



ННЦ «ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ»

Київського національного університету імені Тараса  
Шевченка

# РАДІОБІОЛОГІЯ

д.б.н., професор кафедри  
біофізики

Мартинюк Віктор Семенович



Київ  
2014

© В.С. Мартинюк



# РАДІОБІОЛОГІЯ



- **Первинні механізми дії іонізуючого випромінювання. Молекулярна радіобіологія. Молекулярні механізми пошкодження білків, НК, вуглеводів. Перекисне окиснення ліпідів як один з головних механізмів радіаційного пошкодження біологічних мембран. Теорія мішеней в молекулярній радіобіології.**



# РАДІОБІОЛОГІЯ



Кафедра Біофізики

В основі *радіаційно-хімічних змін* молекул можуть лежати два механізми:

- 1) пряма дія, коли іонізація молекули відбувається безпосередньо при взаємодії з випромінюванням;
- 2) непряма дія, коли молекула безпосередньо не поглинає енергію іонізуючого випромінювання, але отримує її шляхом передачі від іншої молекули, радикала або іону.



# РАДІОБІОЛОГІЯ



Послідовність процесів в речовині, що розвиваються після поглинання енергії випромінювання, умовно прийнято ділити на *фізичну, фізико-хімічну і хімічну стадії*.

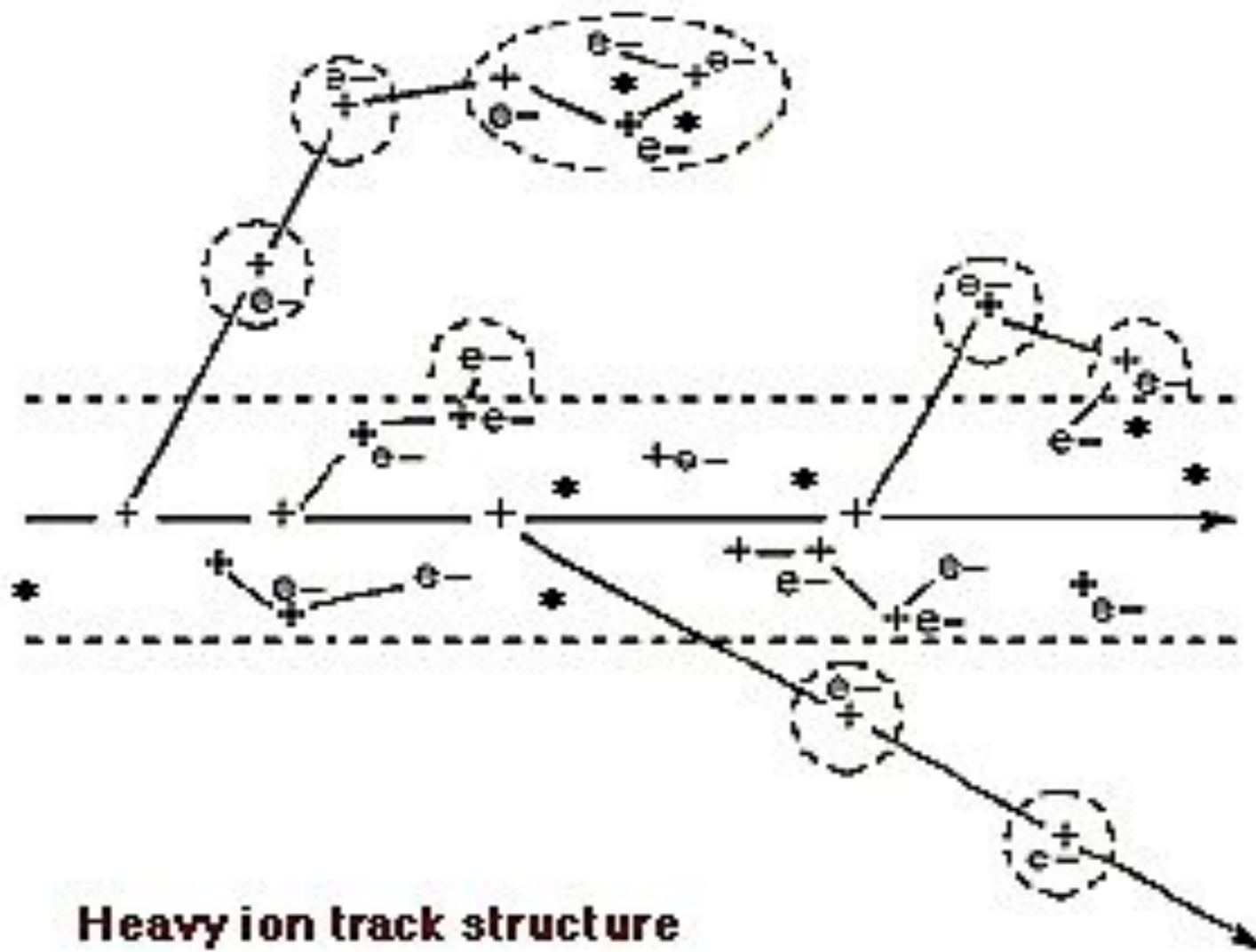
*Фізична стадія* відбувається за час  $10^{-16}$ - $10^{-15}$ с і включає процеси поглинання і дисипації поглиненої енергії.

У результаті іонізації і збудження молекул утворюються іони ( $M^+$ ), збуджені іони ( $M^{**}$ ), електрони ( $e^-$ ), збуджені молекули ( $M^*$ ), надзбуджені молекули ( $M^{**}$ ) з енергією, що перевищує перший потенціал іонізації молекул.

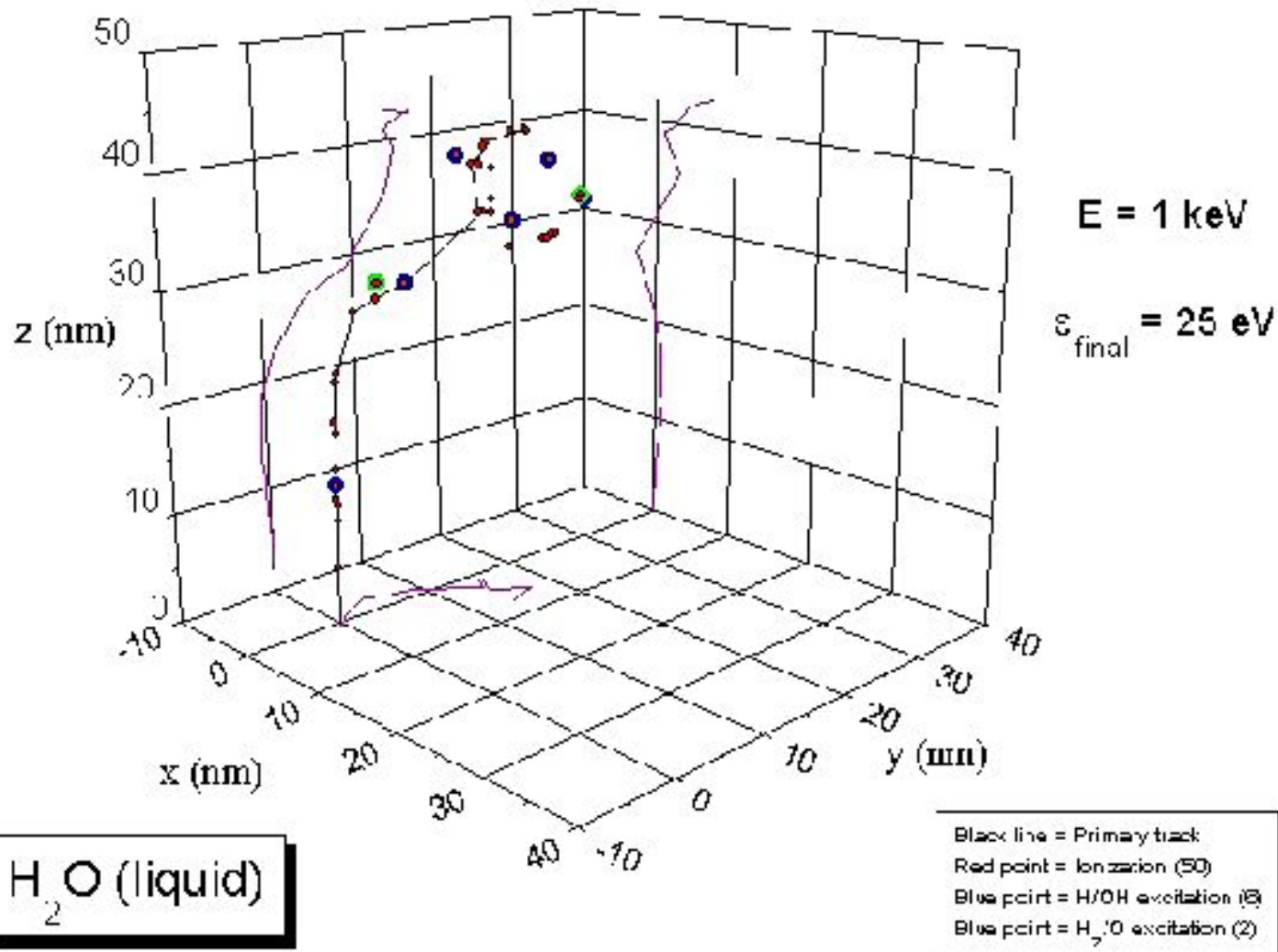
Водночас з цим утворюються **плазмони**, які являють собою колективне надзбудження ансамблю молекул.

Молекулярна система речовини знаходиться в енергетично нерівноважному стані з неомогенним розподіленням активних частинок.

Загальний середній радіаційний вихід первинних заряджених і збуджених частинок становить приблизно 7-10 частинок на 100 еВ (0.07 – 0.10 частинок на 1 еВ).



**Heavy ion track structure**



**H<sub>2</sub>O (liquid)**

The track of a 1 keV electron track in liquid water



# РАДІОБІОЛОГІЯ



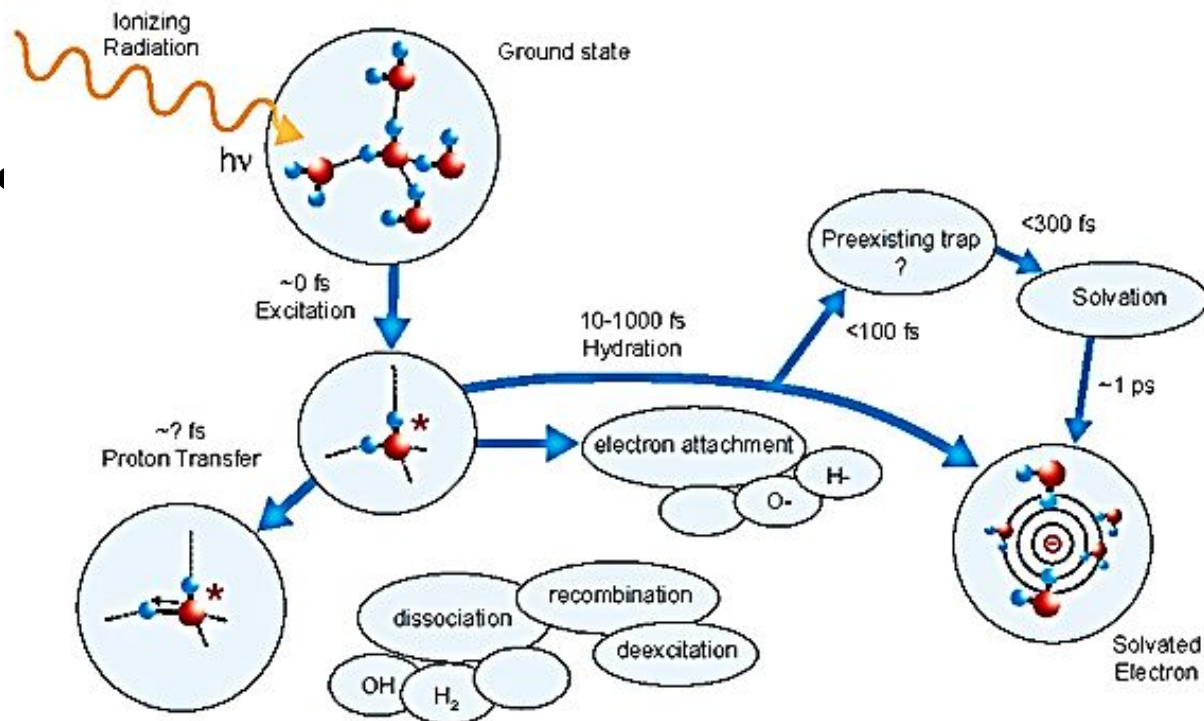
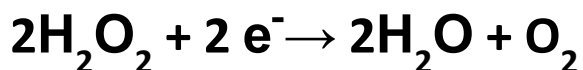
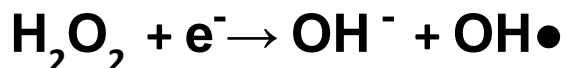
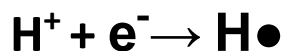
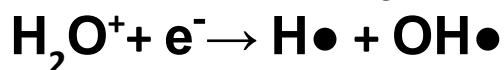
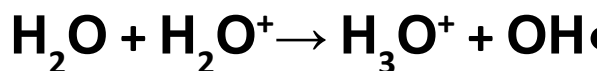
Кафедра Біофізики

На *фізико-хімічній стадії* за час  $10^{-13}$  -  $10^{-10}$  с протікають реакції заряджених і збуджених частинок, а також процеси передачі енергії, що призводять до переходу молекулярної системи речовини у стан теплової рівноваги.

На *хімічній стадії* в треках протікають реакції іонів, електронів, вільних радикалів один з одним і з молекулами середовища.

У рідині за час порядку  $10^{-7}$  с відбувається вирівнювання концентрацій продуктів радіолізу по певному об'єму, що піддавали опроміненню.

Оскільки в середньому 70% маси біологічної тканини становить вода, вона є головною молекулярною мішенню іонізуючої радіації. Початкові процеси радіолізу води, що призводять до утворення вільних радикалів, представлені на схемі:



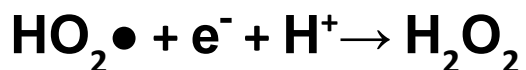
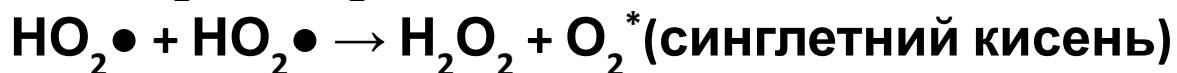




# РАДІОБІОЛОГІЯ



## Активні форми кисню

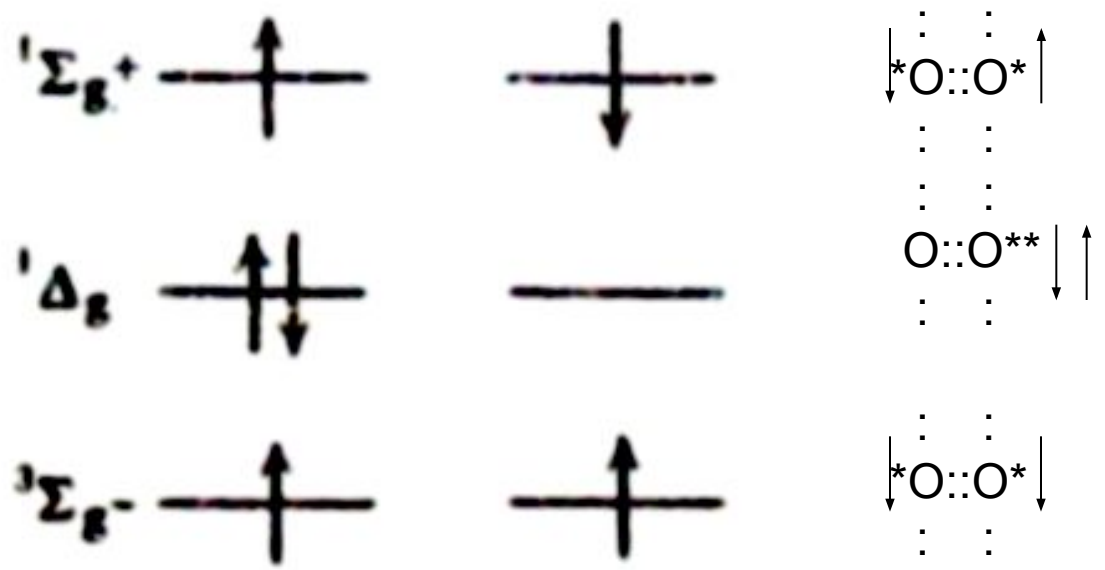
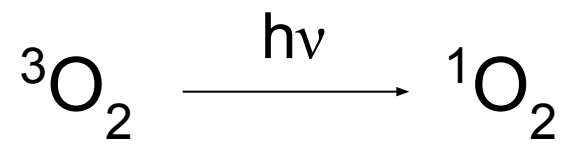




# РАДІОБІОЛОГІЯ



## Активні форми кисню





# РАДІОБІОЛОГІЯ



## Радіоліз і радіохімія біополімерів

### Основні ефекти іонізуючої радіації:

1. Фрагментація.
2. Вільнорадикальне пошкодження.
3. Димеризація и полімеризація.



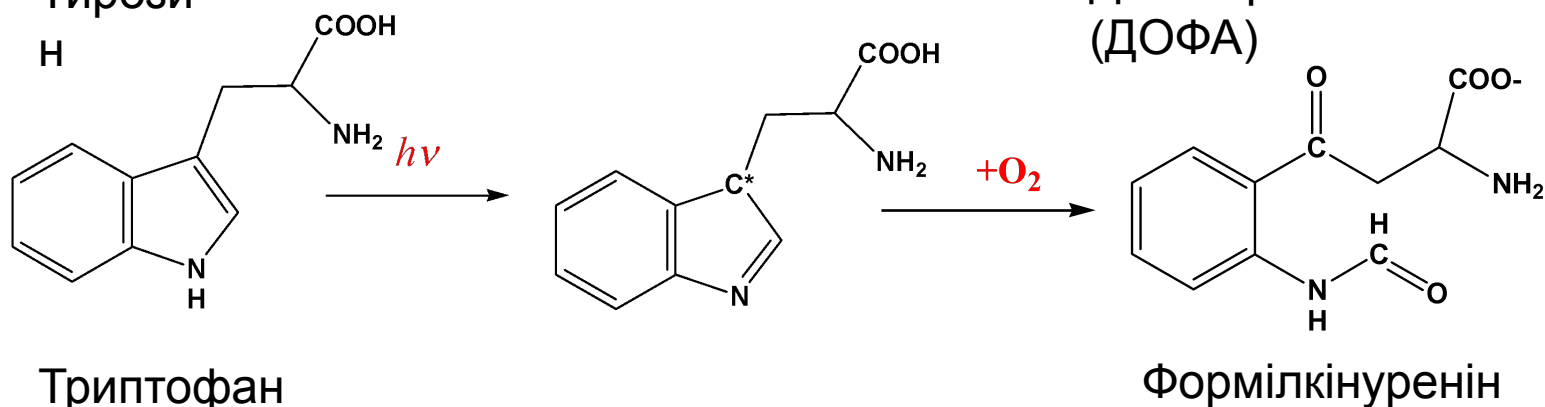
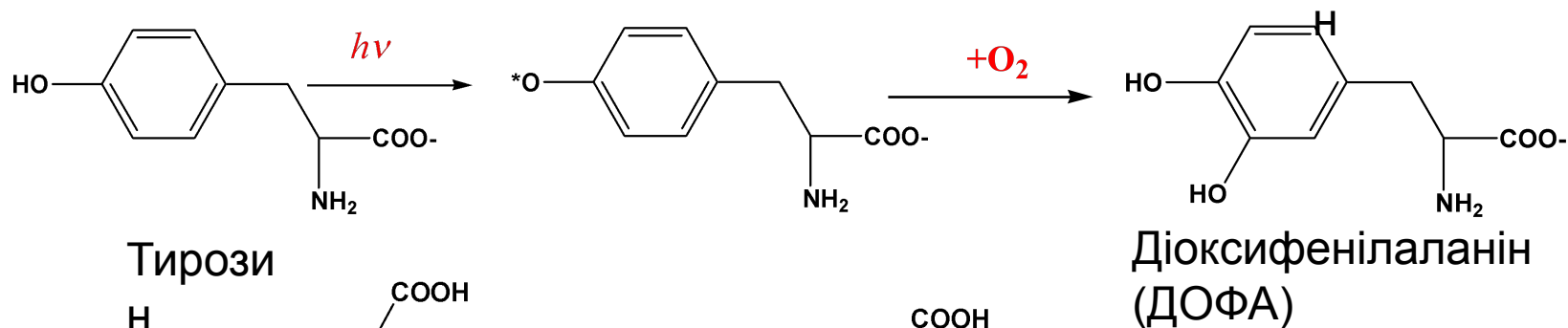
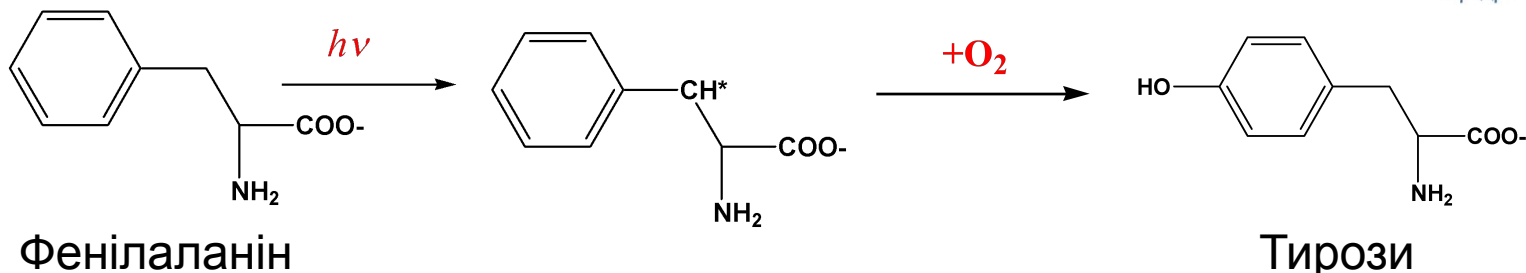
# РАДІОБІОЛОГІЯ



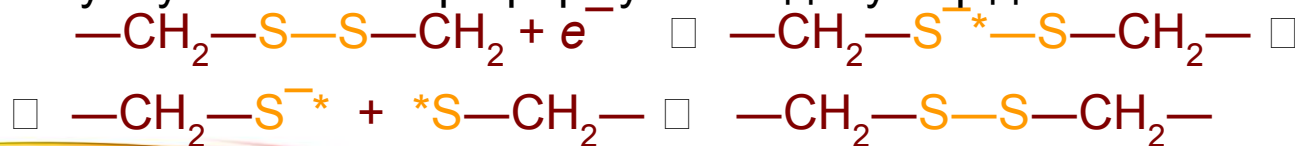
## Вільнорадикальне пошкодження білків

Таблица 2. Модификация белков активными формами кислорода

Модифицируемая группа	Окислитель	Модификация	Примечания
Цистеин	$\text{OH}^\bullet$ , $\text{OSCl}^-$	сульфоновые, дисульфидные связи	S-S-связи
Метионин	$\text{OH}^\bullet$ , $\text{OSCl}^-$ , $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{O}_2^-$	сульфоксиды	легко подвергаются дальнейшему окислению
Гистидин	$\text{O}_2^-$	2-оксо-гистидин	вызывает поперечные сшивки белков
Пролин, аргинин	различные АФК	образование полуальдегидов	активация поперечных сшивок
Триптофан	пероксинитрит, $\text{OH}^\bullet$	образование 6-нитротриптофана	образование флуоресцентных продуктов
Фенилаланин	$\text{OH}^\bullet$	—	образование битирозольных радикалов
Тирозин	АФК, $\text{OSCl}^-$ , $\text{NO}$	нитрирование, хлоринирование или образование битирозиновых сшивок	ингибирование передачи клеточного сигнала через тирозинкиназу посредством блокирования фосфорилирования тирозина
Концевые $\text{NH}_2$ -группы белков	гипохлорид	образование белковых карбониллов	легко образуют поперечные сшивки



Руйнування та переформування дисульфідних зв'язків



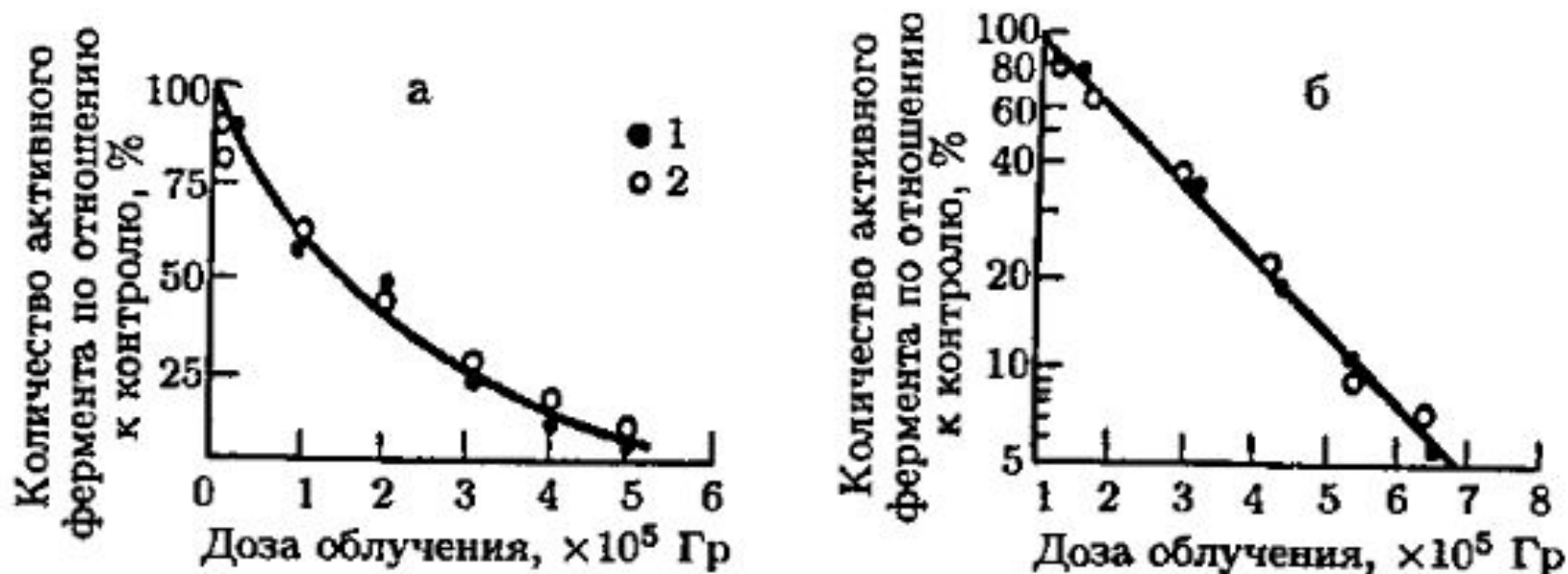


Рис. IV.1. Инактивация РНКазы  $\gamma$ -излучением. Ферментная активность определялась для двух различных субстратов: 1 – РНК; 2 – цитидин-2', 3'-циклофосфата; а) зависимость «доза-эффект» выражена в линейных координатах; б) эти же данные представлены в полулогарифмическом виде, экспериментальные точки укладываются на прямую

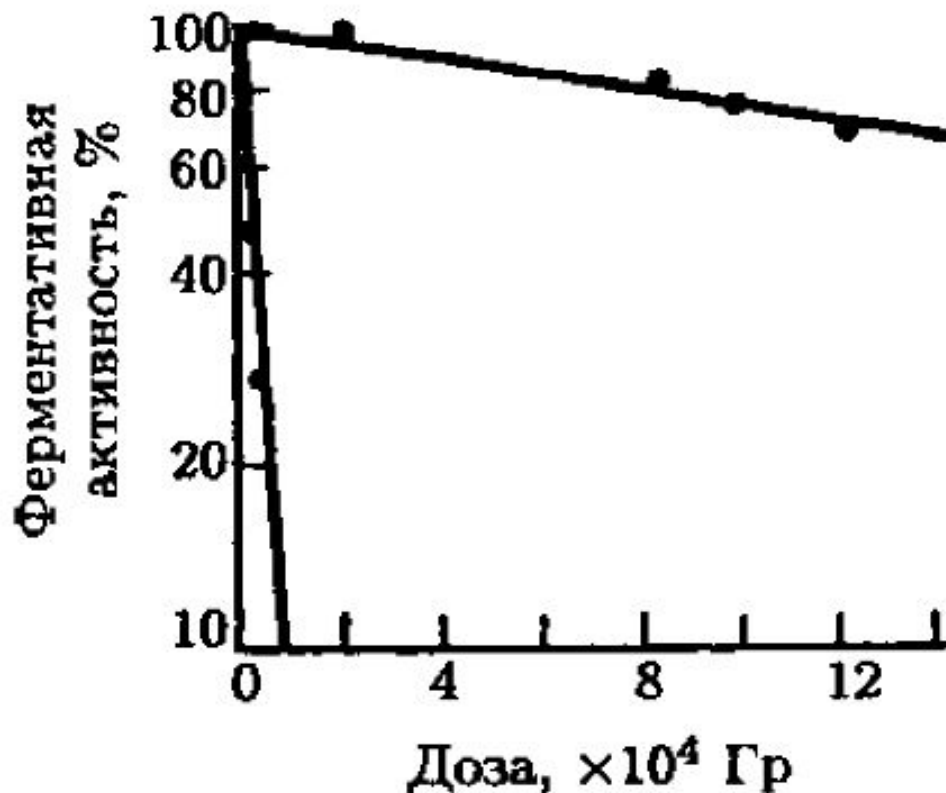


Рис. V.1. Инактивация  $\gamma$ -излучением рибонуклеазы в сухом состоянии (верхняя кривая) и в водном растворе фермента в концентрации 5 мг/мл (нижняя кривая)



# РАДІОБІОЛОГІЯ



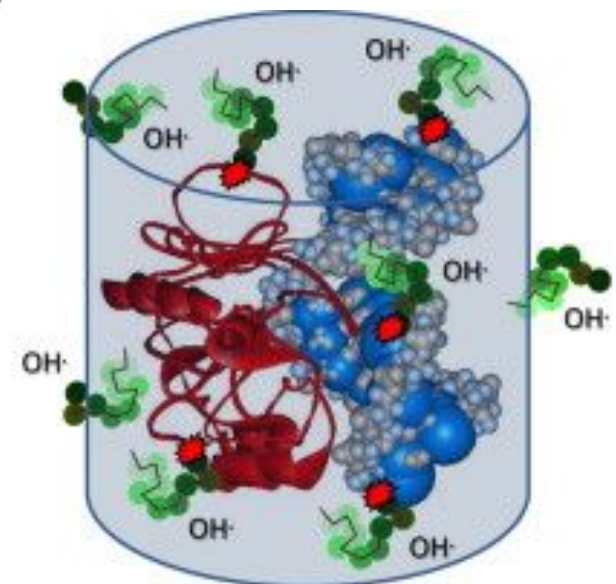
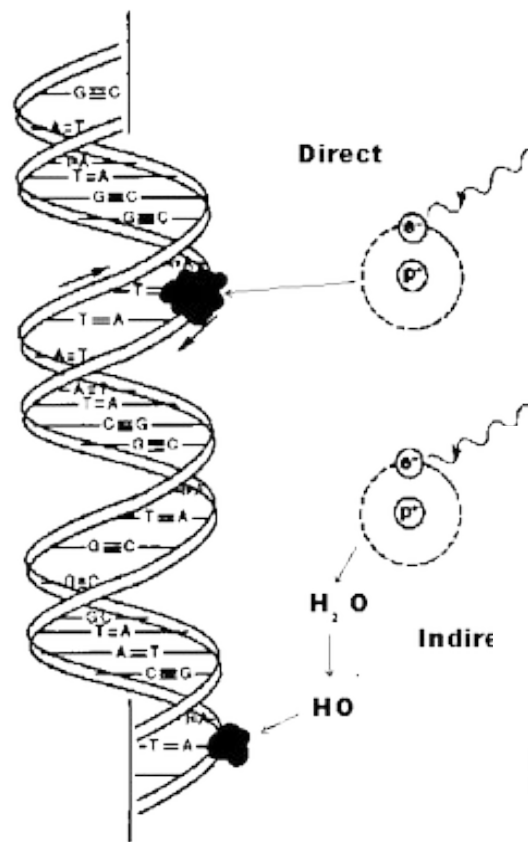
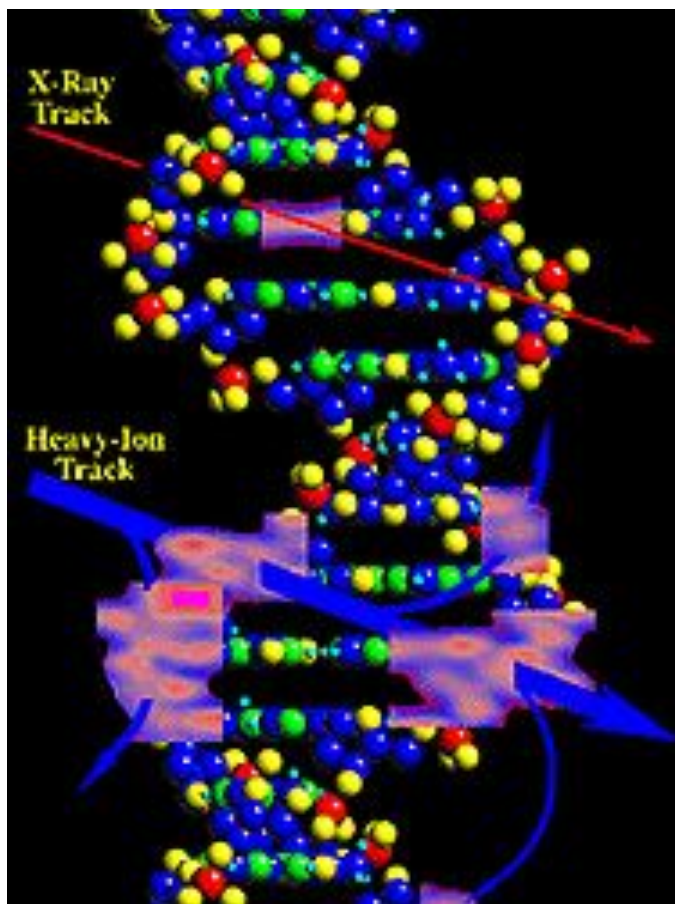
## Радіоліз нуклеїнових кислот

### Основні види радіаційного ушкодження ДНК:

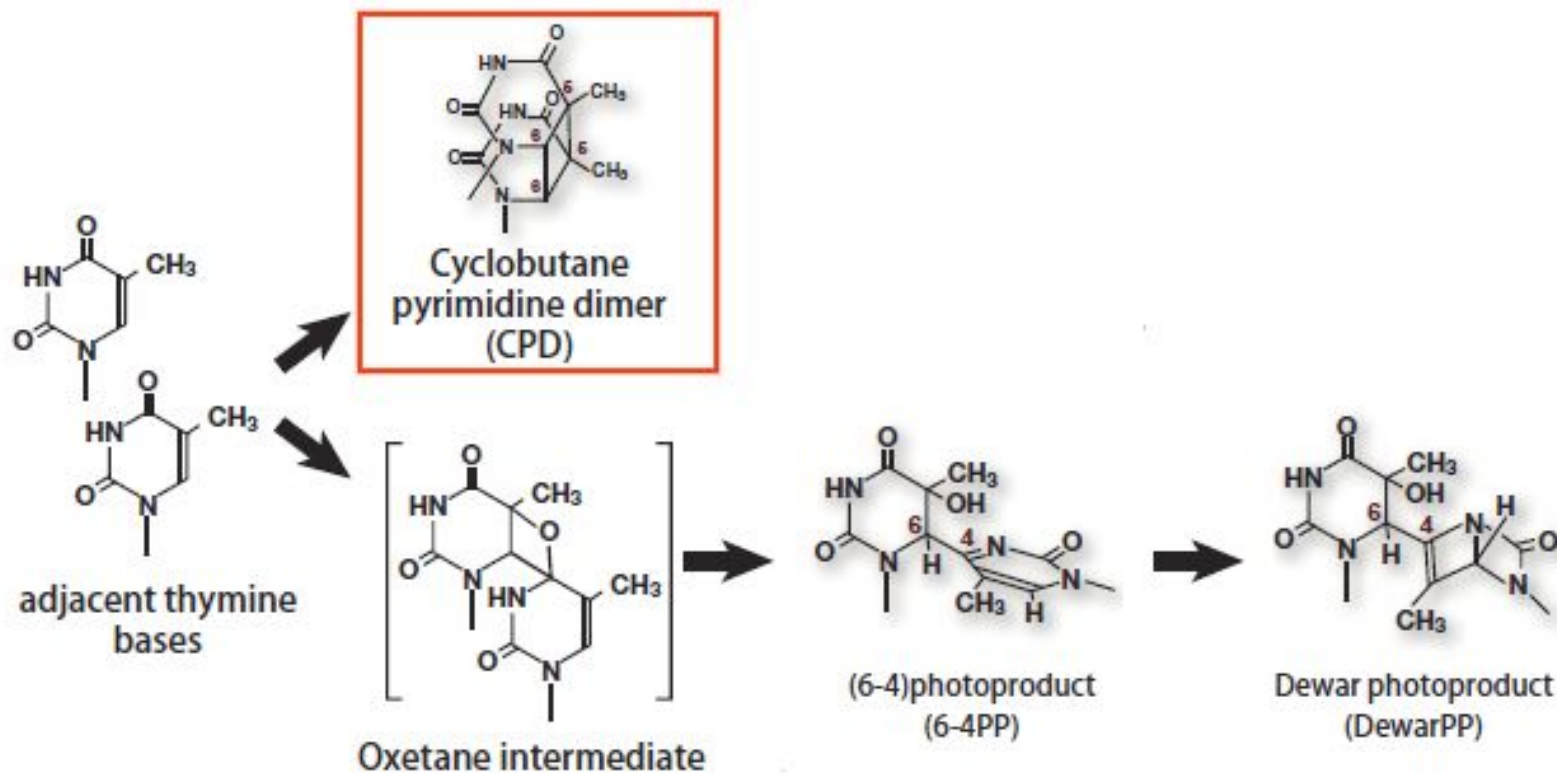
- одно - і дволанцюгові розриви;
- хімічна модифікація азотистих основ;
- утворення тимінових димерів;
- зшивання ДНК-ДНК, ДНК-білок.



## Радіоліз нуклеїнових кислот



## Радіоліз і радіохімія нуклеїнових кислот



Р

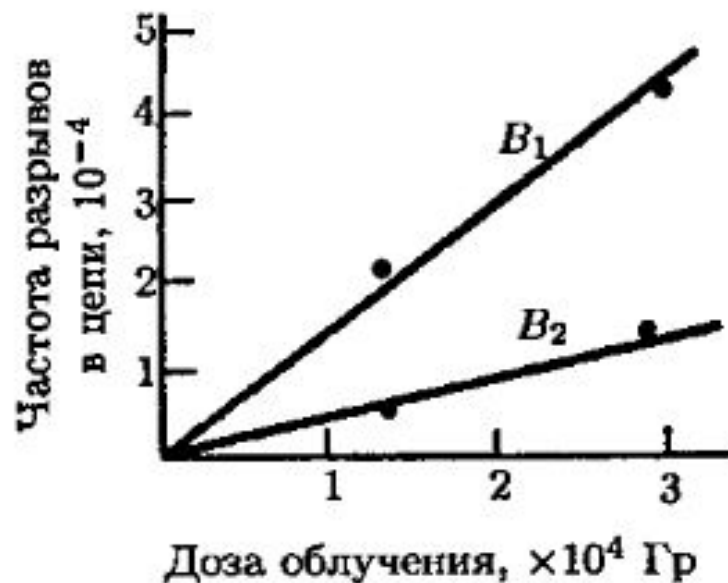


Рис. IV.13. Зависимость образования однонитевых ( $B_1$ ) и двунитевых ( $B_2$ ) разрывов в сухой ДНК тимуса теленка от дозы рентгеновского облучения в вакууме

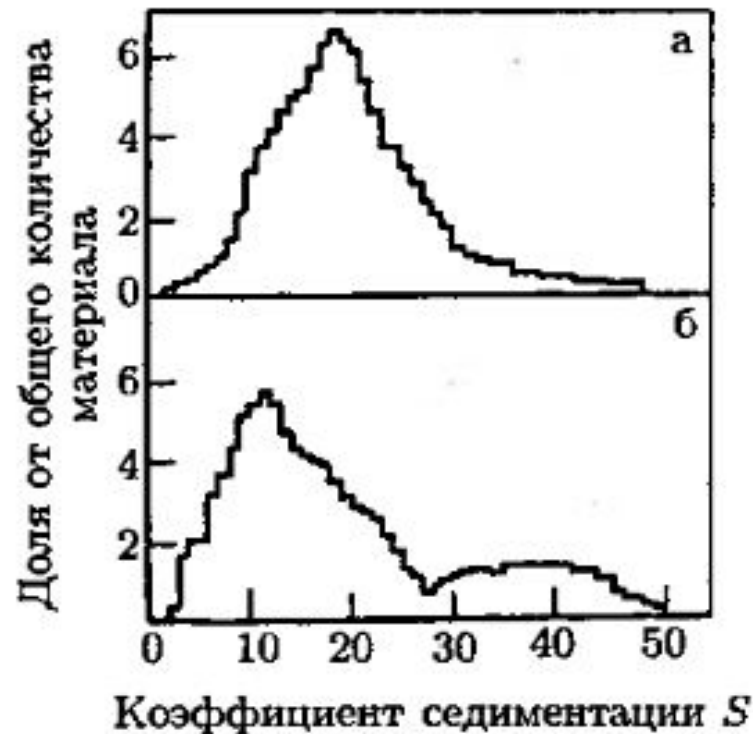


Рис. IV.14. Профиль седиментации ДНК тимуса теленка при облучении сухих ее препаратов в вакууме в дозе  $3 \cdot 10^4$  Гр: а) контроль; б) после облучения

## Радіоліз і радіохімія нуклеїнових кислот

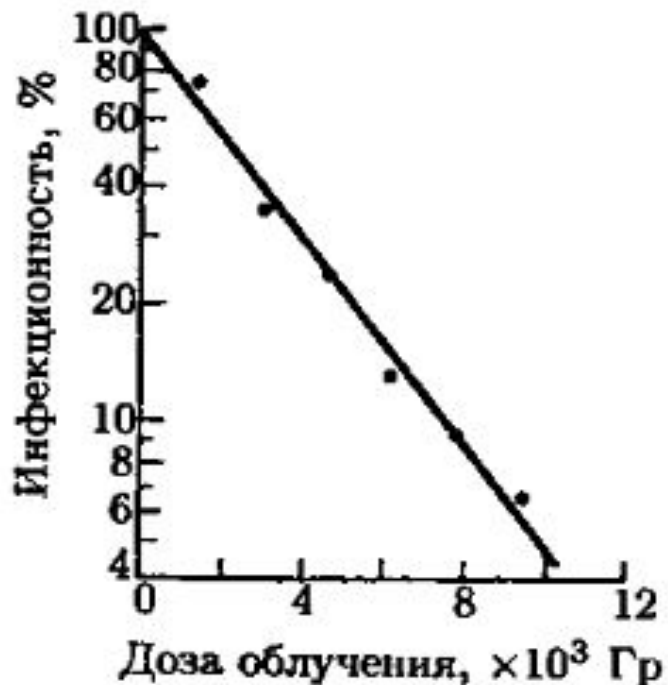
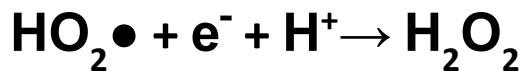


Рис. IV.3. Інфекційність ДНК фага  $\varphi$ X174, препарат якого підвргнут впливу  $\gamma$ -випромінювання  $^{60}\text{Co}$  в вакуумі

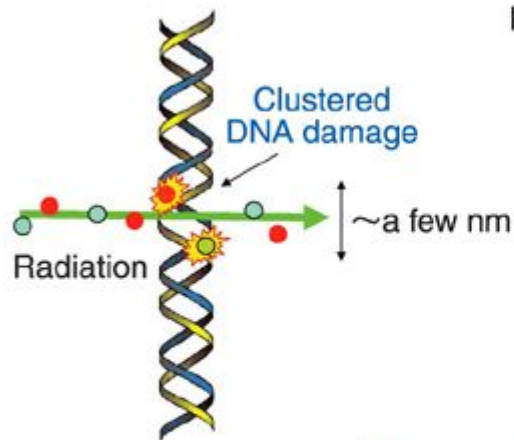


Рис. IV.4. Інактивація трансформуючої активності ДНК *Bacillus subtilis* при облученні сухих спор електронами з енергією 1 МєВ

## Радіоліз нуклеїнових кислот

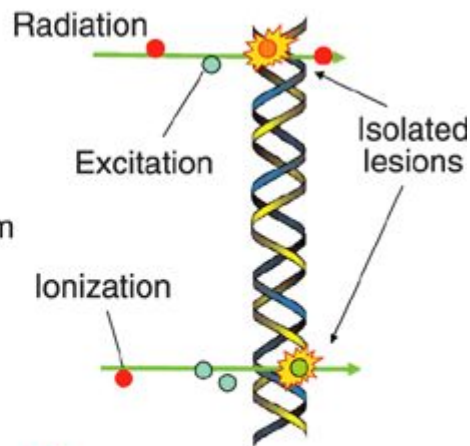


(a) High LET radiation



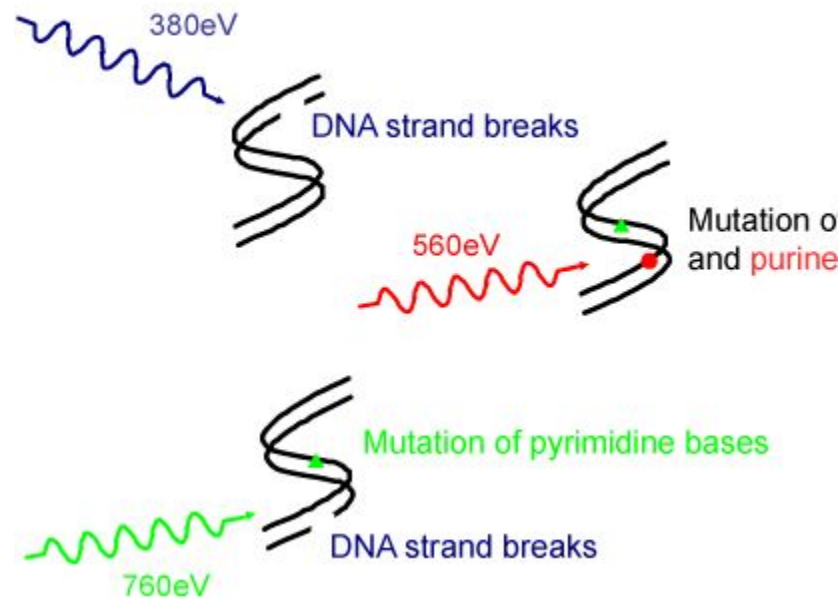
DNA molecule

(b) Low LET radiation

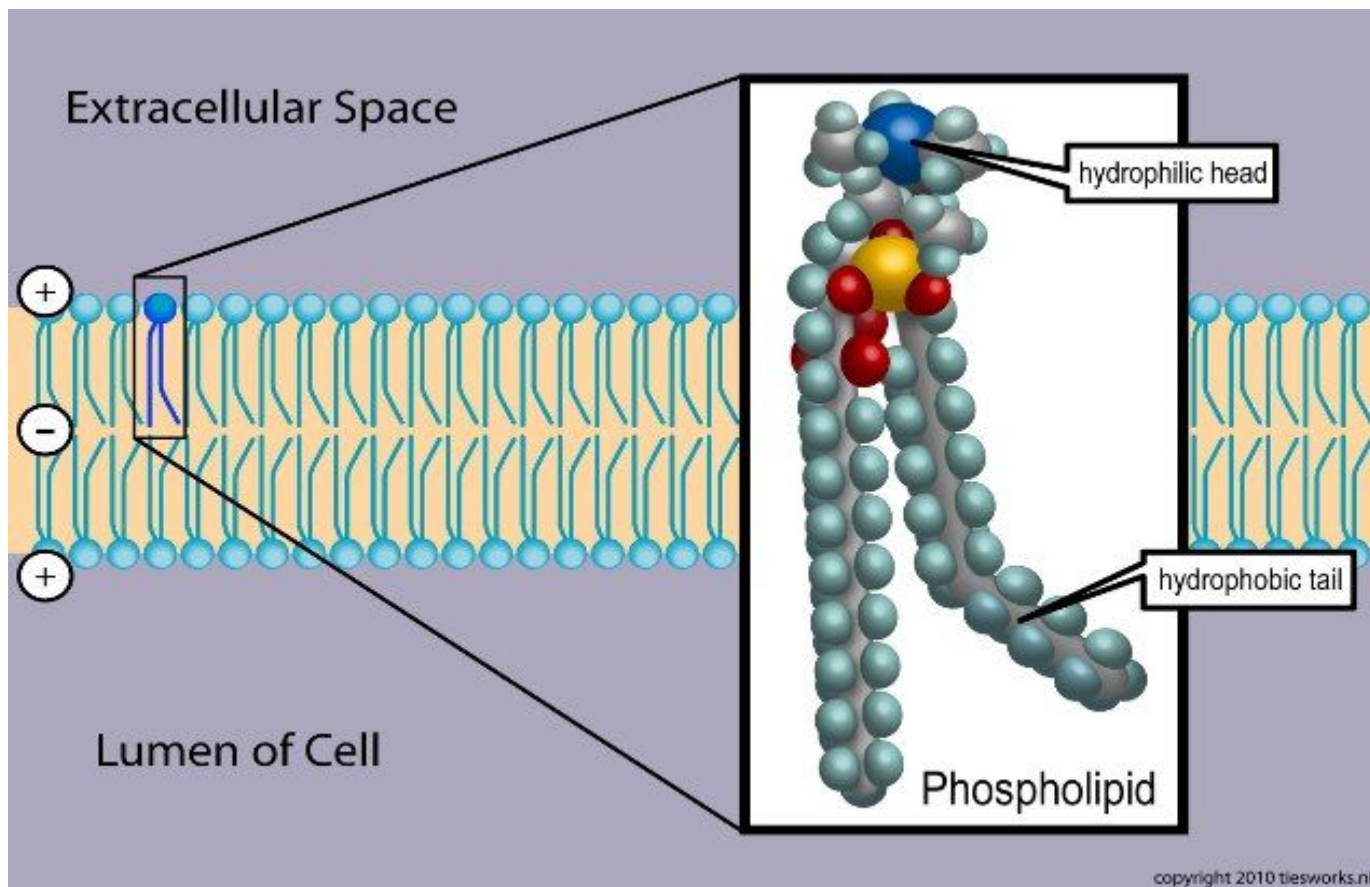


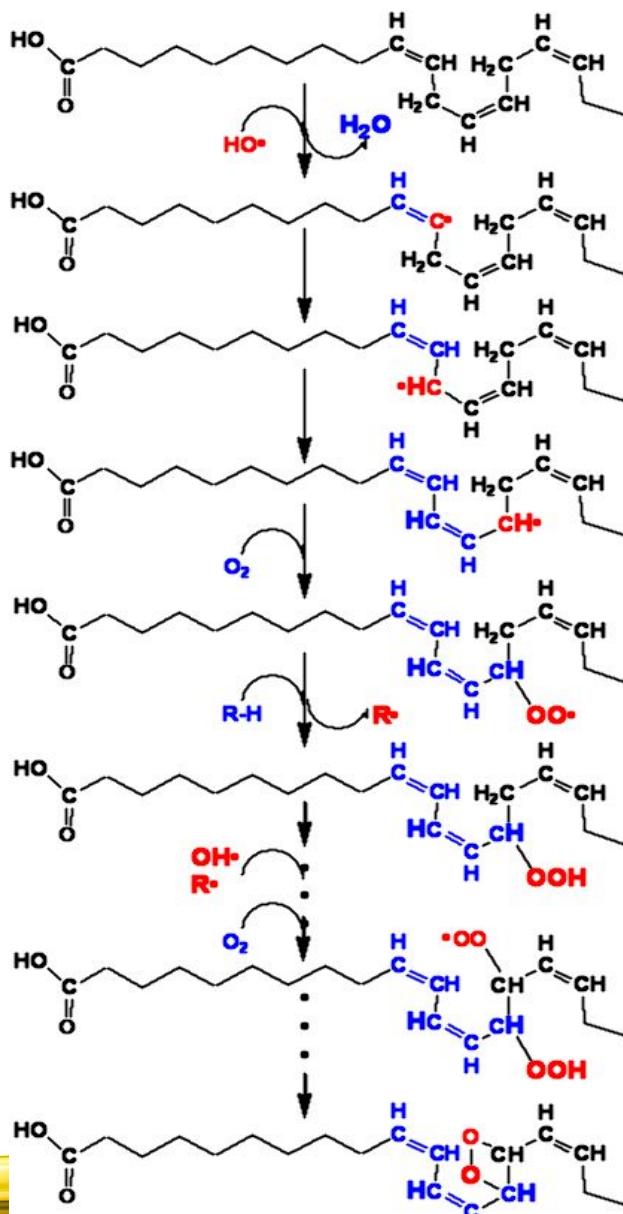
DNA molecule

Each case creates 2 lesions per 8 ionizations & excitations



## Радіоліз і вільнорадикальне (перекисне) окиснення ліпідів





Жирнокислотний залишок реагує із вільним радикалом з утворенням органічного радикалу і води:



Внутрішньомолекулярна перебудова з утворенням дієнового кон'югату

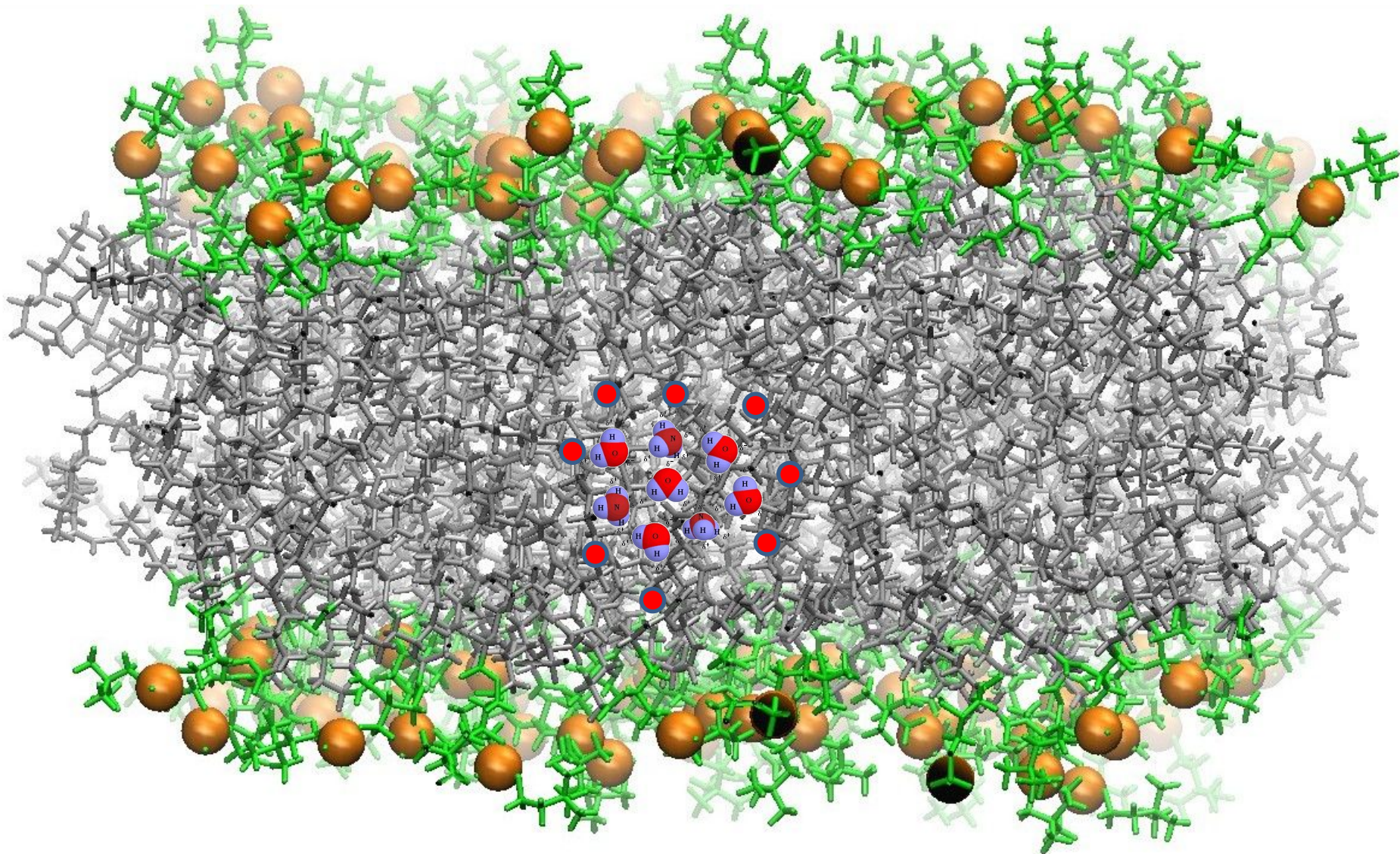
Органічний вільний радикал реагує з молекулою кисню з утворенням перекисного радикалу:



Перекисний радикал реагує з іншою молекулою ліпиду (RH) з утворенням гідроперекису ліпиду :



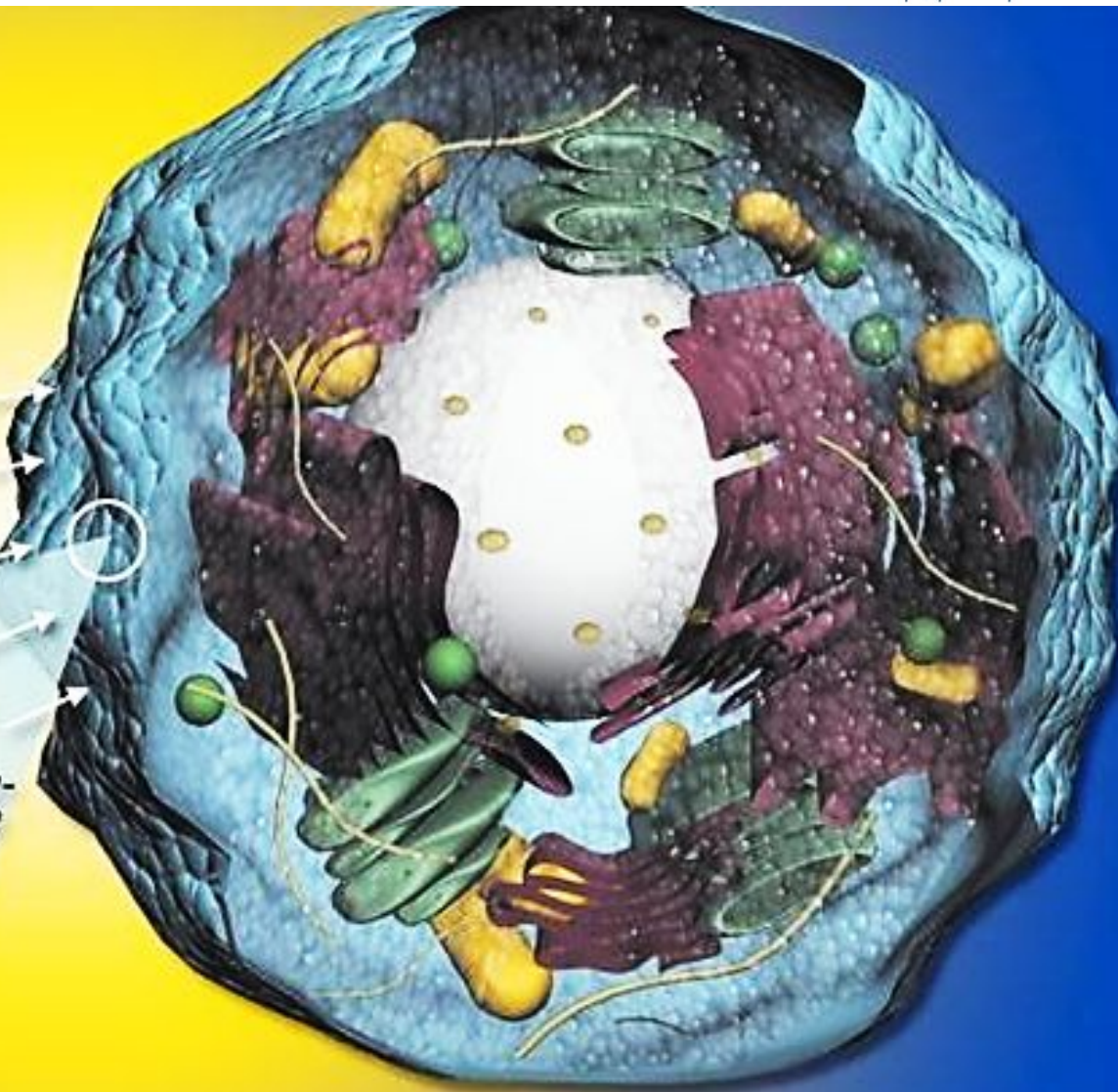
Подальше вільнорадикальне окиснення призводить до створення епоксидів, які розпадаються з утворенням альдегідів та кетонів.



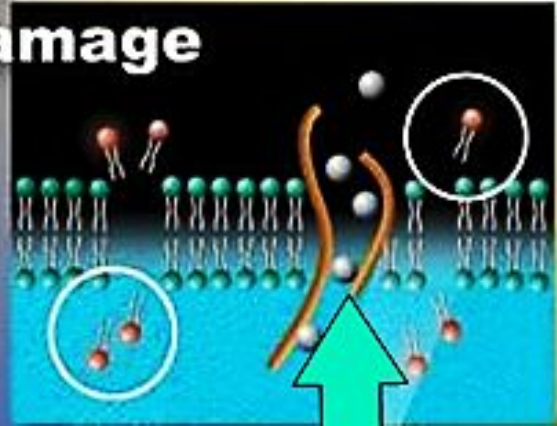


## Cell Attacked by Free Radicals

$\text{OH}^-$   
 $\text{O}_2^-$   
 $\text{HO}^-$   
 $\text{H}_2\text{O}_2$   
 $\text{Cl}^-$   
 $\text{O}_2^{2-}$



## Cell Membrane Damage





# РАДІОБІОЛОГІЯ



## ТЕОРІЯ МІШЕНЕЙ

### Принцип влучень:

1. Іонізуючі випромінювання мають малу об'ємну щільність, порівняно з тепловим випромінюванням, тобто вони переносять енергію у дискретному вигляді, влучаючи в об'єкт (чутливий об'єм) окремими квантами.
2. Енергія іонізуючих випромінювань перевищує енергію потенціалу іонізації, тобто перевищують енергію будь якого ковалентного зв'язку.
3. За час первинної стадії дії іонізуючого випромінювання ( $10^{-16}$ - $10^{-13}$  сек) відбувається поглинання, розподілення і дисипація енергії.
4. Енергія іонізуючого випромінювання, що поглинається, витрачається на збудження і іонізацію атомів і молекул.
5. Вірогідність переносу енергії з молекули на молекулу не залежить від хімічної структури останньої, вона визначається загальною електронною щільністю речовини, яка є приблизно однаковою для різних клітинних структур.



# РАДІОБІОЛОГІЯ



Кафедра Біофізики

**Принцип “ мішеней ”** базується на тому, що жива система складається з окремих структурно-функціональних елементів (**мішеней, чутливих об'ємів**), які є структурно гетерогенними, функціонально нерівнозначними, по різному чутливими до дії іонізуючого випромінювання.

1. Іонізуючі випромінювання впливають не вибірково на молекули білків, нуклеїнових кислот, ліпідів мембран і води. В живих системах немає молекул, які вибірково поглинають іонізуючі випромінювання.
2. Неоднорідні структури клітини (білки, НК, ліпіди і вода), що поглинають одну й ту ж порцію енергії, протягом різного часу (для різних речовин) змінюються, що призводить до різних біологічно значущих пошкоджень.
3. Залежності “доза-ефект” є відображенням квантової взаємодії іонізуючого випромінювання з речовинами, а також наявності високочутливих критичних об'ємів – “мішеней”, таких як ДНК і біологічні мембрани. **Мішень** – це структура (чутливий об'єм), пошкодження якої призводить до загибелі клітини.
4. Спостерігаються подальші радіаційні зміни “мішеней” і різноманіття відповідей клітин організму.

Криві “доза-ефект” пояснюють на основі теорії мішеней.

Мішені - структурно-функціональні елементи, які є структурно гетерогенними, функціонально нерівнозначними, по різному чутливими до дії іонізуючого випромінювання і мають певні розміри.

Розподіл влучень іонізуючої радіації в мішені є статистичним, тому кінцевий ефект залежить від вірогідності влучення квантів енергії в життєво важливі мікрооб'єми, в яких знаходяться внутрішньоклітинні мішені. Таким чином з підвищенням дози підвищується вірогідність влучень квантів іонізуючого випромінювання в мішені.

!!! Низькі дози з низькою вірогідністю можуть призводити до загибелі окремих клітини.

!!! При високих дозах можуть залишатися з малою вірогідністю непошкоджені клітини.

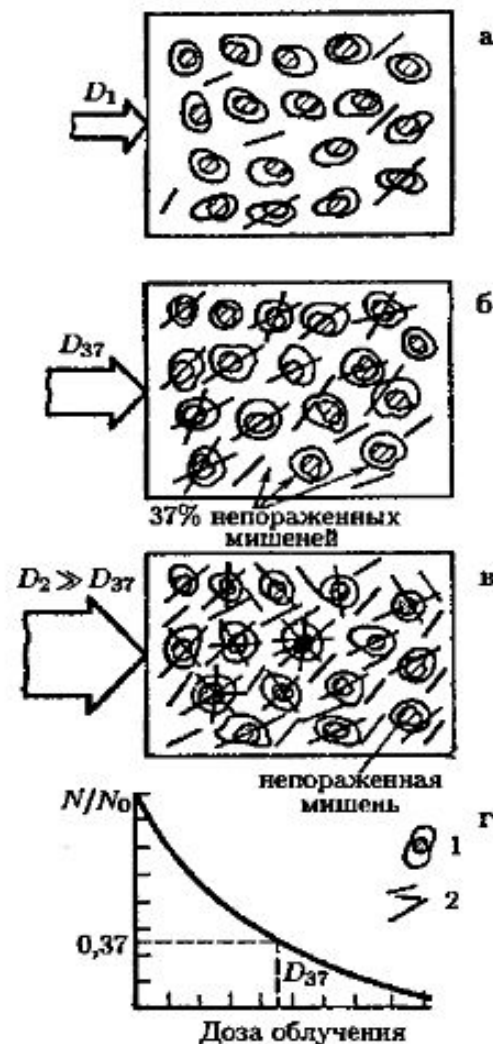


Рис. III.2. Зависимость между числом непошкоджених мішеней и поглощенной дозой ионизирующих излучений: 1 — объект с мішенню сечением  $S$ ; 2 — треки частиц

## ТЕОРІЯ МІШЕНЕЙ

### Одноударне враження

$D_0$  – інактивуюча доза (на кожний об'єкт припадає одне влучення).

$D$  – доза, що отримав об'єкт.

$N_0$  – початкове число об'єктів.

$N$  – число об'єктів, що залишились непошкодженими.

$$N = N_0 e^{-(D/D_0)}$$

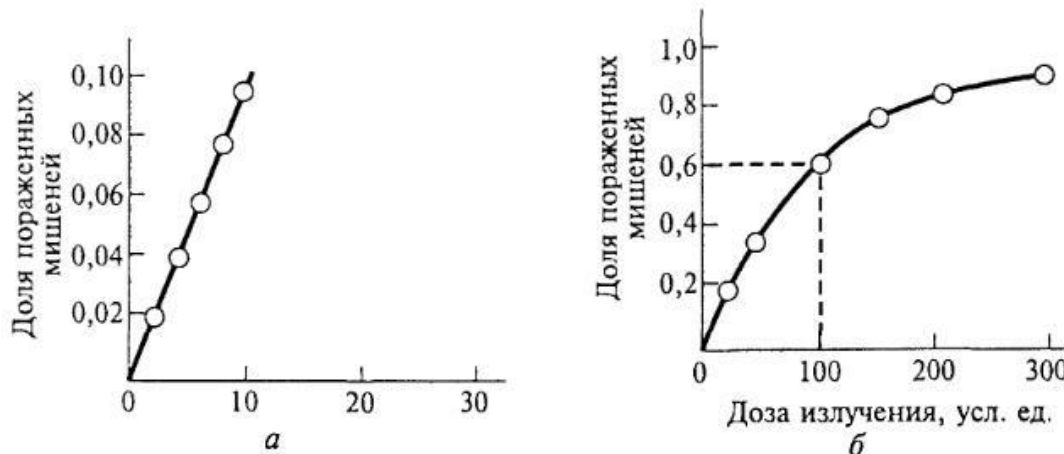
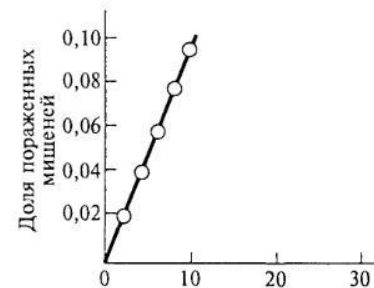


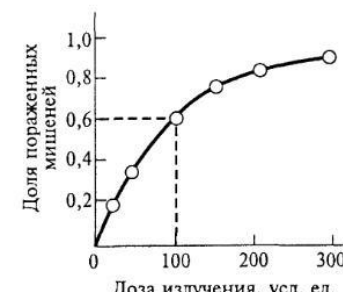
Рис. 11.1. Зависимость изменения эффекта от дозы излучения: *a* и *б* — соответственно при малых и больших дозах (по Д. Ли, 1963)

## ТЕОРІЯ МІШЕНЕЙ

Виходячи з принципів класичної теорії мішені, кількість влучень має бути прямо пропорційним дозі опромінення. Тому в певному діапазоні доз число уражених мішеней строго пропорційно дозі, або числу влучень, так як уражається лише невелика їх частина із загальної кількості. У зв'язку з цим залежність ефекту від дози має вигляд прямої лінії.



З підвищенням дози опромінення ймовірність потрапляння в одну і ту ж мішень збільшується, і хоча загальна кількість влучень залишається пропорційним дозі, їх ефективність зменшується, і кількість уражених мішеней зростає повільніше, асимптотично наближаючись до 100 %. Таким чином, кількість життєздатних одиниць із збільшенням дози зменшується в експоненційній залежності від дози. Теорія мішені не є універсальною і не пояснює всіх біологічних ефектів, що виникають під дією іонізуючих випромінювань.



## ТЕОРІЯ МІШЕНЕЙ

### Багатоударне враження

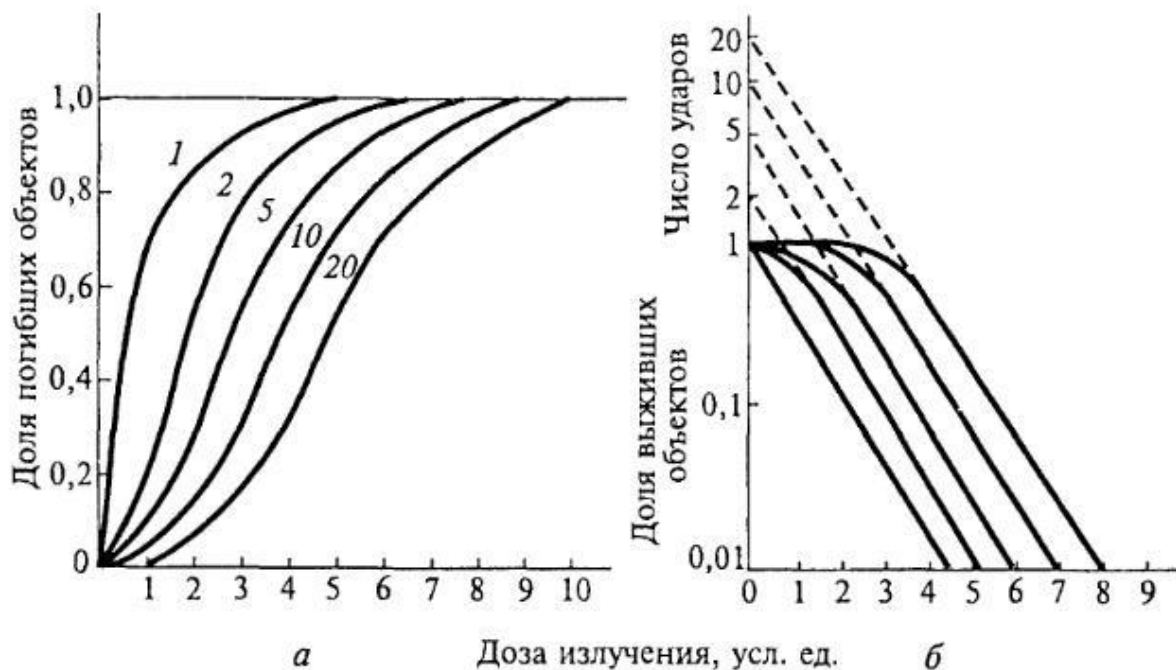


Рис. 11.2. Дозові криві виживання для об'єктів з різною ударністю мішені:

*a* — в обычном масштабе (S-образные, или сигмоидные, кривые; число ударов обозначено на кривых); *б* — в полулогарифмическом масштабе

A silhouette of a person stands in the center of the frame, facing forward. Behind them, numerous bright green laser beams radiate outwards in all directions, creating a starburst effect against a dark background. The beams are sharp and vibrant, contrasting sharply with the dark surroundings.

**Дякую за увагу**