

УДК 577.391; 539.12.04; 599.1.047

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИОЗАЩИТНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ И ДЕЙСТВИЯ КОСМИЧЕСКОГО АДРОННОГО И ГАММА ИЗЛУЧЕНИЙ ПРИ ИХ МОДЕЛИРОВАНИИ

Кожокару А.Ф., Юров С.С.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская область, Россия

Было показано, что космические излучения адронов высоких энергий по сравнению с γ -облучением оказывают более сильное летальное, мутагенное и интоксигирующее действие на различные виды животных, растений и бактерий в модельных лабораторных условиях. Полученные данные позволяют выявить возможности появления и эволюции жизни на Земле, экспансии ее на другие планеты. Показано влияние половых гормонов на радиорезистентность животных. Приводятся результаты по действию химических и физических средств радиозащиты на различных уровнях организации живого организма, которые могут быть использованы в космических полетах, на протонных ускорителях и атомных электростанциях.

Ключевые слова: адроны высоких энергий, протонный ускоритель, γ -облучение, мутации, выживаемость животных, радиотоксины, радиопротекторы

Были исследованы различные механизмы выживания и сохранения биологической активности при взаимодействии адронного облучения в пучке Серпуховского протонного ускорителя У-70 (коллайдера с энергией до 76 ГэВ) Государственного Научного Центра Института физики высоких энергий (ГНЦ ИФВЭ, г. Протвино) и биологических объектов (мишеней). Широкий спектр биологических объектов – от простых и модифицированных водных сред, микроорганизмов, субклеточных частиц и клеток до млекопитающих и семян растений – позволил нам моделировать основные механизмы саморегуляции, репарационных процессов, происходящих на субклеточном, клеточном и организменном уровне, и, в конечном счете, экстраполировать полученные данные на человека. Основу вторичного потока, генерирующегося на внутренней мишени ускорителя протонами, составляют ядерные частицы (нуклоны, мезоны, нейтроны, протоны, антипротоны) и их производные мезоатомы и мезомолекулы различного вида и заряда, способные к сильным взаимодействиям – адроны высоких энергий (АВЭ).

АВЭ могут вызывать распад ядра любого атома. Особенностью их воздействий является крайне высокая неравномерность поглощенной энергии в зонах, охваченных и не охваченных пучками вторичных частиц. Сходный характер энергетических спектров адронов в поле вторичного излучения ускорителя и космического излучения позволяет моделировать биологические воздействия жесткого космического излучения на ускорителе. Физическую природу локального ионизирующего эффекта ядер и АВЭ в космическом пространстве нам удалось моделировать благодаря разработке приборов: полимерных детекторов порогового действия для регистрации тяжелых ядер первичного космического излучения и рентгеновских эмульсионных камер с фотоэмульсионными стопками для изучения воздействия АВЭ сверхвысокой энергии ($> 10^{12}$ эВ) в стратосфере и на ускорителе. γ -облучение проводили в Институте биофизики клетки (ИБК) РАН на установках ГУБЭ изотопом ^{60}Co и ГУПОС – изотопом ^{137}Cs . Отмечена высокая степень множественных генераций вторичных частиц (ионизации) в

тканях и клетках при действии АВЭ – выше, чем при γ -облучении. Биологические эффекты АВЭ и повреждения адронами микроструктур (мембран, субклеточных частиц), тканей и целых организмов носили значительный и множественный характер, но встречались с низкой частотой, и, в отличие от γ -облучения, в большинстве случаев не зависели от дозы, интенсивности и времени его воздействия. γ -излучение не оказывало макролокальных изменений.

Впервые нами было обнаружено специфическое действие АВЭ на биообъекты, выражающееся во множественном **возникновении мутаций** делеционного типа (от небольших до протяжённых) и во множественном повреждении хромосомных структур в одной клетке [1]. Изучение динамики выхода точечных и делеционных мутаций у белых беспородных мышей, растений *Kolonchoe peristoe* и семян томатов *Licopersicon esculentum* Mill, в клетках *E.coli* и бактериофага T_4Br^+ при действии АВЭ в дозе от 1 Гр до 40 Гр позволило определить дозы максимального и минимального мутагенного действия АВЭ на биологические объекты. γ -излучение не вызывало макромутаций в клетках T_4Br^+ и млекопитающих, спектр мутаций был иным. Ядерные (адронные) взаимодействия вызывают в биологических объектах более глубокие и менее способные к репарации генетические и морфологические повреждения, чем электромагнитный тип взаимодействия (γ -ионизация) [1, 2]. На основании цитогенетических тестов (множественные абберрантные клетки, крупные и протяженные делеции), летального действия АВЭ были рассчитаны более низкие величины (2-5) относительной биологической эффективности (ОБЭ) для метаболизирующих объектов (бактерий, растений) по сравнению с ОБЭ для неметаболизирующих бактериофагов T_4Br^+ (4-8), не способных к репарации *in vitro*. Эффект γ -излучения выше на метаболизирующие и пролиферирующие клетки и ткани.

В облученной АВЭ и γ -радиацией клетке *in vivo* и *in vitro* обнаружены биологически активные вещества – водорастворимые **радиотоксины (РТ)**, являющиеся продуктами радиационно нарушенного мета-

болизма клетки. Нами показан летальный и мутагенный эффект РТ при заражении γ -облученных бактерий *E. coli* В интактным бактериофагом T_4Br^+ . Наибольший выход γ -мутантов наблюдался при облучении бактерий на плотной агаровой среде дозой 4 крад (20 мутантов на $4 \cdot 10^4$ фагочастиц). Облученные бактерии находились в течение 2 ч при 37°C и затем заражались бактериофагом с последующим 2-часовым выдерживанием при $+4^\circ\text{C}$ для успешного мутагенеза в γ -облученной клетке бактерий интактной фаговой ДНК. Анализ (методом «спот-теста») 120 гП – мутантов, полученных под действием РТ, показал, что первичные молекулярные изменения оснований в ДНК фага представлены несколькими типами: транзицией – 80-85%; трансверзией – 10-15%; делецией, инверсией, транслокацией – 5-10%. Данные изменения могут, по-видимому, вызываться перекисями, хинонами, необычными аналогами оснований, длительно живущими радикалами, являющимися РТ. Исходя из приведенных данных, можно сделать вывод о том, что интоксцируя организм, радиотоксины, состоящие из группы мутагенных метаболитов, обладают генетически полифункциональным действием. Изучение вклада РТ в общее лучевое поражение показало, что данная величина достигает $LD_{50/30}$ для бактерий и фагов. При изучении летального и мутагенного действия ионизирующего излучения необходимо учитывать как прямой эффект радиации, так и опосредованный – через РТ [18]. Опосредованный эффект обладает большим биологическим действием и молекулярной специфичностью в отношении наследственной структуры.

Было изучено влияние АВЭ и γ -облучения на биологические объекты **по выживаемости** в течение 30 суток наблюдения после их облучения [1, 9]. Определены ЛД50, ФИД (фактор изменения дозы) и ОБЭ, зависимости выживаемости млекопитающих (белые беспородные мыши), бактерий *E.coli* В и *E.coli* К-12, бактериофага T_4Br^+ , растений (*Kolonchoe peristoe*) и прорастания семян томатов (*Licopersicon esculentum* Mill) от дозы АВЭ и γ -облучения. Величины ЛД50 были меньше для АВЭ: для мы-

шей и крыс они составляли 0,47 и 0,55 Гр (для γ -облучения 0,6 и 0,65 Гр). Растения (конские бобы) оказались значительно более устойчивы к облучению: для АВЭ ЛД₅₀ 22 Гр, при γ -облучении 40 Гр. 100% гибель бактерий наблюдалась при еще более высоких дозах: при облучении АВЭ – 800 Гр, при γ -облучении – 1400 Гр. Следовательно, космические излучения АВЭ по сравнению с γ -облучением оказывают более сильное летальное действие на биологические объекты. Обнаружен локальный радиационный фактор по выживаемости бактериофага в ампулах, случаи 100%-ной гибели 1010 фагочастиц при воздействии излучения ускорителя в дозе 75 Гр до сих пор не получили физического и биофизического объяснения.

При радиоллизе биологических структур под воздействием АВЭ и γ -излучения возможно возникновение веществ с ярко выраженными кислотными свойствами, приводящими к увеличению **концентрации H^+ -ионов [H^+] в среде**. Исследовалось влияние [H^+] на γ -повреждение бактериофага $T_4B_{g^+}$ и бактериальных клеток *E. coli* B. Суспензии фага (титр $2,5 \cdot 10^7$) и бактериальных клеток (титр 10^9) в растворе 0,1 М NaCl облучали γ -лучами ^{60}Co в дозе от 0,5 до 10 кР в интервале рН 7,0–2,0. Различную кислотность среды создавали с помощью HCl, а также фосфатного (рН 7,0–5,0) и ацетатного (рН 6,0–4,0) буферов. Во всей области кислотной устойчивости рН 7,0 – 3,0 (при рН < 3,0 происходило резкое падение титра фага) обнаруживается экспоненциальная зависимость **выживаемости** фага от дозы γ -излучения. С увеличением [H^+] LD₃₇ существенно уменьшается. Так, LD₃₇ при изменении рН от 6,0 до 3,0 понижается на 90%. Рассматриваются возможные механизмы явления протонной сенситивизации (ЯПС) γ -радиационного поражения бактериофага и бактериальных клеток. При анализе механизмов и эффективности действия РТ на биологические системы необходимо учитывать ЯПС [17]. При малых дозах γ -облучения животных и растений зависимость выживаемости и других метаболических ответов «доза-эффект» носит, как правило, нелинейный колебательный характер. При летальных дозах немонокотность

сглаживается за счет разрушения механизмов поддержания гомеостаза [14].

При γ -облучении животных помимо органоспецифических были установлены **половые различия в радиочувствительности**. Оказалось, что эстрогены (для обоих полов) существенно снижают резистентность (повышают радиочувствительность), а прогестерон – значительно повышает устойчивость к радиации (снижает радиочувствительность). Естественные половые различия радиочувствительности (реактивности) достигают значительной величины. Ведущую роль в их формировании играют, по-видимому, изменения в системе регуляции, поскольку внутривидовые изменения генома и рецепторов (нервных и гормональных) в норме возможны, как известно, лишь в ограниченных пределах. Кроме того, гормоны, модифицирующие радиочувствительность организма, действуют не только на специфические, но и на все другие ткани. Их влияние проявляется сначала на молекулярном уровне, а затем распространяется на все уровни организации организма. Известно, что местом приложения гормонов наряду с ядерным аппаратом информации являются мембраны и аппараты синтеза белка – рибосомы. По нашим и литературным данным, эстрогены и прогестерон изменяют функции мембран *in vivo* и *in vitro* (опыты с искусственными бислойными липидными мембранами). Под действием этих гормонов меняется активность сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, H^+ -АТФазы и других ферментов, а также их изоэнзимный состав [3]. Была определена связь между гормонами пола, активностью пролиферации и продолжительностью клеточных циклов. Один из вероятных механизмов действия гормонов, как регуляторов реактивности, это: гормон → мембраны → геном → рибосомы (уровень ошибок рибосомального кодирования) → ферменты → метаболический и энергетический обмен.

Показан стимулирующий эффект **малых доз γ -облучения** на метаболизм многих живых организмов. Высказано предположение, что ведущее значение в эффекте стимуляции имеет ионизация молекул, радиацион-

ное возбуждение в конденсированном биополимере, в результате чего электроны делокализуются, взаимодействуют с осцилляционной кинетической энергией биополимера, образуя длительно живущие вихревые сгустки энергии – поляритоны [24]. Поляритоны, медленно распадаясь, дают очень слабоинтенсивные вторичные когерентные излучения [25]. По нашим и литературным данным действие различных видов излучений (АВЭ, ЭМИ, γ -излучения, космических тяжелых заряженных частиц, полей коронного разряда, ультрафиолетового излучения) в малых дозах на семена-детекторы различных видов (кукуруза, подсолнух, фасоль, горох, кресс-салат, конские бобы и др.) вызывает образование поляритонов, свободных радикалов в низких нетоксичных концентрациях, которые находятся в лигнине оболочек семян, в белках и липидах мембран. При последующем добавлении воды к семенам и поступлении кислорода из воздуха начинаются окислительные реакции, образование перекисных радикалов, возникают цепные реакции окисления, которые способствуют окислению липидов, сульфгидрильных групп, полиенов, полифенолов, образованию хинонов, гидрохинонов и семихинонов. При активации прорастания семян под действием физических факторов происходит образование поляритонов, эффектора-триггера, деблокирование и дерепрессия генов, синтез и-РНК и ферментов, репарация ДНК [16], повышение уровня транспорта ионов в клеточных мембранах, метаболизма и клеточной энергетики. При высоких летальных дозах вышеуказанных излучений образуются свободные радикалы и активные формы кислорода, вызывающие сильный окислительный стресс, происходит лавинообразный запуск образования РТ, нарушение энергетики клеточных мембран, мутации и разрывы ДНК, блокирование синтеза *de novo* белка, гибель клеток и организма [5].

При длительном, хроническом воздействии различными малыми дозами в течение 10, 15 или 20 суток в поле излучения АВЭ за верхней бетонной защитой Серпуховского ускорителя и γ -излучения ^{60}Co , полученного на установке ИБК РАН для излучения действия малых доз γ -излучения, на

16 видов семян, находящихся на разном расстоянии от источника излучения, было получено как стимулирующее, так и ингибирующее действие на скорость прорастания семян и роста проростков. Исследовался механизм действия этих излучений на модифицированные водные и водно-белковые растворы, на фармпрепараты, обладающие антиоксидантными и прооксидантными свойствами, а также на растения *Kolonchoe peristoe*. Механизм молекулярного действия излучений на растения коланхоэ и семена был сходным, но характер физиологического действия оказался более выраженным для АВЭ. Получены данные о механизмах сезонного адаптивного ответа изученных видов растений (2008-2010 гг.).

В настоящее время нет надежной **радиозащиты (РЗ)** от воздействий АВЭ, но она крайне необходима при работе на ускорителях и в космических полетах. Поиск эффективных средств защиты от адронных биоповреждений затруднителен в связи с тем, что биологические объекты обладают малоэффективными системами репарации к сильным воздействиям АВЭ. Нами был получен достаточно высокий антимуtagenный эффект от АВЭ в дозе 0,2-10 Гр на ускорителе, при выращивании бактерий *E.coli* и бактериофага $T_4\text{Br}^+$ в пептонном бульоне [1]. При действии летальных и сублетальных доз γ -облучения 5-8 Гр был показан высокий профилактический и терапевтический радиозащитный эффект (20-90%) синтетических (из классов двухосновных кислот, замещенных салициланилидов) и природных (эхинохрома, убихинона, оротовой кислоты, биофлавоноидов, антоцианов, каротиноидов) липофильных мембранотропных веществ [5, 6, 8]. Основные первичные механизмы их действия на молекулярно-клеточном уровне проявляются в их антиоксидантной и слабой протонофорной активности, способности связывать свободные радикалы, изменять мембранный ионный транспорт и клеточную энергетику [7, 9]. Наиболее эффективные из этих соединений могут являться радиопротекторами от γ -облучения низкими и высокими дозами на АЭС, например, в условиях Чернобыля. При действии летальных доз γ -облучения

на лабораторных мышей нами был получен радиозащитный эффект низкоинтенсивного ЭМИ радиочастотного диапазона [10, 23]. С помощью биофизического экспресс-метода были выявлены несколько потенциальных природных радиопротекторов из классов биофлавоноидов, каротиноидов, убихинонов и пептидов гибернирующих млекопитающих с антиоксидантным и другими механизмами действия для сохранения активности биологических объектов (млекопитающих, клеток *E.coli* и бактериофага) при адронном воздействии. Для предварительного отбора радиопротекторов на разных уровнях организации живого организма были использованы: метод измерения электропроводности бислойных липидных мембран, полярографический метод, ЭПР, ЯМР, спектрофотометрический и калориметрический метод, метод хемилюминесценции. В качестве возможных радиопротекторов для защиты человека от АВЭ могут быть также испытаны вещества, которые влияют на передачу нервного импульса и внутриклеточную сигнализацию [9, 21, 22]. Отобранные соединения нами были рекомендованы для последующей проверки на лабораторных животных (мышях, крысах) при облучении различными дозами АВЭ. Определение ФИД и ОБЭ для препаратов при изучении кривых выживаемости млекопитающих в зависимости от дозы и мощности дозы АВЭ необходимы для определения эффективности РЗ исследованных соединений и выявления средней продолжительности жизни животных. Изучен молекулярный механизм РЗ **при синергетическом действии** высокоактивных **соединений** у γ -облученных животных в пострадиационный период [9]. Получена более высокая радиомодифицирующая эффективность исследованных нами комплексных антиоксидантных препаратов с мексидолом и фенотропилом по сравнению с их отдельными компонентами [11-13] при действии γ -облучения, ЭМИ и рентгеновского облучения высокой интенсивности на лабораторных животных. Можно ожидать синергизма радиозащитного эффекта действия природных соединений с различным механизмом действия от АВЭ. По мутабельности и выживаемости исследованы ме-

ханизмы синергизма действия на биообъекты γ -радиации и токсических веществ, например, хиноидных РТ – модельного и образующегося при облучении из тирозина [15, 19].

Исследования действия АВЭ на биологические объекты необходимы при изучении их влияния на биосферу Земли, вопросов возникновения и эволюции жизни, онто- и филогенеза, возможности экспансии жизни на другие планеты. Изучение адронных эффектов в биофизике и биологии имеет важное теоретическое значение в связи с тем, что из четырех известных типов фундаментальных, физических взаимодействий (электромагнитных, сильных, слабых, гравитационных) материальных объектов в адронных взаимодействиях участвуют все кроме гравитационных [4]. Исследованы все четыре типа основных физических взаимодействий на примере реликтовых компонент космического излучения, являющихся переносчиками этих взаимодействий [4, 20]. Предложена «реликтовая концепция», согласно которой компенсация электронов в атоме за счет резонансно поглощаемого реликтового излучения (РИ) может приводить к возникновению вторичного биогенного поляризованного излучения, которое может быть использовано для стимуляции прорастания семян и роста клеток после воздействия АВЭ. РИ и природный радиационный фон поддерживают биоту Земли в неравновесном активном состоянии, способствующем росту и развитию живых организмов. Изучение сложного комплекса адронных взаимодействий, ЭМИ, γ -излучения и способов защиты от них имеет также важное практическое значение в связи с необходимостью защиты персонала ускорителя, АЭС и космонавтов в длительных космических полетах. Эти проблемы решались в группе специалистов, работавших в области космической биологии, радиобиологии и биофизики клетки. В 1969-1989 гг. проводились совместные научные исследования сотрудников ИБК РАН и ГНЦ ИФВЭ на Серпуховском ускорителе протонов в Протвино, начавшиеся вскоре после его запуска, а с 2008 г. также с ИТЭБ РАН и двумя московскими организациями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акоев И.Г. // Проблемы космической биологии. – Л.: Наука, 1989. – Т. 60. С. 60.
2. Акоев И.Г., Юров С.С. К биофизике сильных взаимодействий адронов высоких энергий. Пушино, 1973. 32 с.
3. Алексеева Л.В., Кожокару А.Ф., Солонина Е.Д. // Успехи космической биофизики. Пушино, 1978. С. 3.
4. Дмитриевский И.М., Юров С.С., Кожокару А.Ф. // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – № 5. – С. 7.
5. Кожокару А.Ф., Заславский Ю.А., Акоев И.Г. // Радиобиология. – 1980. – Т. 20. – №6. – С. 902.
6. Кожокару А.Ф., Заславский Ю.А., Акоев И.Г. // Радиобиология. – 1981. – Т. 22. – №4. – С. 545.
7. Кожокару А.Ф. // Информац. бюлл. радиобиологии. – 1983. – №22. – С. 68.
8. Кожокару А.Ф. и др. // Радиобиология. – 1986. – Т. 26. – №1. – С. 35.
9. Кожокару А.Ф. Направленная модификация структурно-функционального состояния мембран с целью повышения устойчивости клеток и организма к факторам окружающей среды. Дисс. д. ф-м.н. – М.: МНО «Форум». 1992. – 88 с.
10. Кожокару А.Ф., Мельников В.М., Акоев И.Г. // Радиационная биология и Радиэкология. – 1994. – Т. 34. – №5. – С. 671.
11. Кожокару А.Ф. // XVI Росс. Конгр. «Человек и лекарство». – М., 2009. – С. 540.
12. Кожокару А.Ф., Юров С.С., Нечитайло Г.С. // Там же. – С. 539.
13. Кожокару А.Ф. // XVII Росс. Конгр. «Человек и лекарство». – М. 2010. – С. 642.
14. Коломейцева И.К. // Биофизика. – 2009. – Т. 54. – 5. С. 946.
15. Копылов В.А., Ревин А.Ф., Кузин А.М. // Всес. конф. «Проблемы синергизма в радиобиологии». – Пушино, 1990. – С. 48.
16. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиобиологии. – М.: Наука, 1986. – 284 с.
17. Шабарчина Л.И., Юров С.С., Сухоуков Б.И. // Успехи космической биофизики. – Пушино, 1978. – С. 53.
18. Юров С.С. // Успехи космической биофизики. – Пушино, 1978. – С. 54.
19. Юров С.С., Щелкаева Н.В. // Проблема синергизма в радиобиологии. – Пушино, 1990. – С. 53.
20. Юров С.С., Кожокару А.Ф., Дмитриевский И.М. // Современные проблемы науки и образования. – 2008. № 5. С. 24.
21. Cojocar A.F., Fomkina M.G., Khashaev Z.Kh.-M. // Int. Conf. «Regulation of free radical reactions». Bulgaria, Varna. – 1989. – P. 29.
22. Cojocar A.F. // XI Int. Congress of neuropathology. Japan, Kyoto. 1990. P. 17.
23. Cojocar A.F., Melnikov V.V., Akoev I.G. // Biophysics. 2005. V. 50. s. 1. P. S116.
24. Dicke R.N. Quantum electronics. Ed. Blaembergen N., Grivet P. Dunod, 1974.
25. Popp F.A. Electromagnetic bio-information. Eds. Popp F.A. et al. Munchen, 1989. – P. 144.

**GENETIC, BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL MECHANISMS
OF NATURAL ANTIOXIDANTS RADIOPROTECTIVE EFFECTIVITY
AND COSMIC ADRON AND GAMMA MODEL RADIATION ACTION**

Cojocar A.F., Yurov S.S.

The Institute of Cell Biophysics, RAS, Pushchino of Moscow Region, Russia

It was shown that cosmic irradiations of adrones with high energy in comparing with γ -radiation, exerts more powerful lethal, mutagenic and toxin-formed action on different types of animals, plants and bacteria in model laboratory conditions. Data obtained allowed to reveal the possibilities for the life appearance and life evolution on Earth, for expansion of it to the other planets. It was shown the influence of sexual hormones on animal radioresistance. Results on action of chemical and physical radioprotective means on different levels of living organism organization are cited, it may be used in cosmic flights, at the proton colliders and atomic electric stations.

Key words: adrones of high energy, proton collider, gamma radiation, mutations, animal survival, radiotoxins, radioprotectors