода кардинально изменяет ситуацию. После взаимодействия с ним сохраняются исключительно окислительные продукты: $O_2^{\bullet}$ (супероксидный ион — радикал), HO_2 (гидропероксид), H_2O_2 (перекись водорода), 1O_2 (синглетный кислород) более долгоживущие и, следовательно, имеющие больший радиус действия и больше времени для окислительной атаки важнейших биологических структур — нуклеиновых кислот и белков [23]. Гидратированный электрон ($e_{гидр.}$) и радикал водорода H превращаются в окислительные радикалы: $H+O_2 \rightarrow HO_2^{\bullet}$; $e_{гидр.} + O_2 \rightarrow O_2^{\bullet-}$. Через посредство воды, водных окислительных радикалов и перекисей реализуется не прямое поражающее действие радиации, и в этом механизме весьма значительная роль принадлежит кислороду [23, 64]. На протяжении 1940—50-х гг. этот механизм лучевого поражения рассматривался как решающий. Вода, освобожденная от растворенных в ней газов (кислорода), не подвергается радиолизу, а в присутствии кислорода разлагается с образованием H_2O_2 [71, 79]. В водных растворах органических соединений лучевая инактивация растворенного вещества в широком диапазоне концентраций не зависит от концентрации раствора (эффект разведения) [37] вследствие непрямого механизма лучевой инактивации. При облучении водных растворов аминокислот, белков, ферментов, пуриновых и пиримидиновых оснований, РНК и ДНК эффект инактивации (окисление SH-групп, изменение спектров поглощения, потеря трансформирующей активности и т.п.) существенно усиливался в присутствии растворенного кислорода. Радиочувствительность бактерий, дрожжей, водорослей, простейших в водных суспензиях, замоченных семян растений существенно снижается по мере уменьшения концентрации O_2 . Кислородный эффект наблюдался и при облучении яиц дрозофилы, культур клеток млекопитающих, мышей и других животных [38, 76]. Коэффициент кислородного усиления (ККУ), рассчитанный при сравнении тяжести лучевого поражения в условиях отсутствия кислорода (аноксии) и в его присутствии, оказался примерно одинаковым, близким к 3, для различных живых систем, хотя в отдельных работах были получены и иные значения ККУ — до 12 и более, с одной стороны, 2,5 и менее — с другой [64]. С развитием радиобиологии накапливались факты, свидетельствовавшие об ограниченности концепции непрямого действия радиации (с участием кислорода). Выявившееся в ряде экспериментальных исследований бесспорное влияние кислорода на эффект облучения сухих ферментов, нуклеиновых кислот, сухих семян, спор и т. п. показало, что КЭ распространяется и на прямое действие радиации и, следовательно, реализуется иными способами, чем в водных растворах. Иногда кислород может усилить эффект радиации даже в условиях добавки к биологическому объекту после облучения т. е. тогда, когда первичные продукты облучения, в силу их недолговечности, уже исчезли [65—67]. Наконец, с помощью одновременного пострadiационного применения кислорода удастся смягчить проявления лучевого поражения, т. е. добиться противолучевого эффекта (обратный КЭ) [65—67]. По-видимому, в этом случае кислород «обезвреживает» радикалы, образовавшиеся из молекул-примесей и способные повреждать основную мишень — ДНК [65]. Все эти данные существенно расширили представления о КЭ, показали множественность механизмов его реализации.

В 1940—50-е гг. лучевое поражение клетки представлялось большинству исследователей как мгновенное и необратимое событие. Соответственно считалось, что модификация лучевого поражения возможна лишь в том

случае, если модифицирующий фактор присутствует в клетке в момент облучения. Открытие систем пострadiационного восстановления — фотореактивации (1949 г.), а затем эксцизионной репарации (1966 г.) — показало, что лучевое поражение следует рассматривать не как мгновенный акт поражения мишени, а как некий процесс, первые этапы которого репарируемы. Сформировалось представление о сублетальных и потенциально летальных радиационных поражениях клетки, с большим или меньшим успехом устранимых системой внутриклеточной репарации. По мере развития этих представлений становилось ясно, что и кислород участвует в процессе реализации и репарации радиационных повреждений. Эйдус [65] показал, что добавка кислорода по окончании облучения усиливает радиационную инактивацию миозина, дает практически мгновенный эффект. Явление получило название кислородного последствия и было воспроизведено на сухих белках, ферментах и препаратах ДНК. Таким образом, существует класс радиационных повреждений клетки, реализующихся лишь в присутствии кислорода, а без него сохраняющихся в скрытом состоянии. Это и есть потенциально летальные повреждения, реализуемые, в частности, при кислородном последствии [42, 65].

Таким образом, главный эффект, связанный с присутствием кислорода в облучаемой биологической среде — это фиксация потенциально летальных лучевых поражений клетки, превращение их в необратимые повреждения [65—67]. Эксперименты, выполненные на культуре клеток китайского хомячка, позволили установить, что 65 % лучевых повреждений обусловлены кислородом и еще 17 % — эндогенными окислителями [68, 69]. В итоге фиксация кислородзависимых потенциальных повреждений ответственна примерно за 82 % всех летальных поражений. Более новые и строгие расчеты, учитывающие всевозможные механизмы участия O_2 в радиобиологическом эффекте, дают близкие значения КЭ: от 80 до 90 % летальных повреждений, возникающих в клетках под воздействием радиации, связаны с участием кислорода [65]. Важнейшим субстратом реализации КЭ в клетке являются, очевидно, ДНК (хроматин) ядра, поражение которых осуществляется в результате как прямого, так и косвенного воздействия радиации. Радиогенные потенциальные повреждения молекул ДНК могут либо фиксироваться (разрывы нитей ДНК) — и этот процесс усиливается в присутствии кислорода, — либо восстанавливаться за счет взаимодействия молекул ДНК с восстановителями, прежде всего эндогенными тиоловыми соединениями, главную роль среди которых играет глутатион [13, 26, 66, 67].

Сенсибилизирующее действие O_2 проявляется при его концентрации 0,1 % в равновесной с клетками газовой среде. При 2,5 % кислорода в среде его эффект близок к максимальному. Этот максимальный эффект соответствует значению ККУ, равному 3 [72, 73]. Уменьшение концентрации кислорода в облучаемом объеме тканей снижает их радиочувствительность, уменьшает тяжесть повреждения. Тканевая гипоксия может быть достигнута при снижении концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе до 10—17—5 % непосредственно перед облучением и во время его (гипоксическая гипоксия) [53]; ограничении транспорта кислорода кровью, с развитием ишемии тканей (путем охлаждения последних, сдавливанием сосудов или наложением жгута — турникетная гипоксия) [66, 67]; угнетении тканевого окислительного обмена, вызванного обратимой блокадой ферментных систем клеточного дыхания [2, 10, 64]. И, наоборот, увеличением снабжения тканей кислородом можно достичь усиления лучевого их поражения, в особенности в условиях, когда ткань исходно находилась в состоянии гипоксии. Радиосенсибилизирующий эффект может быть достигнут увеличением концентрации O_2 во вдыхаемом воздухе, применением кислорода под давлением (гипербарическая оксигенация) [11, 18, 38]; усилением кровоснабжения ткани (путем гипертермии, увеличения артериального давления) и стимуляцией окислительного метаболизма тканей. Оба подхода находят широкое практическое применение, в частности, в условиях лучевой

терапии опухолей и в защите от лучевого поражения. Одним из важнейших факторов устойчивости злокачественного новообразования к терапевтическому воздействию является гетерогенность структуры опухоли, в частности, присутствие в ней фракции особо устойчивых клеток, переносящих лучевую терапию и способных, путем усиленного размножения, вызвать рецидив опухолевой болезни. Такой высокой устойчивостью обладают, в частности, клетки в состоянии глубокой гипоксии. Вследствие быстрого роста клеточной массы опухоли и недостаточность ее кровоснабжения в центре опухолевого узла, создаются условия нехватки кислорода и питательных веществ. Клетки опухоли в этих условиях переходят на преимущественно гликолитический путь метаболизма, выходят из пролиферативного пула, что делает их особо устойчивыми. В этих условиях повышение эффективности лучевой терапии опухоли может быть достигнуто двумя противоположными путями. Повышением концентрации и давления кислорода во вдыхаемом воздухе, а также локальной гипертермией удастся повысить парциальное давление кислорода (pO_2) в опухоли до уровня оксигенации здоровых тканей, тем самым ликвидировать преимущество опухоли в устойчивости к лучевой терапии, и достичь более высокого лечебного эффекта при целостности здоровых тканей. С другой стороны, с помощью гипоксической или циркуляторной гипоксии можно существенно снизить оксигенацию здоровых тканей организма — опухоносителя и, следовательно, повысить их устойчивость к радиационному воздействию. В этих условиях можно без особого риска повысить фракционную и суммарную дозу лучевой терапии на опухоль (насыщение клеток кислородом которой при этом существенно не изменилось) и достичь более значительного эффекта при сохранении тканей организма. При локализации опухоли на конечности удобно прибегнуть к помощи турникетной (жгутовой) гипоксии [67]. Эти методы успешно применяются в онкологии с целью увеличения избирательности действия радиации на опухоль, однако полностью не обеспечивают достижения этой цели.

Роль перекисного окисления липидов в лучевом поражении

Кардинальным отличием биологического действия ионизирующей радиации является чрезвычайно высокий повреждающий эффект первоначально ничтожного энергетического воздействия — так называемый радиобиологический парадокс. Этот феномен можно понять и осмыслить лишь с учетом возможности многократного усиления первоначально возникших первичных лучевых повреждений. Включение кислорода в течение реакций лучевого последствия способно усилить лучевое поражение — за счет появления более долгоживущих активных форм кислорода (АФК) и разворачивания в водных средах организма цепных реакций радикалов с молекулами, в ходе которых количество активных продуктов может возрастать. Однако принципиально важный шаг вперед в расшифровке механизма лучевого поражения был сделан тогда, когда выяснилось, что разветвленные свободнорадикальные реакции особенно эффективно развиваются в липидных средах организма. В двойном фосфолипидном слое биомембран есть постоянный контакт растворенного молекулярного кислорода с наиболее легкоокисляемыми липидными структурами. Появляющиеся при лучевом воздействии радикалы выступают в этих условиях в качестве катализаторов оксигеназного аутоокисления, в ходе которого количество активных продуктов быстро и многократно возрастает. Многочисленные исследования, обобщенные Савичем [46], показали, что из всех классов органических соединений лишь фосфолипиды отличаются высоким радиационно-химическим выходом от 5 до 300 моль/100 эВ и выше, тогда как для ДНК и других соединений выход не превышает 5 моль/100 эВ. Эта уникальная особенность фосфолипидов делает их и построенные из них биомембраны, оптимальным субстратом для разворачивания реакций радиационного усиления, превращает мембраны в «критическую» структуру [24, 25]. Индуцирован-

ный радиацией процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран оказывает влияние на важнейшие физиологические процессы жизнедеятельности клетки: пассивную проницаемость и активный транспорт ионов и метаболитов через мембраны, заряд и поляризацию последних, а через них — на течение метаболических процессов, устойчивость и размножение, в конечном счете на жизнь и смерть клеток, а, значит, и организма. Окислительной радикальной атаке обычно подвергаются двойные связи между атомами углерода в молекуле ненасыщенной жирной кислоты. В зависимости от присоединения по месту двойной связи одного или двух атомов кислорода образуется перекись или эпоксид.

Первыми промежуточными продуктами ПОЛ являются гидроперекиси и диеновые конъюгаты; затем образуются альдегиды и кетоны, из которых наиболее известен малоновый диальдегид, легко определяемый лабораторно в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Наконец, при длительной активации ПОЛ, вовлечении в процесс белков биомембран образуются шиффовые основания, основная составная часть липофусцина — пигмента старения [5, 76, 78]. Кинетика ПОЛ определяется не только дозой (мощностью дозы) облучения, но и мощностью защитных антиоксидантных (АО) систем, способных эффективно ограничивать ПОЛ, удерживать этот процесс на стационарно низком уровне, совместимом с нормальной жизнедеятельностью.

В живой системе любой степени сложности предсуществует некий стационарный уровень процесса ПОЛ. Он сохраняет потенцию к лавинообразному самоускорению, но ограничивается АО системами клетки (организма), также располагающими определенными резервами. Ионизирующая радиация, воздействующая на живую систему в значительной дозе и с высокой мощностью, индуцирует в облученном объеме тканей массу АФК и, соответственно, вспышку ПОЛ. Эта вспышка служит сигналом для мобилизации АО-резервов системы и быстро переходит в фазу подавления ПОЛ. По нашим данным [4—6], уже через 10—13 мин, по окончании облучения лабораторных животных (6—8 Гр) первоначальная вспышка ПОЛ сменяется снижением интенсивности этого процесса на 30—50 % ниже исходного (до облучения) уровня. При увеличении длительности лучевого воздействия первичная вспышка ПОЛ может смениться угнетением еще до окончания облучения и, таким образом, не будет зарегистрирована. В этом случае фаза угнетения ПОЛ лишь вторично подтверждает факт первичной активации ПОЛ, представляет собой АО-ответ на нее. При относительно небольших дозах острого облучения этими двумя фазами реакции дело и ограничивается. При летальных дозах облучения мобилизация АО-резервов оказывается недостаточной, чтобы полностью блокировать развитие реакций ПОЛ, рано или поздно развивается вторичная вспышка этого процесса — тем раньше, чем выше доза облучения и меньше АО-резервы [4—6]. Но если первичная вспышка ПОЛ носит, особенно при невысоких дозах радиации, преимущественно сигнальный характер, то вторая волна активации этого процесса является показателем тяжести поражения, относительной слабости АО-резервов, а активные продукты ПОЛ выступают в качестве факторов деструкции митохондриальных, лизосомальных и иных мембран, обуславливают гибель радиочувствительных клеток.

Окислительный метаболизм при воздействии радиации

Дыхание как совокупность процессов включает обмен кислорода между внешней средой и альвеолами легких, между альвеолярным воздухом и кровью, транспорт O_2 кровью, обмен между кровью и тканью, тканевое дыхание. Основную роль в окислительном обмене в клетках играет система электронного транспорта, расположенная во внутренней мембране митохондрий и осуществляющая процесс окисления, клеточного дыхания, сопряженный с фосфорилированием, продукцией макроэргических соединений. Окислительное фосфорилирование (ОФ) играет решающую роль в энергетическом обеспечении

всех жизненных процессов (биосинтезов, транспорта ионов и метаболитов, деятельности сократительных белков, поддержании температуры тела и т.п.). Другая система транспорта электронов, реализующая жизненно важный процесс окислительной деструкции ксенобиотиков, а также многих эндогенных метаболитов, расположена в эндоплазматическом ретикулуме (микросомах). Структурные и ультраструктурные изменения митохондрий происходят в первые минуты после воздействия радиации [2, 10, 28, 29]. Разобщение ОФ развивается уже при малых дозах облучения (0,2—0,5 Гр), но может носить непродолжительный характер. Следует учитывать, однако, что изменение тех или иных биохимических показателей, в частности, ОФ, может быть просто следствием присутствия в пробе определенной части мертвых или гибнущих клеток [39]. Все же ранний характер и глубина лучевых нарушений структуры митохондрий (набухание, просветление матрикса, более или менее выраженная деструкция крист, внутренних мембран), как и эксперименты на изолированных митохондриях, позволяют говорить о первичном характере лучевых повреждений структуры и функции этих органелл, о критически важном для судьбы клетки нарушении ОФ и биоэнергетики [29, 39, 78]. Одним из механизмов лучевой деструкции митохондрий является активация ПОЛ.

Таким образом, в лучевом нарушении клеточного и тканевого дыхания решающее значение принадлежит угнетению фосфорилирования, его разобщению дыханием, ведущему к снижению продукции АТФ и энергетическому параличу клетки. Активация АТФаз, видимо, не играет в этом значительной роли. В этих условиях доставленный в ткани кислород включается в метаболические процессы менее энергично, и его концентрация в тканях может при определенных дозах радиации и в определенные сроки лучевого поражения даже возрасти [13, 15]. Это нежелательно, ибо способствует усугублению лучевого поражения. Под влиянием лучевого поражения нарушается конформация и функция всех гемопротеидов, всех цитохромов, что сказывается в форме угнетения (несколько позже, чем ОФ) также свободного дыхания и развития в конечном счете вторичной тканевой гипоксии.

Оксибиотические пострадикационные изменения на уровне систем внешнего дыхания, крови, гемодинамики

Дыхательная система организма не относится к числу наиболее радиочувствительных. Но широко разветвленные сосуды, а также лимфоидные образования легких, эпителий бронхиол и бронхов более чувствительны к радиации, тогда как плевро и хрящи воздухоносных путей более резистентны. При острых и хронических лучевых поражениях нарушение барьерных свойств эпителия и сосудистой стенки, появление кровоизлияний, очагов отека облегчает развитие инфекционных (аутоинфекционных) заболеваний дыхательных путей (бронхиты, пневмонии). При более высоких дозах развиваются лучевой пневмонит и фиброз, эмфиземы легких, ухудшается диффузия газов через альвеоларно-капиллярный барьер с развитием одышки, цианоза, уменьшается дыхательная возможность грудной клетки и т.п. [11, 47]. Воздействие ионизирующей радиации в дозах, близких к летальным, сопровождается угнетением потребления O_2 , максимально выраженным в первые сутки после облучения; затем потребление кислорода в течение нескольких суток повышается и далее волнообразно колеблется; подобным образом изменяется и pO_2 мозга [17, 20]. Вероятно, что это снижение газообмена носит компенсаторнозащитный характер, а также связано со снижением возбудимости дыхательного центра. При тяжелых формах лучевой болезни, в период ее разгара может наблюдаться повышенное потребление O_2 как следствие неэкономного его расходования при разобщении окисления и фосфорилирования в тканях [47, 62]. В предагональный период газообмен вновь глубоко угнетается. Применение оксигенотерапии в комплексе с другими лечебными средствами в пострадикационный период

(например, после лучевой терапии опухолей) оказывает положительное влияние на процесс восстановления, нормализует тканевое дыхание и способствует более ранней реабилитации больных [1, 49]. Наряду со снижением потребления O_2 облученным организмом, вклад в развитие тканевой пострадиационной гипоксии вносят также нарушения транспорта кислорода из-за фазовых изменений содержания в периферической крови эритроцитов и гемоглобина [12], перехода части гемоглобина крови в метгемоглобин [15], образующийся в результате активации свободнорадикального окисления [29]. В свою очередь, увеличение метгемоглобина влияет на сродство гемоглобина к кислороду.

В условиях тотального облучения крыс быстрыми нейтронами в дозах 1; 2,15 и 3 Гр обнаружено волнообразное увеличение сродства гемоглобина к кислороду и, следовательно, замедление его транспорта в ткани, главным образом на 1-й неделе лучевого поражения. У животных, в дальнейшем погибших, кривая связывания в системе HGO_2 носила более крутой характер [8, 15]. В более поздние сроки 2,15 и 3 Гр прочность связывания падала ниже исходного значения. При рентгеновском, гамма-облучении и затравке радионуклидами также обнаруживаются сдвиги кривых диссоциации оксигемоглобина (смещение вниз и вправо) [8]. Нарушение гемодинамики — еще один фактор, обуславливающий лучевое нарушение транспорта кислорода в ткани. Сосуды относятся к числу радиочувствительных структур организма. Конкретные формы вызванных радиацией нарушений гемодинамики разнообразны и зависят от фазы, мощности дозы и вида радиации, от физиологического состояния организма в момент облучения. Наиболее общие эффекты — это нарушение гибкости регуляции системной и органной гемодинамики, повышение проницаемости сосудисто-тканевых барьеров. Локальные изменения тонуса сосудов сопровождаются замедлением гемодинамики вплоть до стазов, отеков, кровоизлияний. Наиболее радиочувствителен в сосудах наружный слой сосудистой стенки — адвентиция. Облитерация части капилляров и замедление их регенерации способствуют нарушению микроциркуляции и формированию тканевой гипоксии. Таким образом, в условиях тотального лучевого воздействия изменения, развивающиеся на разных физиологических этапах кислородного метаболизма, способствуют, с одной стороны, формированию тканевой гипоксии, с другой стороны, активации свободнорадикальных реакций ПОЛ. Оба этих процесса влияют на формирование реакций радиационного последствия и разнообразные клинические проявления лучевого поражения.

Кислород и радиомодификация

Важнейшая роль кислорода в патогенезе лучевого поражения, существование КЭ естественным образом побудили исследователей к поискам практического использования связи радиочувствительности с кислородным статусом. Стало ясно, что достигаемое любым из возможных путей снижение оксигенированности живых систем может существенно увеличивать их радиорезистентность. Это один из наиболее эффективных и надежных путей защиты организма (клетки, органа) от поражающего действия облучения. С другой стороны, искусственное повышение оксигенированности живой системы, в особенности пребывавшей до того в состоянии гипоксии, увеличивает поражающее действие радиации. Потребность в таком радиосенсибилизирующем эффекте кислорода возникает, например, в условиях лучевой стерилизации материалов и особенно часто — при лучевой терапии злокачественных новообразований.

Радиосенсибилизирующий эффект кислорода.

Идея повышения с помощью кислорода радиочувствительности опухолевых клеток, устойчивых к лучевой терапии вследствие нахождения в состоянии гипоксии, принадлежит Грей, который в начале 1950-х гг. предложил по-

вышать насыщение опухолевых клеток кислородом во время сеанса лучевой терапии, помещая больного в барокамеру с чистым O_2 под давлением $(2,03-3,04) \cdot 10^5$ Па. Грей исходил из убеждения, что увеличением парциального давления кислорода в венозной крови в момент облучения должно повышать эффективность лучевой терапии, избирательно усиливая повреждение именно радиорезистентных гипоксических клеток опухоли, по сравнению с хорошо оксигенированными здоровыми тканями [72, 73]. Подъем pO_2 выше 50 мм рт. ст. уже не оказывает влияния на радиочувствительность. В тканях парциальное давление O_2 в норме составляет 3—40 мм рт. ст. В пределах до 50 мм. рт. ст. повышение насыщения клеток кислородом увеличивает интенсивность свободнорадикального окисления и усиливает повреждающий эффект облучения [16, 43]. В условиях лучевой терапии опухолей особое значение имеет оксигенация кожи с подкожной клетчаткой, неизбежно попадающих в поле облучения. Их pO_2 соответствует 40 мм рт. ст. [10], т. е. близки к радиобиологическому максимуму. Искусственное усиление оксигенации практически не сказывается на радиочувствительности кожи. В гипоксических же зонах опухоли pO_2 составляет 2—5 мм рт. ст. Если с помощью гипербарической оксигенации повысить pO_2 артериальной крови со 100 мм рт. ст. до 650 (при дыхании чистым кислородом под давлением $2,03 \cdot 10^5$ Па) или даже до 2000 мм рт. ст. ($3,04 \cdot 10^5$ Па) [67], то создается очень высокий градиент концентраций O_2 , обеспечивающий его проникновение в самые «глухие» гипоксические зоны опухоли. Соответственно возрастает и радиочувствительность опухолевой ткани, она приближается к таковой нормальных тканей. К сожалению, при этом возрастает чувствительность к действию облучения также некоторых нормальных тканей, например, хрящевой. Оксигенорадиотерапия, предложенная Греем, нашла лишь ограниченное применение в онкологии из-за технических сложностей совмещения во времени и пространстве эффектов облучения и барокамерной гипероксигенации. При воздействии плотноионизирующих излучений различия в оксигенированности тканей имеют существенно меньшее значение, поэтому в лучевой терапии опухолей широко используются быстрые нейтроны (ускорители, нейтронные генераторы), нейтроны источников с калифорнием-252, протоны, Π -мезоны, тяжелые ионы (ускорители заряженных частиц). Наконец, еще один способ преодоления радиорезистентности гипоксических зон опухоли связан с использованием электрон-акцепторных соединений (ЭАС).

Радиосенсибилизирующий эффект кислорода обусловлен, в частности тем, что он легко акцептирует электроны, выбитые из атомов (молекул) вещества при облучении, делая невозможным самопроизвольное восстановление структуры ДНК и других биологически важных макромолекул. Если заменить кислород другим веществом, столь же активно акцептирующим электроны, но не участвующим в клеточном метаболизме, то у этого вещества больше шансов достичь гипоксических клеток опухоли и увеличить их радиочувствительность. К числу ЭАС, широко применявшихся в онкологии, относятся нитрофурановые соединения (метронидазол, мизонидазол, тинидазол и др.), некоторые производные ацетофенона, хиноны и т. п. [40, 67]. К сожалению, ЭАС, как выяснилось в итоге их широкого применения в онкологии, обладают рядом существенных недостатков, в том числе высокой токсичностью, недостаточной избирательностью действия (усиливают лучевое поражение тканей опухолевого ложа и других нормальных тканей), мутагенностью и т. п. [40]. Наконец, в механизме действия гипертермии как компонента противоопухолевой терапии, серьезное значение имеет выравнивание радиочувствительности гипоксических и хорошо оксигенированных областей в нормальных тканях и в опухоли [67].

Таким образом, радиосенсибилизирующий эффект кислорода широко используется в различных областях медицины, прежде всего в онкологии, для преодоления радиорезистентности гипоксических зон, тканей, клеток.

Радиозащитный эффект гипоксии (аноксии).

Противолучевая защита — один из важнейших и актуальнейших разделов радиобиологии [26, 66]. Естественно, что прежде всего с целью радиационной защиты используются основанные на КЭ разнообразные способы снижения концентрации кислорода в тканях, нуждающихся в защите. Радиочувствительность сухих ферментов, белков, нуклеиновых кислот, а также семян, спор и других объектов в условиях аноксии возрастает примерно втрое. В исследованиях живых систем более высокого уровня организации, вплоть до человека, совместима с жизнью лишь кратковременная, в момент облучения, гипоксическая гипоксия, но и с ее помощью удается получить выраженный эффект защиты от радиации. Максимум защиты достигается в условиях воздействия облучения на фоне минимального pO_2 в радиочувствительных органах. По-видимому, в эффекте защиты играет роль не только снижение концентрации кислорода, но и переход живой системы в состояние пониженной жизнедеятельности, а также мобилизация эндогенных механизмов защиты, т. е. процессы, в которых гипоксия выступает в качестве первичного толчка [61]. Гипоксическая гипоксия находит применение и в клинике при лучевой терапии опухолей: во время облучения больные дышат газовыми гипоксическими смесями, содержащими 7—10 % O_2 , и лучевые реакции, а также осложнения развиваются позже и менее выражены [19, 53]. Если основное значение имеет уровень pO_2 в тканях, то снижения этого показателя можно достигнуть различными путями. Фармакологическое угнетение дыхательного центра (например, с помощью морфия и других наркотиков) снижает потребление кислорода, его уровень в тканях и, следовательно, повышает радиорезистентность организма [44, 45]. Тканевая гипоксия достигается также путем ограничения транспорта кислорода кровью: с помощью сосудосуживающих (серотонин, адреналин, норадреналин, тирамин, триптамин) или сосудорасширяющих (гистамин) средств [54, 61], веществ, блокирующих транспорт кислорода гемоглобином — окиси углерода, парааминопропиофенона нитрита натрия и других метгемоглобинообразователей [44, 45, 52]. Регионарную гипоксию тканей можно достичь наложением жгута (турникетная гипоксия) [67]. Наконец, тканевая гипоксия может быть результатом обратимой блокады самих тканевых оксидаз и дегидрогеназ, ферментов электронтранспортных путей. Такой эффект удастся получить с помощью сильнодействующих ядов — цианидов, азидов, нитрилов [3, 60], роданидов [3, 60], амигдалина [41] и других веществ, примененных в субтоксических дозах. Вряд ли эти вещества (за исключением разве амигдалина) могли бы найти практическое применение с радиозащитной целью. Однако в научно-теоретическом плане эти данные важны, ибо подтверждают роль тканевой гипоксии как центрального звена радиозащитного действия самых разнообразных соединений, с различными механизмами биологического действия. Все радиопротекторы из класса индолилалкиламинов, а также биогенные амины, морфин, героин, CO, $NaNO_2$, унитиол, димеркантопропионовая кислота и другие отчетливо снижают pO_2 в селезенке и иных тканях в период максимума защитного эффекта [66, 67]. Повышенное давление кислорода снимает защитный эффект этих соединений, что подтверждает решающую роль тканевой гипоксии в механизме их защитного действия.

Особый интерес представляет адаптация к высокогорной гипоксии. Эта разновидность достижения радиорезистентного состояния заслуживает особого внимания по нескольким причинам. Во-первых, в условиях высоко(средне)горья состояние гипоксии достигается наиболее физиологическим путем, без каких-либо искусственных приспособлений или воздействий. Это состояние широко распространенное, эволюционно давнее и потому вызывающее в организме запрограммированную ответную реакцию [33, 51]. Во-вторых, высокогорная гипоксия представляет собой фактор длительно действующий, что с точки зрения формирования ответной реакции орга-

низма очень важно и отличает ее от разного рода кратковременных гипоксических воздействий. В острый период высокогорной гипоксии (1—2 сут пребывания в горах) сопровождается крутой перестройкой функционирования основных систем жизнедеятельности и проявляется в кратковременном снижении общей резистентности и радиорезистентности [7, 35]. Это первая фаза реакции организма на условия высокогорья соответствует стадии тревоги общего синдрома адаптации по Селье [68]. По мере формирования более долговременной адаптации к условиям высокогорья возрастает как общая устойчивость организма к разнообразным вредным влияниям, так и радиорезистентность [3, 5]. Состояние максимальной резистентности, полной адаптации к условиям высокогорья достигается на 30—60-е сутки пребывания в горах [3, 9, 51].

В механизме адаптации к высотной гипоксии выделяются четыре уровня приспособительных реакций [34].

1. Механизмы, обеспечивающие достаточное поступление кислорода в организм, несмотря на его дефицит в высокогорной среде. Это гипервентиляция, гиперфункция сердца, полицитемия и соответствующее увеличение кислородной емкости крови.

2. Механизмы, обеспечивающие, несмотря на гипоксию, достаточное снабжение кислородом жизненно важных органов. Это расширение артерий и капилляров мозга, сердца и других органов; образование новых капилляров и изменение свойств клеточных мембран; увеличение концентрации миоглобина в клетках.

3. Увеличение способности клеток и тканей утилизировать кислород из крови и синтезировать АТФ, несмотря на нехватку кислорода. Это достигается за счет увеличения сродства к O_2 электротранспортной цепи митохондрий, ее конечного фермента цитохромоксидазы, путем увеличения количества митохондрий в клетке, либо увеличения степени сопряжения окисления и фосфорилирования.

4. Увеличение анаэробного ресинтеза АТФ за счет активации гликолиза с последующей активацией биосинтеза нуклеиновых кислот и белков.

Таким образом, адаптация к условиям высокогорья — многоуровневый процесс, развивающийся в клетках, тканях, органах и организме в целом. Ее можно рассматривать как формирование стадии резистентности общего синдрома адаптации — стресса, как сложную приспособительную реакцию, обеспечивающую повышение общей долговременной неспецифической устойчивости организма к разнообразным экстремальным агентам среды путем формирования системного структурного следа адаптации [33—35]. Данные литературы свидетельствуют о повышении устойчивости адаптированных к высоте животных к эмоционально-болевым стрессу, острой гипоксии, аллергическим и иммунодефицитным заболеваниям и состояниям, причем хороших результатов удается достичь и с помощью прерывистой барокамерной гипоксии [21, 57]. Адаптированные к высотной гипоксии животные оказываются более устойчивыми к воздействию облучения [3, 14, 36]. Такие формирующиеся в процессе высокогорной адаптации долговременные изменения, как увеличение количества митохондрий в клетке, степени сопряжения дыхания с фосфорилированием, анаэробного ресинтеза АТФ, увеличение концентрации мио- и гемоглобина, полицитемия, несомненно, способствуют увеличению радиорезистентности организма. Существенное значение имеет также активация антиоксидантных ферментов и других АО-систем организма [5, 39, 64], обеспечивающая снижение активности митохондриальной АТФазы [39] и ряд других биохимических сдвигов. Таким образом, воздействие на кислородозависимую часть радиационного поражения в зависимости от направленности способно дать как радиосенсибилизирующий, так и радиозащитный эффект. Кислород — важнейший из числа известных модификаторов лучевого поражения и воздействия на окислительный метаболизм извне способен еще более усилить его модифицирующий эффект.

V.A.Baraboy, P.V.Beloshitsky, A.N.Krasyuk, V.I.Korkach

OXYGEN-DEPENDENT PROCESSES IN THE X-RAYED ORGANISM

Interaction of oxygen with the X-rayed tissues, chemical substances and elements is one of the main mechanism of radioactive damage.

Radiosensibilization by oxygen (oxygen effect) is most highly exhibited under the action of high and moderate radiation doses. However there is only scanty investigations and information about oxygen-dependent processes under low doses of internal and external radiation due to their intricate character. Radiation exerts also a great influence on oxygen metabolism and oxygen consumption level.

Oxygen takes active part in post-radiation recovery both at the level of molecules, organela, cells, tissues, organs and the organism on the whole.

The partial pressure of oxygen and its content have a great influence on the action of radioprotectors, anti-radiation therapy and healing methods.

Long-term influence of hypoxia at high altitude evokes adaptation changes, stimulates recovery processes in an X-rayed organism, increases resistance to radiation and other noxious factors.

Ukrainian Research Institute of Oncology and Radiology,
Ministry of Public Health of Ukraine, Kiev A.A.Bogomoletz Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баран Л.А. Кислород и витамины в онкологической практике. — К.: Наук. думка, 1973. — 152 с.
2. Бак З.М. Химическая защита от ионизирующей радиации. — М.: Мир, 1968. — 263 с.
3. Барабашова З.И. Некоторые итоги изучения природы резистентности организма и механизмов ее изменения // Космич. биология и медицина. — 1969. — № 4. — С. 6—12.
4. Барабой В.А., Дзятковская Н.Н., Клименко Т.В. и др. Динамика показателей перекисного окисления липидов в крови и радиочувствительных органах крыс при тотальном и локальном рентгеновском облучении // Радиобиология. — 1990. — 30, № 6. — С. 735—739.
5. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. — К.: Наук. думка, 1991. — 256 с.
6. Барабой В.А., Орел В.Э., Федоренко Е.А. Динамика интенсивности спонтанной хемилюминесценции сыворотки крови крыс при тотальном лучевом воздействии в нелетальных и летальных дозах // Радиобиология. — 1982. — 22, № 16. — С. 811—814.
7. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Энергетический обмен при стрессовых воздействиях (на примере ионизирующей радиации), его саморегуляция и коррекция // Укр. биохим. журн. — 1983. — 55, № 1. — С. 93—105.
8. Безин Г.И. Кривые связывания кислорода и углекислоты кровью у собак, пораженных 210 Po // Мед. радиология. — 1961. — 6, № 4. — С. 69—72.
9. Белошицкий П.В., Сиротинин Н.Н. Повышенная резистентность организма как следствие изменений, вызванных адаптацией к гипоксии: 2-й междунар. конгресс по патол. физиологии. — Прага, 1975. — 373 с.
10. Ван Беккум Д. Окислительное фосфорилирование в некоторых радиочувствительных тканях после облучения // Ионизир. излучения и клеточ. метаболизм. — М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1968. — С. 109—112.
11. Горизонтов П.Д. Патологическая физиология лучевых поражений // Радиационная медицина. — М.: Атомиздат, 1968. — С. 133—219.
12. Груздев Г.П. Проблема поражения кроветворения при острой лучевой патологии. — М.: Медицина, 1968. — 140 с.
13. Граевский Э.Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. — М.: Атомиздат, 1969. — 145 с.
14. Григорьев А.Ю. Индивидуальная радиочувствительность. — М.: Энергоатомиздат, 1991. — 81 с.
15. Дружина Н.А. Транспорт и утилизация кислорода организмом при облучении быстрыми нейтронами // Нейтроны и организм. — К.: Наук. думка, 1982. — С. 126—158.
16. Журавлев А.И. Развитие идеи Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. — М.: Наука, 1982. — С. 3—36.
17. Иванов И.И. Биоэнергетика в тканях и клетках при остром лучевом поражении // Пробл. биоэнергетики в облуч. организме. — М.: Атомиздат, 1977. — С. 196—201.
18. Иванов И.И., Балабуха В.С., Романцев Е.Ф., Федорова Т.А. Обмен веществ при лучевой болезни. — М.: Медгиз, 1956. — 251 с.
19. Кирьяков И.Ю., Жакова Л.А., Свищев В.В., Ильин В.И. Опыт использования гипоксической гипоксии при лучевой терапии рака легкого // Радиобиол. основы лучевой терапии. — Л.: ЦНИИРР, 1980. — Ч. 1. — С. 36—37.