

УДК 539.12+541.14+541.51+541.64+543.42+577.3

КИНЕТИКА РАДИАЦИОННОГО И ФОТООКИСЛЕНИЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Сапеженский И. И.

Рассмотрена последовательность радиационных и фотопревращений белков, нуклеиновых кислот и других биологических объектов: первичные стадии образования свободных макрорадикалов, других активных продуктов, их реакции, приводящие к модификации первичной структуры биополимеров. Обсуждаются упрощенные варианты кинетических схем, удовлетворительно описывающие экспериментальные данные. Проведен формально-кинетический анализ перераспределения начальных повреждений в системах белок — ДНК — другие компоненты клеток.

Библиография — 129 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1559
II. Выходы радиационных и фотопревращений белков и нуклеиновых кислот	1560
III. Константы скорости возможных свободнорадикальных реакций с участием биополимеров	1563
IV. Кинетика реакций свободных макрорадикалов в растворе	1565
V. Первичные процессы при радиационном окислении	1568
VI. Кинетическая схема сенсибилизированного фотоокисления	1570
VII. Фотофизические и фотохимические реакции при действии на макромолекулы УФ-излучения	1573
VIII. Возможные процессы перераспределения начальных повреждений в много-компонентных системах, содержащих ДНК, белки, другие вещества	1574

I. ВВЕДЕНИЕ

Вопрос о первичных механизмах действия света и ионизирующих излучений на основные биохимические компоненты клетки является одним из центральных в радиобиологии и деструктивной фотобиологии.

Еще в середине 50-х гг. академик Н. М. Эмануэль, занимаясь кинетикой жидкофазных реакций окисления, выдвинул широкую программу исследований радиационных и фотохимических превращений белков, нуклеиновых кислот, липидов. В то время имели место весьма упрощенные и достаточно наивные представления об этих процессах. Эта программа включала в себя изучение деструкции биомакромолекул новыми тогда методами — ЭПР, импульсных радиолиза и фотолиза. Обзор включает некоторые результаты в плане выполнения программы.

Последовательность действия оптического и ионизирующего излучения на живые организмы можно весьма условно и упрощенно разбить на три стадии. Первая стадия включает в себя весь комплекс физико-химических первичных процессов от момента облучения до образования относительно стабильных продуктов радиационной и фотомодификации первичной структуры биополимеров. Вторая стадия — молекулярно-биологическая, в ней в работу включаются многочисленные ферментативные системы репарации молекул ДНК, что приводит как к ликвидации модифицированных участков нуклеиновой кислоты, так и к появлению дополнительных дефектов структуры ДНК. Наконец, третья стадия включает в себя дальнейшие процессы реализации в клетках, органах тканях нарушений генетического материала, что приводит к искажению метаболизма, нарушению многочисленных систем регуляции и к конечным биологическим эффектам. Данный обзор имеет отношение лишь к первой, физико-химической стадии, к действию излучений на белки, ДНК и др. компоненты клетки.

Белки выполняют в живой клетке катализитические, транспортные, защитные, иммунные, опорные и др. функции, входят в состав всех органелл клетки, их содержание составляет 50 и более процентов сухого веса живых организмов. Поэтому при действии света и ионизирующих излучений, белки принимают на себя основную лучевую нагрузку и являются в этом смысле главной «химической мишенью» действия излучений. В то же время макромолекулы ДНК являются основной «биологической мишенью», именно их повреждения приводят, в большинстве случаев, к биологическим эффектам.

Радиационные и фотопревращения макромолекул включают в себя многочисленные и разнообразные реакции свободных радикалов, электронно-возбужденных состояний макромолекул, перекисных радикалов, перекисей, других активных частиц. Молекулы белков являются наиболее сложными макромолекулами с многочисленными группами, которые модифицируются под действием излучений. Выявление всех таких изменений — задача будущего, это же, хотя и в меньшей мере относится к ДНК.

За последние 20 лет произошел качественный скачок в понимании механизма радиационной и фотодеструкции биополимеров. Использование методов ЭПР, импульсного радиолиза и фотолиза позволило выявить десятки различных промежуточных продуктов, которые принимают участие в деструкции белков и нуклеиновых кислот: это активные продукты радиолиза воды, многочисленные виды свободных макрорадикалов и перекисных радикалов, электронно-возбужденные состояния ароматических групп белков и оснований ДНК, ион-радикалы макромолекул, фотоинициаторов и радиосенсибилизаторов, синглетный кислород, различные перекиси. Естественно, что вклад той или иной активной частицы в общий процесс деструкции определяется ее выходом и кинетическими характеристиками возможных конкурентных реакций. Поэтому первой задачей данного обзора было кинетическое рассмотрение наиболее вероятных процессов, простейших из возможных кинетических схем, которые удовлетворительно описывают экспериментальные данные.

В живой клетке белки конкурируют с другими молекулами, включая ДНК за активные частицы фотолиза и радиолиза, поэтому второй целью обзора было формально-кинетическое рассмотрение перераспределения начальных повреждений в многокомпонентных системах при концентрациях, сравнимых с внутриклеточными.

Включение в одну работу результатов о различных воздействиях на макромолекулы ионизирующего излучения, УФ-света, а также света в присутствии фотосенсибилизаторов не является странным, ибо многие продукты этих превращений одинаковы, близки и кинетические закономерности их поведения. Исключением, по-видимому, является действие УФ-света на ДНК, в котором основные фотопродукты (пиримидиновые димеры) образуются непосредственно из синглетных и триплетных электронно-возбужденных состояний без участия других промежуточных продуктов.

II. ВЫХОДЫ РАДИАЦИОННЫХ И ФОТОПРЕВРАЩЕНИЙ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Изучение радиационных и фотопревращений биомакромолекул имеет почти столетнюю историю. Общее количество работ давно перевалило за десять тысяч. Регулярно проводятся конференции и публикуются обзоры, посвященные первичным процессам фото- и радиационных превращениям белков и ДНК как в растворах, так и на уровне живых клеток [1—34].

Из многих тысяч работ лишь небольшое число содержит количественные данные, пригодные для составления возможных механизмов превращений — это сведения о выходах модифицированных групп, исчезновения исходных, зависимости наблюдаемых эффектов от широкого спектра условий эксперимента: мощности дозы облучения, концентраций

Таблица 1

Радиационно-химические выходы поглощения кислорода растворами нуклеиновых кислот (молекул/100 эВ) при разных температурах и мощностях доз облучения [36]

Вещество	c, моль/л	0,4 Гр/с; 20° С	0,04 Гр/с		
			5° С	20° С	50° С
ДНК одноцепочечная	7·10 ⁻⁴	6,8	—	6,6	—
	4·10 ⁻³	7,5	8,3	8,6	9,2
ДНК двуцепочечная	7·10 ⁻⁴	4,6	—	4,4	—
	4·10 ⁻³	—	4,7	—	—
РНК	7·10 ⁻⁴	4,0	5,0	5,4	6,6
	2·10 ⁻⁴	14,6*	17	—	—
Поли-У	10 ⁻³	21	—	—	—

* При 5°С

макромолекул, кислорода, различных добавок, температуры. Весьма небольшое количество работ посвящено собственно радиационному и фотоокислению макромолекул, что, по-видимому, связано с резко увеличивающимся набором промежуточных и конечных продуктов окисления. Отсутствию интереса к фотоокислению биополимеров способствовало и то, что некоторые фотобиологические эффекты действия УФ-света не зависят от концентрации кислорода, хотя процессы фотоокисления при этом, естественно, происходят.

Основной брутто-характеристикой процессов окисления является скорость поглощения кислорода при облучении, радиационно-химический или квантовый выходы потребления кислорода. К сожалению, количественных данных об этих величинах мало, хотя методики определения скорости окисления весьма просты и первые работы по поглощению кислорода, с использованием аппарата Варбурга, были опубликованы около 60 лет назад [35].

В табл. 1 приведены данные о радиационно-химических выходах поглощения кислорода растворами природных нуклеиновых кислот и синтетической полиуридиевой кислоты (поли-У) [36]. Видно, что для одноцепочечной ДНК выходы варьируют от 6,8 до 9,2 молекул O₂/100 эВ в зависимости от условий эксперимента. Для двуцепочечной ДНК выходы несколько меньше (4,4—4,7). В случае РНК выходы составляют 4—6,6 молекул O₂/100 эВ. Наибольшие выходы получены для поли-У (до 21). Обращает внимание некоторый рост выхода со снижением мощности дозы и с повышением температуры одноцепочечной ДНК, РНК и поли-У. Авторы работы [36] объясняют эти результаты протеканием цепных реакций с короткими цепями и приводят схему реакций свободных радикалов нуклеиновых кислот, для подтверждения которой нужны дополнительные данные. В случае белков значения радиационно-химических выходов поглощения кислорода лежат в пределах 2—4 молекул O₂/100 эВ [37].

В табл. 2 представлены возможные участники радиационных и фото-превращений белков (Б) и нуклеиновых кислот (Д). Выходы поглощения кислорода при радиационном окислении белков и нуклеиновых кислот сравнимы. Квантовые выходы сенсибилизированного и несенсибилизированного фотоокисления белков достаточно велики, что связано с наличием в белках легкоокисляемых остатков триптофана, тирозина, цистеина, цистина, метионина, гистидина. По-видимому, квантовые выходы фотоокисления ДНК весьма малы. Если принять, что разрывы в ДНК образуются в реакциях свободных радикалов, то, по данным [32], выход фотоокисления ДНК порядка 10⁻⁴ %.

Активные продукты радиолиза воды (№ 3—7, табл. 2) являются обязательными участниками реакций радиационного окисления. Вклад каж-

Таблица 2

Радиационно-химические (молекул/100 эВ) или квантовые (%) выходы окисления или образования тех или иных продуктов превращений белков (Б) или ДНК (Д) [1—71]

№ п/п	Начальные, промежуточные или конечные продукты превращений белков и ДНК	РП	СФП	ФП
1	$O_2 + B \rightarrow \dot{R}_B$	2—4	1—10	0,2—2
2	$O_2 + D \rightarrow \dot{R}_D$	4—8	+	+
3	\dot{OH}	2,7	—	—
4	\dot{e}	2,7	+	+
5	\dot{H}	0,6	+	+
6	H_2O_2	0,9	+	+
7	$O_2^{\cdot}, H\dot{O}_2$	+	+	+
8	$^{10}O_2$?	0—100	?
9	$\dot{R}_{\text{неорг}}$	+	+	+
10	$\dot{R}_{\text{орг}}$	+	+	+
11	RO_2	+	+	+
12	^{13}C	—	+	—
13	^{14}C	—	+	—
14	\dot{R}_B	3	+	+
15	\dot{R}_D	3	+	+
16	$RO_2 B$	+	+	+
17	$RO_2 D$	+	+	+
18	^{1}B	?	—	+
19	^{3}B	?	+	+
20	^{1}D	?	+	+
21	^{3}D	?	+	+
22	П	1	+	+
23	Одиночные разрывы ДНК	0,5—4	+	+
24	Двойные разрывы ДНК	0,01	+	+
25	Разрывы пептидной связи в белках	+	+	+
26	Разрушение оснований ДНК	1—2	+	+
27	Разрушения аминокислотных остатков белка	2	1—3%	1%
28	Циклобутановые димеры ДНК	?	+	1—4%
29	Сшивки	+	+	+
30	Сшивки ДНК—белок	+	+	+
31	Инактивация ДНК	+	+	+
32	Инактивация ферментов	0,01—3	0,1—10%	0,1—10%

Обозначения: РП — радиационные, СФП — фотосенсибилизированные и ФП — фото-превращения макромолекул белков и ДНК; знак «+» относится к реакциям и частицам, участие которых в процессах уверенно установлено, знак «+—» относится к возможному участию, знак «—» означает неучастие, знак «?» — предположительное участие; $\dot{R}_{\text{неорг}}$ и $\dot{R}_{\text{орг}}$ — свободные радикалы, возникающие при фотолизе или радиолизе в присутствии неорганических или органических добавок; ^{13}C и ^{14}C — синглетные и триплетные электронно-возбужденных состояний фотосенсибилизаторов; $^{1}O_2$ — синглетный кислород, \dot{R}_B — свободные радикалы белков разных типов, \dot{R}_D — радикалы ДНК, $RO_2 B$ и $RO_2 D$ — перекисные радикалы белка и ДНК, ^{1}B и ^{3}B — синглетные и триплетные электронно-возбужденные состояния ароматических групп белка, ^{1}D и ^{3}D — то же для оснований ДНК, П — стойкие и нестойкие пероксины макромолекул.

дого из них выявляется с помощью относительно избирательных акцепторов. Для гидратированных электронов — это закись азота, для гидроксильных радикалов — спирты, сахара. Супероксидный радикал (O_2^{\cdot}) или гидропероксидный радикал участвуют, по-видимому, во всех видах окисления макромолекул. Синглетный кислород почти всегда образуется при сенсибилизированном фотоокислении, образование его при других видах воздействий проблематично [38].

Другие неорганические и органические радикалы могут образовываться при фотолизе и радиолизе вводимых добавок, они могут достаточно эффективно взаимодействовать с макромолекулами. Низкомолекулярные перекисные радикалы эффективно реагируют с белками и менее эффективно с ДНК [39—51].

Фотосенсибилизаторы в синглетных и триплетных электронно-возбужденных состояниях участвуют в сенсибилизированном фотоокисле-

нии биополимеров, причем механизмы реакций могут быть весьма разнообразными [38].

Свободные радикалы белков и нуклеиновых кислот образуются при всех воздействиях. Следует отметить, что само понятие «свободные макрорадикалы» достаточно условно, ибо при облучении образуется большой набор радикалов разной химической природы. Для белков — это анион-радикал и свободный радикал пептидного звена, радикалы лизина, аргинина, фенилаланина, тирозина, цистеина, цистина, метионина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, пролина [52—60]. Предполагают и другие виды радикалов. Для ДНК — это свободный и анион-радикалы тимила, катион-радикалы гуанина, перекисные свободные радикалы [61—64]. При исследовании превращений одноцепочечной ДНК методом импульсного радиолиза [65] обнаружены радикалы цитозина, гуанина, аденина. По-видимому, суммарный выход свободных радикалов белков и ДНК при их высоких концентрациях может достигать 6 радикалов/100 эВ при полном перехвате продуктов радиолиза воды. Квантовые выходы образования радикалов при действии на ДНК и белки УФ-света еще не измерены; при низкой температуре образование радикалов происходит в результате двухквантовых реакций [66, 67] и понятие квантового выхода весьма относительно. Образование перекисных радикалов белков и ДНК происходит при всех воздействиях, выходы неизвестны. Электронно-возбужденные состояния групп белка и ДНК, естественно, образуются при действии УФ-света, выходы триплетных состояний достигают, видимо, нескольких процентов. При сенсибилизации возможно заселение триплетных уровней путем переноса энергии с подходящих уровней сенсибилизаторов. В случае радиолиза выходы возбужденных состояний в растворах биополимеров малы [68], предполагается их образование за счет излучения Вавилова — Черенкова [69—71].

Нестабильные и стабильные пероксиды (№ 22, табл. 2) образуются при всех воздействиях на макромолекулы в присутствии кислорода, значение радиационно-химического выхода их образования около 1 молекулы/100 эВ вероятно существенно занижено в связи с протеканием достаточно быстрых дальнейших реакций. В табл. 2, № 23—30, приведены некоторые зарегистрированные изменения макромолекул при действии света и ионизирующих излучений. Они многочисленны, помимо них, по-видимому, имеются и другие, пока не выявленные, ибо общий выход поглощения кислорода выше сумм выходов известных повреждений.

К биологически значимым повреждениям ДНК относят одиночные и двойные разрывы при γ -облучении образования циклобутановых димеров в случае УФ-облучения, сшивки «белок — ДНК» при всех воздействиях. Считается, что последний вид повреждений хуже всего восстанавливается многочисленными системами ферментативной репарации клеток.

Из табл. 2 видно, что имеется много данных по индуцированным излучением окислению и другим превращениям белков и ДНК. Видно также, что во многих случаях количественные данные отсутствуют. Это пока не дает возможности создания относительно полной картины превращений.

III. КОНСТАНТЫ СКОРОСТИ ВОЗМОЖНЫХ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ С УЧАСТИЕМ БИОПОЛИМЕРОВ

Величины констант скорости свободнорадикальных превращений получают с помощью импульсных методов или рассчитывают из зависимостей скорости процесса от концентрации субстрата, кислорода, добавок различных акцепторов. Следует отметить, что само понятие константы скорости для реакций с участием макромолекул белков и ДНК достаточно условно. Величина эффективной константы скорости реакции макромолекулы с какой-либо частицей включает в себя сумму парциальных констант скорости реакций отдельных групп полимера с этими частицами.

Таблица 3

Оценки величин констант скорости реакций активных продуктов радиолиза и фотолиза с белками, ДНК, липидами, цистеамином, фенольными ингибиторами свободнорадикальных процессов, радиосенсибилизаторами из класса нитросоединений и кислородом, л/моль·с [11,12,25,26,31,32,37]

Вещество	·e	·OH	·O ₂	·O ₂
Белки	5·10 ¹⁰	(1—6)·10 ¹⁰	<10 ³	10 ⁸ —10 ¹⁰
ДНК	2·10 ¹⁰	(1—6)·10 ¹⁰	<10 ³	<10 ⁴
Липиды	10 ⁶	10 ⁷	<10 ³	10 ³ —10 ⁵
Цистеамин	2·10 ¹⁰	2·10 ¹⁰	10 ⁶	—
Фенолы	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ⁶ —10 ⁷	10 ⁵ —10 ⁷
Нитросоединения	2·10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁷ —10 ⁹	—
Кислород	2·10 ¹⁰	4·10 ⁹ *	—	—

* При pH 11.

ми. Для молекул ДНК константы скорости рассчитывают либо на концентрацию мономерных единиц, либо на какой-либо фрагмент макромолекулы, либо на всю полимерную молекулу — в литературе используют все эти возможности и необходим пересчет данных.

Существенным является наличие больших погрешностей расчета констант с использованием достаточно сложных кинетических схем при неполном учете конкурентных реакций. В общем случае, значения многих констант скорости справедливы в пределах порядка величины. Ниже, в таблицах приводятся усредненные значения констант скорости для белков, ДНК, липидов и других веществ, заимствованные и пересчитанные из обзорных работ, цитированных в предыдущих разделах. Предпочтение отдавалось данным, полученным из концентрационных зависимостей. В случае белков приводятся данные для «среднего» белка с молекулярной массой $(2—4) \cdot 10^4$, для ДНК приведены данные для молекул с массой $4 \cdot 10^4$, следует отметить, что величины констант скорости близки к диффузионным и мало меняются с молекулярным весом. Сложнее обстоит дело с липидами мембран, в состав которых входят сотни разнообразных химических соединений: фосфоглицериды, гликолипиды, холестерин. Для них приводятся данные по наиболее реакционноспособным ненасыщенным липидам.

В табл. 3 приведены оценки констант скорости бимолекулярных реакций активных продуктов радиолиза воды и синглетного кислорода с белками, ДНК, липидами, одним из известных радиопротектором — цистеамином, с фенольными ингибиторами свободнорадикальных процессов, с типичными нитросоединениями — радиосенсибилизаторами и кислородом. Константы пересчитаны к 25° С. Видно, что гидратированный электрон и гидроксильный радикал эффективно взаимодействуют со всеми перечисленными веществами, константы скорости наибольшие у белков и наименьшие у липидов, анион-радикал O_2^- существенно менее реакционноспособен, с не содержащими атомов металлов белками он реагирует неохотно, в случае железо- и медьсодержащих белков константы скорости достигают 10^7 л/моль·с. Эффективно реагируют с супероксидом цистеамин, фенолы, нитросоединения. Синглетный кислород наиболее быстро реагирует с белками, фенолами, его реакции с ДНК, липидами мало эффективны.

В сложной многокомпонентной системе первичные повреждения, вызванные как продуктами радиолиза воды, так и прямым действием квантов и заряженных частиц ведут к вторичным реакциям, как внутри-, так и межмолекулярным. Происходят многочисленные превращения свободных радикалов, перераспределение начальных дефектов по разным компонентам. Для того, чтобы представить себе картину перераспределения повреждений, необходимы данные о взаимодействии большинства

Таблица 4

Значения (оценочные) констант скорости различных свободных радикалов и пероксидов с некоторыми веществами (л/моль·с) [11, 14, 22, 25, 37, 38]

Вещество	\dot{R}_B	\dot{R}_D	\dot{R}	$R\dot{O}_2$	\dot{R}_H	Π_1	Π_2
Белки	10^6-10^8	10^6-10^8	10^8-10^{10}	$10^{-1}-10^3$	10^9	$10^{-3}-10^{-2}$	—
ДНК	10^3-10^4	10^3-10^4	10^3-10^4	$10^{-2}-10^1$	10^{10}	—	—
Липиды	$<10^3$	$<10^3$	10^6-10^7	$10^{-2}-10^1$	—	—	—
Протекторы	10^7-10^8	10^7-10^8	10^7-10^8	—	—	$1-10$	—
Фенолы	10^4-10^6	10^4-10^6	10^5-10^7	10^4-10^6	—	$0,1-5$	—
Нитросоединения	10^9	10^{10}	10^7-10^8	—	—	—	—
Кислород	10^8-10^9	10^8-10^9	10^6-10^9	—	—	—	—
k	10^1-10^4	10^3-10^6	10^6-10^8	10^1-10^8	10^6-10^8	$10^{-1}-10^{-5}$	$10^{-1}-10^{-5}$

Обозначения: \dot{R} — низкомолекулярные органические радикалы; $R\dot{O}_2$ — перекисные радикалы; \dot{R}_H — свободные радикалы сенсибилизаторов; Π_1 — пероксиды белков; Π_2 — пероксиды ДНК; k — константы скорости гибели соответствующих радикалов в реакциях первого или второго порядка, с^{-1} .

видов свободных радикалов между собой, а также об их реакциях с компонентами клетки.

В табл. 4 приведены значения констант скорости реакций свободных радикалов белков, ДНК, липидов, перекисных радикалов, перекисей белков и ДНК с различными веществами. Представлены оценочные значения констант скорости, полученных, как правило, методами конкурентной кинетики. Широкий диапазон изменений этих величин обусловлен различной химической природой радикалов. Высокой реакционной способностью по отношению ко всем активным частицам обладают белки, цистеамин, ингибиторы, нитроароматические соединения, кислород. Взаимодействие липидов и ДНК с разными радикалами характеризуется более низкими значениями констант скорости. Видно также, что практически отсутствуют данные по реакциям пероксидов белка и ДНК. Значения констант скорости будут далее использованы в гл. VIII при рассмотрении формальной кинетики перераспределения повреждений в системах «белок — ДНК», «белок — липиды».

IV. КИНЕТИКА РЕАКЦИЙ СВОБОДНЫХ МАКРОРАДИКАЛОВ В РАСТВОРЕ

Имеется обширная литература по реакциям и превращениям свободных радикалов, аналогичных тем, что образуются в белках и нуклеиновых кислотах [55, 60, 63, 67]. Это прежде всего реакция отрыва атома водорода, за счет которой возможно перемещение свободной валентности «внутри» белковой глобулы или двойной спирали ДНК. Вероятно, реакции такого типа обеспечивают защиту макромолекул протекторами типа цистеин и цистеамин. Далее свободные радикалы могут присоединяться к молекулам с двойными связями, к ароматическим группам. Помимо этого свободные радикалы могут претерпевать реакции распада и изомеризации, рекомбинации и диспропорционирования. Наконец, отметим еще окислительно-восстановительные реакции, например с ионами металлов переменной валентности.

Макромолекулы белков и нуклеиновых кислот можно рассматривать как миниатюрные химические реакторы со сложной геометрией и внутренней динамикой, в которых происходят быстрые свободнорадикальные превращения. Скорости этих превращений лимитируются, с одной стороны, реакционной способностью тех или иных радикалов по отношению к близлежащим группам, а, с другой стороны, быстрыми и медленными движениями «внутри» макромолекулы.

Основная часть данных о реакциях и превращениях свободных радикалов белков и нуклеиновых кислот получена в опытах с применением метода ЭПР на сухих образцах и замороженных растворах при низких температурах. Оценить кинетические характеристики поведения ради-

калов в растворах на основании данных по радиолизу и фотолизу в твердой фазе нельзя. Это связано со своеобразием процессов накопления и гибели макрорадикалов в твердых образцах, когда кинетические кривые не могут быть описаны в рамках обычных представлений о реакциях в жидкой и газовой фазе и приходится вводить понятия полихроматичности констант скорости, функций распределения величин констант скорости и энергий активации; для твердой фазы характерно неравномерное распределение радикалов и протекание реакций при температурах структурных переходов в матрицах [55, 60, 63, 67, 72–76].

Для водных растворов белков методами ЭПР, импульсного радиолиза и фотолиза получены некоторые данные о кинетике накопления и гибели белковых свободных радикалов. Основная трудность в сопоставлении данных, полученных разными методами, состоит в том, что методом ЭПР регистрируются видимо почти все радикалы, за исключением тех, которые дают широкие линии, а с помощью импульсного фотолиза и радиолиза лишь те, которые дают полосы поглощения вне области поглощения макромолекул, т. е. выше 300 нм. В основном, это цистинильные и триптофанильные свободные радикалы.

В работах [77–80] получены кинетические кривые накопления и гибели свободных радикалов белков при УФ-облучении их растворов. Оказалось, что имеется две стадии гибели свободных радикалов: одна быстрая с временами 10^{-2} – 10^{-1} с, а вторая — медленная — 1–20 с. Использование свободных радикалов формально следует кинетическим уравнениям реакций первого порядка, бимолекулярных составляющих не выявлено. Для сывороточного альбумина показано, что константа скорости медленной стадии слабо зависит от температуры при ее изменении от 10 до 40° С. Характеристики гибели свободных радикалов не сильно отличаются для разных белков. Оказалось, что вклад медленной составляющей пропорционален содержанию альфа-спирали в белках, что позволило использовать эту корреляцию для определения содержания спирали в ряде белоксодержащих объектов [80]. Из данных работ [77–80] следует также, что кинетика накопления свободных радикалов более быстрая, чем кинетика гибели; практически не проявляется медленная составляющая. Это служит прямым указанием на то, что происходит эффективный процесс гибели радикалов под действием облучения.

В работе [81] методом импульсного радиолиза изучена кинетика гибели свободных радикалов в растворах яичного альбумина. Кинетические кривые исчезновения свободных радикалов описываются набором экспоненциальных составляющих со значениями эффективных констант скорости 440, 8 и 0,4 с⁻¹, если опыты проводили при насыщении раствора N₂O (реагируют гидроксильные радикалы) и примерно такими же значениями при облучении в атмосфере азота. Аналогичные результаты получены и для других белков [82–91].

Временной масштаб превращений свободных радикалов ДНК в растворе при комнатной температуре весьма широк — от микросекунд до секунд [65, 92]. Представляет интерес работа [92] по высвобождению ионов K⁺ и H⁺ при облучении калиевой соли полиуридиловой кислоты в растворе. Этот эффект трактуется как разрыв цепи поли-У, вызывающий увеличение степени диссоциации. Методом импульсного радиолиза с измерением проводимости было выяснено, что кинетика высвобождения ионов описывается уравнением реакций первого порядка с константой скорости 0,8 с⁻¹. Предполагается, что разрывы в поли-У образуются в результате распада радикалов поли-У, образующимися при атаке полимера гидроксильными радикалами. Сам факт гибели макрорадикалов в реакциях первого а не второго порядка не очень удивителен, аналогичные эффекты наблюдались и в других системах. Вероятно, свободная валентность «движется» по макромолекуле, оставляя за собой шлейф превращений и продолжительность этого движения является лимитирующей. Далее, имеются две возможности: либо происходит реакция между двумя макрорадикалами, либо от макрорадикала вначале отщепляется низкомолекулярный радикал, который реагирует с полимерным

радикалом. Несложно показать, что требуемая константа скорости диспропорционирования должна быть не меньше 10^7 — 10^{10} л/моль·с, только в этом случае удается объяснить экспоненциальный характер гибели свободных радикалов. В работе [91] методом импульсного радиолиза (регистрация светорассеивания) получены данные об образовании димеров лизоцима при облучении, величина константы скорости димеризации составила 10^6 л/моль·с. Если принять, что образование димеров является результатом рекомбинации макрорадикалов лизоцима, то эту величину следует считать нижней границей величин констант скорости рекомбинации макрорадикалов. Эта величина достаточна, чтобы объяснить наличие медленных составляющих и мала для объяснения быстрых экспоненциальных составляющих. Вероятнее всего происходит распад макрорадикалов с отщеплением низкомолекулярных радикалов и перекрестное диспропорционирование их. В случае перекисных макрорадикалов возможен их распад с образованием O_2^- .

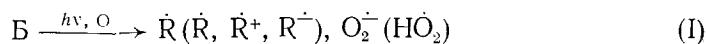
Есть еще одно объяснение экспоненциальных кинетических кривых гибели радикалов — это образование сразу пары радикалов на одной макромолекуле на достаточно близком расстоянии, возможно такая ситуация имеет место при УФ-облучении белков.

При наличии кислорода в системе образуются перекисные макрорадикалы, прямыми методами исследовать их сложно, но имеется обширная литература по реакциям и превращениям низкомолекулярных перекисных радикалов, близким по структуре радикалам групп белка и ДНК (см. например [25, 60]).

Построение возможного механизма процессов окисления преследует цели количественного или хотя бы полукачественного описания экспериментальных данных в рамках упрощенной кинетической схемы. Предложенные схемы должны объяснить величины выходов окисления и образования продуктов, кинетику разрушения групп макромолекул и накопления продуктов модификации. Получаемые формулы должны соответствовать зависимостям скорости окисления от мощности дозы, температуры, концентрации окисляемого субстрата, кислорода, различных добавок, рН, ионной силы, вязкости и т. д.

Ниже приведена упрощенная кинетическая схема вторичных свободно-радикальных превращений с участием биомакромолекул [78—98].

Схема 1



Здесь Б — биомакромолекула; $\dot{\text{R}}$ — обобщенное написание многих видов макрорадикалов; $\text{R}\dot{\text{O}}_2$ — перекисные макрорадикалы; Π — стабильные или лабильные перекиси; P_i — обобщенное написание продуктов превращений.

В рассматриваемой кинетической схеме реакция (I) представляет собой первичные процессы образования в системе свободных радикалов разных типов и анион-радикала O_2^- . Реакции (II) и (III) — конкурентные реакции свободных макрорадикалов, перекисные макрорадикалы образуются в реакции (III). Реакция (IV) — перекрестное диспропорционирование перекисных и супероксидных радикалов. Следует отметить, что участие O_2^- в процессах радиационного и фотоокисления пептидов и белков выявлено путем добавления супероксиддисмутазы, которая катализирует реакцию $O_2^- + O_2^- \xrightarrow{2H^+} H_2O_2 + O_2$ [93, 94]. Константа скорости реакции (IV) составляет около 10^9 л/моль·с. Процесс дополнительного образования супероксидов, реакция (V), предложен для объяснения данных по радиационному окислению белков и ДНК [36, 37]. Реакции (VI) и (VII) — обычные реакции диспропорционирования радикалов. Реакция (VIII) введена для объяснения относительно высоких выходов поглощения кислорода, которые превышают выходы образования радикалов при взаимодействии белков и ДНК с гидроксильными радикалами. Предполагается, что эта реакция протекает по внутримолекулярному механизму. Возможны реакции (IX) и (X). Следует отметить, что реакция (IX) может идти и при недостатке кислорода. Наконец, перекиси, образующиеся в реакции (IV), могут распадаться с образованием разнообразных продуктов.

Скорости радиационного окисления белков и ДНК слабо зависят от температуры, что соответствует схеме 1, так как лишь реакция (VIII) может иметь энергию активации более 10 ккал/моль, а остальные реакции характеризуются меньшими значениями энергии активации. В рамках схемы 1 выход перекисей и поглощения кислорода должен незначительно зависеть от мощности дозы облучения и определяться конкуренцией реакций (IV) и (VII), что и наблюдается в эксперименте [14, 38, 76, 83, 93—98].

Для многих объектов (сывороточные альбумины, трипсин, глицилтриптофан) зависимость скорости фотоокисления и радиационного окисления от концентрации кислорода описывается формулой [95—98]:

$$y = \frac{\omega}{\omega_{p=1}} = \frac{p(a_1 + 1)}{a_1 + p} \quad (1)$$

где ω — скорость окисления при некоторой данной концентрации кислорода, $\omega_{p=1}$ — скорость окисления на воздухе, p — относительная концентрация кислорода, a_1 — параметр, значение которого лежит в пределах 0,01—0,1. В рамках схемы 1 значение этого параметра равно:

$$a_1 = \frac{k_1}{k_2 O_2^{\text{возд}}}$$

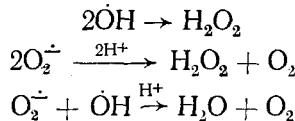
Если принять, что $k_1 = 10^3$ с⁻¹ и $k_2 = 10^8$ л/моль·с (см. табл. 4), а концентрация кислорода в воде на воздухе при 25°C составляет 2,6·10⁻⁴ моль/л, то расчетное значение параметра a_1 составит 0,04, что сравнимо с экспериментом [95—98].

V. ПЕРВИЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ОКИСЛЕНИИ

Образование гидроксильного радикала, гидратированного электрона и атома водорода при действии ионизирующего излучения на воду является результатом ряда физических и химических процессов, которые мы здесь не рассматриваем. Первоначально свободные радикалы образуются в треках, шпурах, блоках и распределение их крайне неравномерно по объему, эту неравномерность, негомогенность инициирования следовало бы как то учитывать, однако в нашем распоряжении нет таких экспериментальных данных. Поэтому примем, что образование активных продуктов радиолиза воды происходит достаточно равномерно.

В гл. III были приведены значения констант скорости реакций макромолекул с \bar{H} , \bar{OH} , \bar{e} — они близки к диффузионным. Это реально оз-

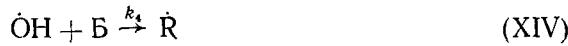
начает, что при концентрациях белков и ДНК порядка 10^{-4} моль/л активные продукты радиолиза будут перехвачены этими субстратами; при концентрациях порядка 10^{-5} моль/л нет смысла учитывать перекрестные реакции продуктов радиолиза с макрорадикалами, ибо скорости их реакций с биополимерами будут много выше. В присутствии кислорода гидратированный электрон и атом водорода не участвуют в процессе окисления, активными остаются супероксиды и гидроксильные радикалы:



Несложно показать, что наибольший вклад в гибель гидроксильных радикалов вносит третья реакция. Для упрощения кинетических расчетов имело смысл формально ввести реакцию линейной гибели гидроксильных радикалов (реакция (XIII)), которые гибнут как в упомянутых выше реакциях, так и при взаимодействии с примесями.

С учетом этих соображений, ниже приведена упрощенная схема первичных процессов образования макрорадикалов при действии излучений на биополимеры (Б) [92—103].

Схема 2



При достаточно большой концентрации кислорода реакцию (XV) можно не учитывать и для зависимости относительной скорости окисления (z) от концентрации окисляемого вещества (c) получим выражение:

$$z = \frac{\omega}{\omega_{\infty}} = \frac{c}{a_2 + c} \quad (2)$$

где $a_2 = k_3/k_4$, ω — скорость окисления, ω_{∞} — скорость окисления при $c \rightarrow \infty$. Зависимости такого типа известны давно [99]. Они удовлетворительно описывают концентрационные зависимости для многих низкомолекулярных веществ, синтетических и природных полимеров в том числе белков и ДНК. В связи с тем, что константа скорости k_3 не является элементарной, зависимости типа (2) не несут существенной информации о процессе окисления, интерес представляют отклонения от этой зависимости в случае радиолиза аминокислот, сахаров и др. веществ [100, 101].

Своебордные зависимости гаммахемилюминесценции растворов глицилтриптофана от концентрации пептида и кислорода вынудило ввести в рассмотрение гипотетическую частицу HO_3 [96] — кислого аналога озонид-иона O_3^{\cdot} .

Изучено влияние сотен веществ на радиационные превращения белков и нуклеиновых кислот. Такие работы преследовали, в основном, две цели — выяснение механизмов радиационных превращений макромолекул и создание производительных тестов для предварительного испытания и отбора потенциальных протекторов и сенсибилизаторов. Введение четвертого начального компонента в систему, содержащую воду, полимер и кислород сильно усложняет эту систему и затрудняет возможность описания экспериментальных данных в рамках простых кинетических схем. В ряде случаев такой учет оказался возможным. Введенный

акцептор может взаимодействовать со всеми видами активных частиц, участвующих в радиационном окислении: активными продуктами радиолиза воды, свободными радикалами биополимера, перекисными радикалами, перекисями; при реакциях акцептора в системе возникают новые свободные радикалы акцептора, которые также могут реагировать с макромолекулами. Введение акцептора (A) влечет за собой целый набор реакций:



Все эти реакции в той или иной степени тормозят радиационное окисление белков и нуклеиновых кислот. Естественно, что наибольший вклад в защиту вносят реакции (а) и (г). По такому механизму действует ряд протекторов типа цистеамина, цистеина, константы скорости, их реакций со всеми видами активных частиц достаточно велики и эти вещества дают малоактивные свободные радикалы [102].

Свободные радикалы акцептора $\dot{\text{R}}_{\text{A}}$ при достаточных концентрациях биополимеров реагируют с ними с образованием макрорадикалов:



где P_{A} — продукты превращений акцептора.

Возможна конкурентная реакция:



Судя по имеющимся данным [97, 102, 103] такие эффекты защиты со скрытой сенсибилизацией наблюдались для растворов биополимеров и даже для живых клеток при введении спиртов и других веществ, эффективно реагирующих с гидроксильными радикалами с образованием достаточно активных свободных радикалов акцепторов. Константы скорости реакций спиртовых радикалов с белками близки к диффузионным [103], причем наиболее реакционноспособны окси-радикалы; наблюдаются необычные для реакций свободных радикалов эффекты: чем более гидрофобен спиртовый радикал, тем он легче проникает в гидрофобные «щели» макромолекул белка.

Эффекты явной радиосенсибилизации наблюдались на белках, нуклеиновых кислотах, целых клетках [5, 6, 11, 12]. Как правило, сенсибилизирующим действием обладают вещества, имеющие высокие значения констант скорости реакций с гидратированными электронами. Предложено несколько путей сенсибилизации, простейший из них — образование анион-радикала акцептора по реакции (б) и образование макрорадикала в реакции с биополимерами:



Конкурентных путей гибели анион-радикалов акцепторов много — это и реакция с кислородом, и диспропорционирование и т. д.

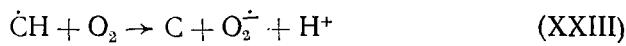
VI. КИНЕТИЧЕСКАЯ СХЕМА СЕНСИБИЛИЗИРОВАННОГО ФОТООКИСЛЕНИЯ

В последнее время оживились исследования деструктивного действия «ближнего» УФ- и видимого света на живые организмы, появилась проблема защиты и профилактики от таких повреждений [114, 104].

При действии света на растворы сенсибилизаторов идут многочисленные реакции их электронно-возбужденных состояний, свободных ра-

дикалов, ион-радикалов, перекисей в присутствии кислорода, приводящих к деструкции молекул сенсибилизаторов. Естественно, что механизмы сенсибилизации много. В работах [105, 106] обнаружен триплет-триплетный перенос энергии с ацетона, ацетофенона и бензофенона на основания ДНК, при этом происходило образование циклобутановых димеров, а также наблюдалась разрывы цепи ДНК. В присутствии кислорода количество димеров уменьшалось, а число разрывов возрастало. В случае фотоокисления такой путь сенсибилизации, вероятно, достаточно редок. Здесь мы рассмотрим возможный, весьма упрощенный механизм фотоокисления макромолекул. Ниже приведена вероятная кинетическая схема первичных процессов

Схема 3



где С молекула сенсибилизатора в основном состоянии, 3C — триплетное электронно-возбужденное состояние сенсибилизатора. Триплетные состояния сенсибилизатора могут тушиться физически в реакциях (XVIII)–(XXI), наиболее важной является реакция (XX) — образование синглетного кислорода. Реакция (XXII) — образование свободных радикалов макромолекул по механизму дегидрирования или переноса заряда, (XXIII) — регенерация сенсибилизатора. Реакция (XXIV) — дезактивация синглетного кислорода, (XXV) — присоединение синглетного кислорода к макромолекуле. На основании кинетической схемы 3, при условии квазистационарности по концентрации всех видов активных частиц получено выражение для скорости окисления ω :

$$\omega = \frac{a_0 \omega_T c p (a_3 + a_4 p + c + a_7)}{(a_1 + p) (a_3 + c) (a_5 p + c + a_6)}$$

где ω_T — скорость образования триплетных возбужденных состояний сенсибилизатора

$$\begin{aligned} a_0 &= \frac{k_9}{k_8 + k_9}, \quad a_3 = \frac{k_{10}}{k_{11}}, \quad a_4 = \frac{k_7 O_2^{\text{возд}}}{k_9}, \\ a_5 &= \frac{(k_8 + k_7) O_2^{\text{возд}}}{k_8 + k_9}, \quad a_6 = \frac{k_5}{k_8 + k_9} \quad \text{и} \quad a_7 = \frac{k_1 k_7}{k_2 k_9} \end{aligned}$$

При достаточно большом содержании кислорода ($p > 0,1$) слагаемым a_1 можно пренебречь, видимо и параметром a_7 можно пренебречь, что ведет к упрощению формул. Рассмотрим частные случаи. При большой концентрации кислорода, зависимость относительной скорости от концентрации макромолекул составит:

$$z = \frac{c}{a_3 + c} \quad (3)$$

Такого типа зависимости наблюдали для многих систем: глицилтрипто-

Таблица 5

Значения констант скорости и их отношений для реакций сенсибилизированного фотоокисления ряда веществ, константы рассчитаны в рамках кинетических схем 1 и 3 по данным [98, 107—112]

Вещество	Сенсибилизатор	$10^{-9} \cdot k_{11}$, л/моль·с	$10^{-9} \cdot (k_8 + k_9)$, л/моль·с	$\frac{k_8 + k_7}{k_8 + k_9}$	k_7/k_8
Глицилтриптофан	эозин	1,1	1	27	6,2
	уранин	1,2	—	—	—
	псорален	4,1	—	—	—
	»	никотиновая кислота	1	—	—
	»	ацетон	—	1	8,6
Трипсин	эозин	8,6	3	1	3,8
	уранин	8	—	—	—
	ретиналь	6,4	—	—	—
Сывороточный альбумин человека	эозин	21	—	—	—
	рибофлавин	—	4,8	0,54	—
Бычий сывороточный альбумин	А Н С	—	4	0,75	—

фана в присутствии ксантеновых красителей, псоралена и других сенсибилизаторов, трипсина при сенсибилизации эозином, ретиналем [107—112].

При отсутствии генерации синглетного кислорода концентрационная зависимость упрощается:

$$z = \frac{c}{a_5 p + a_6 + c} \quad (4)$$

Можно полагать, что такая зависимость реализуется для систем глицилтриптофан — кетоны, сывороточный альбумин человека — рибофлавин, бычий сывороточный альбумин — АНО¹ [107, 111].

Зависимость относительной скорости окисления от относительной концентрации кислорода имеет не простой вид:

$$y = \frac{a_6 + a_5 + c}{a_5 p + a_6 + c} \cdot \frac{a_3 + a_4 p + c}{a_3 + a_4 + c} \quad (5)$$

Для экспериментального подтверждения зависимости такого типа необходимы многочисленные данные при широком варьировании концентраций окисляемого субстрата и кислорода. Такие исследования проведены на двух системах: глицилтриптофан — эозин и трипсин — эозин [108, 110]. Насколько нам известно, на ДНК такие исследования еще не проведены. Наконец, при малом вкладе синглетного кислорода в фотоокисление зависимость от концентрации кислорода будет выглядеть так:

$$y = \frac{a_6 + a_5 + c}{a_5 p + a_6 + c} \quad (6)$$

Из формулы (6) видно, что относительная скорость фотоокисления падает с ростом концентрации кислорода. Такая зависимость наблюдалась для системы сывороточный альбумин человека — рибофлавин [107]. На основании приведенных выше экспериментальных данных определены значения параметров a_3 , a_4 и a_5 , что позволило оценить значения некоторых констант скорости и их отношений (табл. 5). Величины констант скорости реакций синглетного кислорода с рядом пептидов и белков близки к диффузионным. Тушение белками триплетных электронно-возбужденных состояний также весьма эффективно. Величина $(k_8 + k_7)/(k_8 + k_9)$ характеризует эффективность тушения триплетных возбужденных состояний сенсибилизаторов кислородом по отношению к тушению белками и пептидами; эта величина для белков порядка единицы. Величина k_7/k_8 характеризует относительную эффективность образования син-

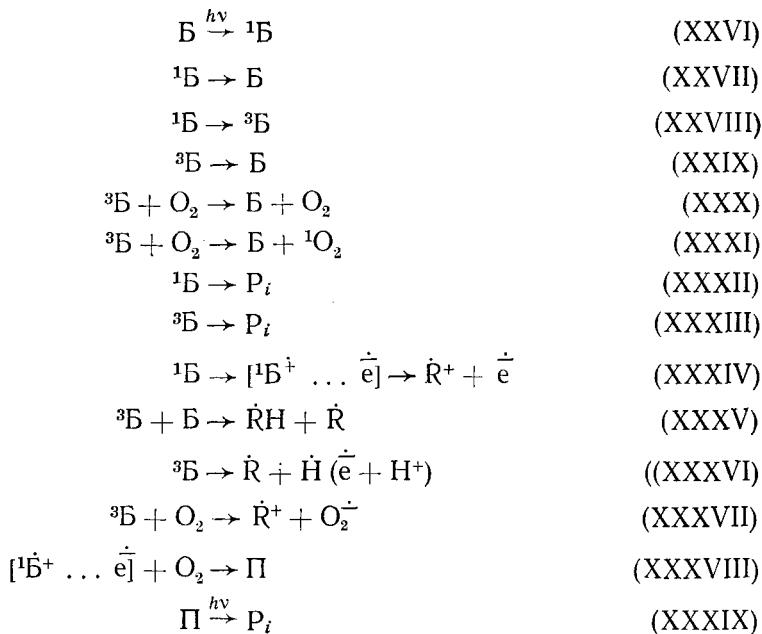
¹ АНС — анилиннафталинсульфонат.

глетного кислорода и его участия в окислении по отношению к образованию свободных радикалов белка; из табл. 5 видно, что преобладает путь с участием синглетного кислорода.

VII. ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА МАКРОМОЛЕКУЛЫ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ

Фотофизические процессы в белках изучены гораздо подробнее, чем в ДНК. Это связано с высокими выходами люминесценции в белках и незначительными у молекул ДНК. Непохожи и фотохимические реакции в этих системах. Если в случае белков образуются примерно такие же продукты, как и при действии ионизирующего излучения и фотоокисление идет с участием свободных радикалов, то основным продуктом фотопревращений ДНК являются циклобутановые димеры, а выходы остальных продуктов малы. Димеры достаточно легко ликвидируются системами ферментативной репарации, что в конечном итоге приводит к весьма высокой фотоустойчивости этой молекулы в составе живых клеток. Для появления фотобиологических эффектов нужны дозы УФ-света, по поглощенной ядрами клеток энергии, на 2–3 порядка больше, чем при действии ионизирующей радиации [14, 17, 100]. Ниже приведена упрощенная схема фотоокисления белков.

Схема 4



где (XXVI)–(XXXI) — обычные фотофизические реакции.

В белках основные хромофоры — триптофан, тирозин, фенилаланин; выходы флуоресценции этих молекул в нейтральных водных растворах составляют 23, 21 и 3,8%, времена жизни синглетных электронно-возбужденных состояний — 3,1, 3,3 и 5,3 нс соответственно [113–115]. Выходы флуоресценции у триптофансодержащих белков 1–30%, времена жизни синглетных электронно-возбужденных состояний составляет 1–6 нс, выход триплетных электронно-возбужденных состояний — до 10% [113, 114, 116–118]. При фотоокислении происходит поглощение кислорода с квантовым выходом 0,5–2%, разрушаются остатки триптофана с выходом 1–2%, происходит инактивация ферментов с выходами 0,1–3% [113–120].

Квантовый выход флуоресценции ДНК весьма мал (10^{-3} – 10^{-4} %), времена жизни синглетных электронно-возбужденных состояний составляют 1–5 пс [121]. Выход димеров достигает 4%, при лазерном облуче-

чении возрастает число одиночных разрывов и других дефектов [32, 122, 123]. Предполагается, что образование димеров может происходить с участием как синглетных, так и триплетных электронно-возбужденных состояний — реакций (XXXII) и (XXXIII). Вероятно, основная масса этих дефектов образуется с участием синглетных возбужденных состояний, ибо кислород не мешает димеризации. Для рассмотрения возможных процессов фотоокисления ДНК не хватает экспериментальных данных.

В случае белков, при облучении светом с длинами волн 260—300 нм главной реакцией принято считать реакцию фотоионизации с участием синглетных электронно-возбужденных состояний ароматических групп белка — реакция (XXXIV), которая включает в себя образование комплекса с частичным переносом заряда. Эта реакция идет по одноквантовому механизму в жидких водных растворах и двухквантовому в замороженных растворах [34, 113, 116—119, 124, 125].

В результате реакции (XXXIV) образуются катион-радикал и гидратированный электрон. В цитированной выше литературе рассматриваются и другие возможные реакции образования свободных радикалов.

Реакция (XXXV) — отрыв атомов водорода в реакциях триплетных возбужденных состояний ароматических групп белка с соседними группами в макромолекуле с образованием пары свободных радикалов, наконец, (XXXVI) — образование атомов водорода или фотоионизация с участием триплетных электронно-возбужденных состояний ароматики является процессом мало вероятным, эта реакция энергетически невыгодна.

Обычно принято считать, что реакция (XXXI) образования синглетного кислорода в случае белков малоэффективна, хотя доказательств тому не имеется, нам представляется, что вклад этой реакции в фотоокисление может оказаться существенным.

В построении механизма фотоокисления учитывают реакцию (XXXVII) — образование катион-радикала ароматических групп и супероксидного анион-радикала. Вероятно, эта реакция имеет место в случае фотоокисления свободного триптофана и пептидов, содержащих триптофан. Для выявления вклада супероксида, проведены опыты [93, 94] с добавлением супероксиддисмутазы при фотоокислении глицилтриптофана. Фермент резко тормозит образование нестойких перекисей, что свидетельствует о существенном вкладе супероксида в окисление. В случае белков, добавка фермента снижает выход перекисей лишь на 20—30%, т. е. O_2^- лишь частично выходит в объем, реализуется некий «скрыто-радикальный» механизм образования перекисей, возможно по реакции (XXXVIII). Кислород реагирует либо с комплексом в возбужденном состоянии, либо с группами белка в триплетном возбужденном состоянии прямо с образованием перекисей. В разбавленных растворах, при малой оптической плотности, нестойкие перекиси подвергаются фоторазложению (XXXIX).

Таким образом, рассмотрение вопросов действия УФ-облучения на белки и ДНК приводит к выводу о различных путях их превращений: в случае белков реализуется свободнорадикальный механизм образования повреждений, а для ДНК реакции свободных радикалов не имеют существенного значения.

VIII. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАЧАЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СИСТЕМАХ, СОДЕРЖАЩИХ ДНК, БЕЛКИ, ДРУГИЕ ВЕЩЕСТВА

Основной мишенью действия ионизирующих излучений на живые клетки являются ядра клеток, точнее — молекулы ДНК. Биохимический состав ядер клеток весьма разнообразен, их главный компонент — разнообразные белки. Соотношение белок: ДНК для разных клеток колеблется в широких пределах [126—128], в табл. 6 приведены эти данные. Белки выполняют разнообразные биохимические функции и являются

Таблица 6

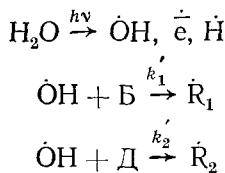
Значение радиационной устойчивости (y') ДНК в зависимости от отношения содержания «белок : ДНК» в ядрах клеток ряда органов и тканей [126—128]

Объект	Белок:ДНК	y'
Лимфоциты	2,8	3,1
Тимус	3	3,3
Костный мозг	3,3	3,5
Селезенка	6,3	7
Тонкая кишка	8,7	10
Легкое	11,2	14
Почка	16,7	24,8
Печень	23,4	42,5
Мозг	24,6	46
Сердце	55,6	188

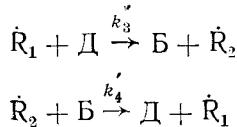
Примечание: величина y' рассчитана по формуле (8) для гомогенного раствора белка и ДНК в концентрациях, сравнимых с внутриядерными, за единицу принята устойчивость ДНК в отсутствии белка.

хорошими акцепторами всех видов активных частиц. В табл. 3 и 4 были приведены оценочные значения констант скорости различных реакций. И белки, и ДНК эффективно взаимодействуют с активными продуктами радиолиза воды, свободные радикалы ДНК могут реагировать с белками. Качественно понятно, что чем больше концентрация белков, тем меньше будут повреждены ДНК. Здесь сделана попытка оценить вклад белков в радиационную устойчивость ДНК.

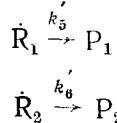
Рассмотрим упрощенную кинетическую схему процессов, происходящих в системе белок — ДНК при облучении в водном растворе. Будем учитывать лишь реакции гидроксильных радикалов с макромолекулами и ДНК:



где $\dot{\text{R}}_1$ и $\dot{\text{R}}_2$ — свободные радикалы белка и ДНК соответственно. Макрорадикалы могут вступать в многочисленные реакции, в том числе:



Наконец, гибель радикалов, приводящая к химической модификации:



где P_1 и P_2 — продукты модификации.

Вклад реакции с k_3' в деструкцию ДНК вряд ли может быть большим, ибо свободные радикалы белков не очень реакционноспособны и абсолютная концентрация ДНК в ядре невелика. При условии квазистационарности по концентрациям всех активных частиц скорость деструкции ДНК ($\omega_{\text{Д}}$) равна:

$$\omega_{\text{Д}} = \frac{k_2' k_6' [\text{Д}] \omega}{(k_6' + k_4' [\text{Б}]) (k_1' [\text{Б}] + k_2' [\text{Д}])}$$

Таблица 7

Средние значения концентраций (c) и эффективные значения констант скорости первого порядка (k) реакций компонент ядер и мембран клеток с синглетным кислородом

Вещество	c , моль/л	k , с^{-1}
Белки ядер	$3 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^6 - 3 \cdot 10^7$
ДНК ядер	$4 \cdot 10^{-4}$	4
Белки мембран	10^{-2}	$10^7 - 10^9$
Липиды мембран	1	$10^3 - 10^5$
Ингибиторы типа токоферола	10^{-3}	$10^2 - 10^4$

Примечание: k — произведение константы скорости реакции вещества с синглетным кислородом на его концентрацию (см. табл. 3).

где ω — скорость образования гидроксильных радикалов. Введем переменную $x' = [\text{Б}]/[\text{Д}]$ и для относительной радиоустойчивости ДНК (y') получим уравнение:

$$y' = \frac{\omega}{\omega_{\text{Д}}} = (a'_1 x' + 1)(a'_2 x' + 1) \quad (7)$$

где

$$a'_1 = \frac{k'_1}{k'_2} \quad a'_2 = \frac{k'_4 [\text{Д}]}{k'_8}$$

Значения параметров оценены из значений констант скорости (табл. 3 и 4) и концентрации ДНК (около $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Величина a'_1 варьирует в пределах 0,1—1, a'_2 — 0,05—0,2. Если принять $a'_1 = 0,5$ и $a'_2 = 0,1$, то из формулы (7) получим:

$$y' = (0,5 x' + 1)(0,1 x' + 1) \quad (8)$$

В табл. 6 приведены результаты расчета по формуле (8), видно, что с ростом отношения белок: ДНК устойчивость ДНК резко возрастает, по радиобиологическим данным примерно в таком же ряду возрастает устойчивость клеток [4, 18, 21, 25].

При введении в систему известного протектора цистеамина (табл. 3 и 4) включаются его конкурентные реакции с гидроксильными радикалами и свободными радикалами ДНК. Достаточно эффективная защита может быть осуществлена при концентрациях протектора порядка 10^{-3} моль/л, что сравнимо с концентрациями, дающими эффект в радиобиологическом эксперименте [129]. Естественно, что формально-кинетические результаты дают возможность оценить степень первичной защиты ДНК белком в растворе и не могут претендовать на объяснение сложных конечных биологических результатов действия излучений.

В табл. 3 приведены некоторые данные по реакциям синглетного кислорода, что дает возможность дать грубую оценку перераспределения повреждений в многокомпонентных системах при сенсибилизированном фотоокислении с его участием. В табл. 7 приведены такие оценки для компонент ядер и мембран клеток. Из табл. видно, что эффективные константы скорости первого порядка реакций компонент клетки с ${}^1\text{O}_2$ для белков на несколько порядков превышают такие для остальных компонент, т. е. главной мишенью являются белки.

* * *

Данные о механизмах действия излучений на белки и нуклеиновые кислоты представляют существенный интерес с точки зрения управления биологическими последствиями таких воздействий на первичных физико-химических стадиях образования начальных повреждений. Из приведенных результатов видно, что в радиационных и фото-превращениях биополимеров участвуют многочисленные промежуточные продукты —

электронно-возбужденные состояния, ион-радикалы, свободные радикалы, перекисные радикалы, пероксиды, как это и предполагал Н. М. Эмануэль в 50 годах. В ряде случаев экспериментальные данные можно описать в рамках упрощенных кинетических механизмов с участием небольшого числа активных частиц. Кинетические расчеты показывают также, что повреждение «главной» молекулы ДНК может быть сильно уменьшено в присутствии белков — основного компонента ядер клеток.

Сложность состава и структуры белков и нуклеиновых кислот не позволяет выявить всех реакций, приводящих к химической модификации первичной структуры биомакромолекул, большинство предложенных механизмов носит вероятностный характер. Все это свидетельствует о необходимости дальнейших исследований этих объектов с применением современных методов регистрации промежуточных и конечных продуктов превращений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эмануэль Н. М. В сб.: Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. М.: Наука, 1972, с. 54.
2. Эмануэль Н. М., Бурлакова Е. Б., Круглякова К. Е., Сапежинский И. И. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1966, с. 183.
3. Тарусов Б. Н. Первичные процессы лучевого поражения. М.: Госатомиздат, 1962, 96 с.
4. Кузин А. М. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии. М.: Наука, 1970, 221 с.
5. Окада М. Радиационная биохимия клетки. М.: Мир, 1974.
6. Бурлакова Е. Б., Алексенко А. В., Молочкова Е. М., Пальмина Н. П., Храпова Н. Г. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975, 211 с.
7. Patrick M., Rahn R. Photochem. Photobiol. Nucl. Acids, 1976, v. 2, p. 35.
8. Андреанов В. Г., Ахрем А. А., Писаревский А. Н., Спилковский Д. М. Радиационная биофизика ДНК хроматина. М.: Атомиздат, 1976, 250 с.
9. A General Discussion on Radiation Effects in Liquids and Solids. Faraday Discuss. Chem. Soc., 1977, № 63, p. 7.
10. Peil A. In: Diskretilität und Stetigkeit Lebensprozess. Berlin, 1977, S. 194.
11. Амиррагова М. И. В кн.: Пределы модифицируемости лучевого поражения. М.: Атомиздат, 1978, с. 4.
12. Радиационное поражение и восстановление структур и функций макромолекул. М.: Медицина, 1977, 280 с.
13. Effect of Ionizing Radiation on DNA/Ed. by Hütteman J., Köhnlein W., Teoule R. Berlin — Heidelberg — New York: Springer-Verlag, 1978.
14. Фотобиология животной клетки. Л.: Наука, 1979, 269 с.
15. Tobias C. A. Bull. Amer. Phys. Soc., 1978, v. 23, p. 222.
16. Павловская Т. Е., Харченко Л. И. Информ. бюл. Науч. совета по пробл. радиобиол. АН СССР, 1979, № 22, с. 71.
17. Савич А. В. В кн.: Пределы модифицируемости лучевого поражения. М.: Атомиздат, 1978, с. 34.
18. Современные вопросы радиобиологии/Под ред. Кудряшова Ю. Б. М.: Наука, 1980, 88 с.
19. Bernhard W. A. Radiat. Res., 1982, v. 91, № 2, p. 372.
20. Рябченко М. И. Радиация и ДНК. М.: Атомиздат, 1979, 192 с.
21. Кудряшов Ю. Б. Механизмы природной радиочувствительности и радиорезистентности. М.: Изд. МГУ, 1980, 32 с.
22. Шарпайт В. А. Радиационная химия биополимеров. М.: Энергоиздат, 1981, 168 с.
23. Комар В. Е., Хансон К. П. Информационные молекулы при лучевом поражении клетки. М.: Атомиздат, 1980, 175 с.
24. Fremuth F. Učinky zaření a chemických látek na bunky a organismus. Praha: SPN, 1981, 267 s.
25. Тимофеев-Ресовский Н. В., Савич А. В., Тальнов М. И. Введение в молекулярную радиобиологию. М.: Медицина, 1981, 320 с.
26. Амиррагова М. И., Савич А. В. Информ. бюл. Науч. совета по пробл. радиобиол. АН СССР, 1979, № 22, с. 62.
27. Garrison W. M. Radiat. Eff., 1981, v. 54, p. 29.
28. Кудряшов Ю. Б., Беренфельд Б. С. Основы радиационной биофизики. М.: Изд. МГУ, 1982, 304 с.
29. Singh A., Singh H. Progr. Biophys. and Mol. Biol., 1982, v. 39, p. 69.
30. Кузин А. М., Копылов В. А. Радиотоксины. М.: Наука, 1983, 174 с.
31. Shitczyk O. Photochem. Photobiol., 1984, v. 4, p. 507.
32. Zavilgelsky G., Gurzadyan G., Nikogosyan D. Photobiochem. Photobiophys., 1984, v. 8, p. 175.
33. Borkman R. F., Kirk N. J. Photochem. Photobiol., 1984, v. 39, p. 808.
34. Greed D. Ibid., 1984, v. 39, p. 537.
35. Harris D. Biochem. J., 1926, v. 20, p. 288.

36. *Isildar M., Schuchmann M. N., Schul D., Te-Frohlinde, Von Sonntag C.* Int. J. Radiat. Biol., 1982, v. 41, p. 525.
37. *Сапежинский И. И., Донцова Е. Г., Силаев Ю. В., Ширяев В. М.* Биофизика, 1981, т. 26, с. 581.
38. *Красновский А. А.* мл. Автореф. дис. на соискание уч. ст. доктора биол. наук. М.: МГУ, 1983.
39. *Nabben F. J., van der Stroom H., Loman H.* Int. J. Radiat. Biol., 1983, v. 43, p. 687.
40. *Nabben F. J., van der Stroom H. A., Loman H.* Ibid., 1983, v. 43, p. 495.
41. *Halliday J. W., Caspersan J. M., Nickerson C. L., Rees C. W., Taub I. A.* IEEE Trans. Nucl. Sci., 1979, v. 26, № 1, Part 2, p. 1771.
42. *Abu El Faijal R. R., Moore J. S.* Int. J. Radiat. Biol., 1982, v. 41, p. 575.
43. *Adams G. E., Posener M. L.* Ibid., 1979, v. 35, p. 497.
44. *Bisby R. H., Cundall R. B., Adams G. E., Posener M. L.* In: Techn. and Appl. Fast React. Solut. Proc. NATO Adv. Study Inst., Aberystwyth, 1978. Dordrecht e. a., 1979, p. 539.
45. *Hiller K. O., Asmus K. D.* Int. J. Radiat. Biol., 1981, v. 40, p. 583.
46. *Schuessler H., Davies J. V.* Ibid., 1983, v. 43, p. 291.
47. *Schuessler H.* Ibid., 1981, v. 40, p. 483.
48. *Jong J., Loman H., Block J.* Ibid., 1972, v. 22, p. 11.
49. *Packer J., Mahood J., Willson R., Wolfenden B.* Ibid., 1981, v. 39, p. 135.
50. *Parcer J. E., Willson R. L., Bahnemann D., Asmus K. D.* J. Chem. Soc. Perkin II, 1980, v. 2, p. 296.
51. *Hellmann K.* Fundam. Cancer Chemotherapy, 1978, v. 23, p. 58.
52. *Joshi A., Rustgi S., Moss H., Riesz P.* Int. J. Radiat. Biol., 1978, v. 33, p. 205.
53. *Соколов В. А., Скворцов В. Г., Капчигашев С. П.* Радиобиология, 1981, т. 21, с. 330.
54. *Koter M., Kowalska M. A., Leyko W., Waterman M.* Int. J. Radiat., Biol., 1977, v. 32, p. 369.
55. *Ажина Я. И.* Электронный парамагнитный резонанс в медико-биологических исследованиях. Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. М.: Изд-во ВИНИТИ, т. 12, 1979.
56. *Makino K., Suzuki N., Moriya A., Rokushika S., Hatano H.* J. Radiat. Res., 1980, v. 21 p. 14.
57. *Mossoba M. M., Rosenthal I., Riesz P.* Int. J. Radiat. Biol., 1981, v. 40, p. 397.
58. *Makino K., Riesz P.* Ibid., 1982, v. 41, p. 615.
59. *Keisuke M., Riesz P.* Rad. Res., 1982, v. 91, p. 360.
60. *Каюшин Л. П., Львов К. М., Пулатова М. К.* Исследование парамагнитных центров облученных белков. М.: Наука, 1970. 263 с.
61. *Авдеева О. С., Готлиб В. Я., Рихирева Г. Т., Пулатова М. К.* Биофизика, 1980, т. 25, с. 106.
62. *Gregoli S., Olast M., Bertinchamps A.* Radiat. Res., 1982, v. 89, p. 238.
63. *Мишинчук В. К., Клинишонт Э. Р., Пшежецкий С. Я.* Макрорадикалы. М.: Химия, 1980, 264 с.
64. *Gregoli S., Olast M., Bertinchamps A.* Radiat. Environ. Biophys., 1980, v. 17, p. 348.
65. *Verberne J. B., Spoelder H. J. W., Loman H.* Int. J. Radiat. Biol., 1982, v. 42, p. 77.
66. *Багдасарьян Х. С.* Двухквантовая фотохимия. М.: Наука, 1976, 128 с.
67. *Каюшин Л. П., Грибова З. П., Азизова О. А.* Электронный парамагнитный резонанс фотопроцессов биологических соединений. М.: Наука, 1973, 304 с.
68. *Баренбойм Г. М., Доманский А. Н., Туроверов К. К.* Люминесценция биополимеров и клеток. Л.: Наука, 1966, 233 с.
69. *Баренбойм Г. М., Доманский А. Н.* Биофизика, 1971, т. 16, с. 181.
70. *Мясник М. Н., Скворцов В. Г., Соколов В. А.* Фотобиологические аспекты радиационного поражения клеток. М.: Энергоатомиздат, 1985, 310 с.
71. *Мясник М. Н., Скворцов В. Г., Соколов В. А.* Радиобиология, 1981, т. 21, с. 854.
72. *Азизова О. А.* Автореф. дис. на соискание уч. ст. доктора биол. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1979.
73. *Лихтенштейн Г. И., Богатыренко В. А., Куликов А. В.* Биофизика, 1983, т. 28, с. 585.
74. *Львов К. М.* Автореф. дис. на соискание уч. ст. доктора биол. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1979.
75. *Яровая С. М., Наджафова М. А., Шарпатый В. А.* Радиобиология, 1981, т. 21, с. 716.
76. *Шарпатый В. А., Закатова Н. В.* Там же, 1982, т. 22, с. 588.
77. *Каюшин Л. П., Львов К. М.* Биофизика, 1970, т. 15, с. 235.
78. *Lvov K. M., Kim Yu. A.* Studia biophysica, 1972, B. 3, S. 193.
79. *Lvov K. M., Kim Yu. A.* Abstr. VI Intern. conf. on Magnetic Resonance in Biological Systems. Kandersteg, Switzerland, 1974, A. 19.
80. *Lvov K. M., Kim Yu. A.* Biopolymers, 1975, v. 14, p. 83.
81. *Micic O., Josimovic L., Markovic V.* In: Food Preservation by Irradiation. Vienna, 1978, v. 1, p. 384.
82. *Lichtin N. N., Ogdan J., Stein G.* Biochim. Biophys. Acta, 1972, v. 203, p. 14.
83. *Volkert W. A., Grossweiner L. I.* Photochem. Photobiol., 1973, v. 17, p. 81.
84. *Wiete M., Kuntz R. R., Ghiron C. A., Volkert W. A.* Ibid., 1978, v. 28, p. 413.
85. *Давыдов Р. М.* Автореф. дис. на соискание уч. ст. доктора хим. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1981.
86. *Allen J. C., Navaratnam S., Parsons B. J., Phillips G. O., Swallow A. J.* Biochem. Soc. Trans., 1980, v. 8, p. 121.

87. Evans R. F., Kuntz R. R., Volkerl W. A., Ghiron C. A. *Photochem. Photobiol.*, 1978, v. 27, p. 511.
88. Elliot A. J., Wilkinson E., Armstrong D. A. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1980, v. 38, p. 1.
89. Duncan H., Gould J. M., Patterson L. K. *Radiat. Res.*, 1982, v. 90, p. 518.
90. Adams G., Willson R., Aldrich J. E., Cundall R. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1969, v. 16, p. 334.
91. Hashimoto S., Seki H., Masuda T., Mamura M., Kondo M. *Ibid.*, 1981, v. 40, p. 31.
92. Bothe E., Schulte-Frohlinde D. Z. *Naturforsch.*, 1982, C37, S. 1191.
93. Сапежинский И. И., Донцова Е. Г., Силаев Ю. В. *Биофизика*, 1981, т. 26, с. 1097.
94. Сапежинский И. И., Донцова Е. Г. Там же, 1985, в печати.
95. Сапежинский И. И., Гудкова Н. А., Донцова Е. Г., Смирнов Л. Д., Кузьмин В. И. Там же, 1980, т. 25, с. 30.
96. Сапежинский И. И., Силаев Ю. В., Ширяев В. М. *Химия выс. энергий*, 1980, т. 14, с. 500.
97. Шведа-Левандовска З., Пухала М., Лейко В., Сапежинский И. И., Донцова Е. Г., Силаев Ю. В. *Радиобиология*, 1980, т. 20, с. 654.
98. Биохемилюминесценция. Тр. МОИП, т. 58. М.: Наука, 1983, 300 с.
99. Lea D. E. *Action of Radiation on Living Cells*. Cambridge: Univ. Press, 1946, 280 р.
100. Радиационное поражение и восстановление структур и функций макромолекул /Под ред. Савича А. В. М.: Медицина, 1977, 280 с.
101. Кочетков Н. К., Кудряшов Л. И., Членов М. А. *Радиационная химия углеводов*. М.: Наука, 1978. 288 с.
102. Сапежинский И. И. Докл. АН СССР, 1981, т. 257, с. 155.
103. Сапежинский И. И., Донцова Е. Г., Силаев Ю. В. *Радиобиология*, 1984, т. 24, № 1, с. 79.
104. Эмануэль Н. М., Островский М. А. *Вестн. АН СССР*, 1981, с. 66.
105. Charlier M., Helene C. *Photochem. Photobiol.*, 1972, v. 15, p. 71.
106. Rahn R. O., Zandry L. C., Carrier W. *Ibid.*, 1974, v. 19, p. 75.
107. Найдан Д. Дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1980.
108. Ширяев В. М. Дис. на соискание уч. ст. канд. хим. наук. М.: Изд. МГУ, 1972.
109. Ширяев В. М., Федорович И. Б. *Биофизика*, 1980, т. 25, с. 439.
110. Ширяев В. М., Сапежинский И. И. Там же, 1980, т. 25, с. 208.
111. Сапежинский И. И., Донцова Е. Г. Там же, 1973, т. 18, с. 992.
112. Сапежинский И. И., Донцова Е. Г. Там же, 1974, т. 19, с. 34.
113. Бурштейн Э. А. Люминесценция белковых хромофоров (модельные исследования). Итоги науки и техники. Сер. биофизика, т. 6. М.: Изд-во ВИНИТИ, 1976.
114. Бурштейн Э. А. Собственная люминесценция белка (природа и применение). Итоги науки и техники. Сер. биофизика, т. 7. М.: Изд-во ВИНИТИ, 1977.
115. Пермяков Б. А., Бурштейн Э. А., Емельяненко В. И., Александров Ю. М., Глаголев К. В., Махов В. Н., Сырейщикова Т. И., Якименко М. Н. *Биофизика*, 1983, т. 28, № 3, с. 393.
116. Grossweiner L. In: *Current Topics in Radiated Research*. Amsterdam: Molland Publ., 1979, v. 11, p. 141.
117. Blum A., Grossweiner L. *Photochem. Photobiol.*, 1982, v. 36, p. 617.
118. Grossweiner L., Brendzel A., Blum A. *Chem. Phys.*, 1981, v. 57, p. 147.
119. Grossweiner L. I., Kaluskar A. G., Baugher J. F. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1976, v. 29, p. 1.
120. Перассе Н. И., Владимиров Ю. А. *Биофизика*, 1968, т. 13, с. 988.
121. Daniels M. *Photochem. Photobiol.*, 1983, v. 37, p. 691.
122. Бурчладзе Т. Г., Меньшонкова Т. Н., Симукова Н. А., Будовский Э. И., Фрайкин Г. Я., Рубин Л. Б. Докл. АН СССР, 1982, т. 264, с. 983.
123. Гудзадяя Г. Г., Никогсян Д. Н., Крюков П. Г., Летохов В. С., Балмуханов Т. С., Белогулов А. Н. *Биофизика*, 1981, т. 26, № 4, с. 659.
124. Каюшин Л. П., Пулатова М. К., Кривенко В. Г. *Свободные радикалы и их превращения в облученных белках*. М.: Атомиздат, 1976, 300 с.
125. Sautus R., Bazin M., Aubailly M. *Rev. Chem. Intermed.*, 1980, v. 3, p. 231.
126. Suciu D., Uray Z. *Stud. Biophys.*, 1982, v. 89, p. 229.
127. Suciu D. *Int. Radiat. Biol.*, 1981, v. 39, p. 641.
128. Семенова Л. П., Николаева Н. В., Беспалько О. Ф., Итлин Б. З., Петраков К. А. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1977, с. 922.
129. Романцев Е. Ф., Блохина В. Д., Жуланова З. И., Кощенко Н. Н., Филипович И. В. *Биохимические основы действия радиопротекторов*. М.: Атомиздат, 1980, 168 с.

Институт химической физики АН СССР,
Москва