

Козлова Е.К., Черняев А.П., Фомина У.А., Алексеева П.Ю.,
Горбунов П.В., Черныш А.М.

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ
(ПУЧОК УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ И
УФ ИЗЛУЧЕНИЕ) НА КИНЕТИКУ ГЕМОЛИЗА
ЭРИТРОЦИТОВ**

Препринт НИИЯФ МГУ-2002-23/707

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М.В. ЛОМОНОСОВА

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЯДЕРНОЙ ФИЗИКИ им. Д.В. СКОБЕЛЬЦЫНА

Козлова Е.К., Черняев А.П., Фомина У.А., Алексеева П.Ю.,
Горбунов П.В., Черныш А.М.

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ
(ПУЧОК УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ И
УФ ИЗЛУЧЕНИЕ) НА КИНЕТИКУ ГЕМОЛИЗА
ЭРИТРОЦИТОВ**

Препринт НИИЯФ МГУ-2002-23/707

УДК 612.11.014.4

E.K. Kozlova, A.P. Chernyaev, U.A. Fomina,
P.J. Alekseeva, P.V. Gorbunov, A.M. Chernysh

E-mail address: fomina2001@rambler.ru

The combined action of accelerated electron beam (or UV-radiation) and electroporation on course of the process of hemolysis of erythrocytes

Preprint NPI MSU-2002-23/707

Abstract

There is the combined action of accelerated electron beam (or UV-radiation) and electroporation on course of the process of hemolysis of erythrocytes. There is a model of description of the character of hemolysis curves of erythrocytes in this preprint.

Е.К. Козлова, А.П. Черняев, У.А. Фомина,
П.Ю. Алексеева, П.В. Горбунов, А.М. Черныш

Комбинированное воздействие пучка ускоренных электронов (или УФ излучения) и электропорации на кинетику гемолиза эритроцитов.

Препринт НИИЯФ МГУ-2002

Аннотация

В работе рассматривается влияние комбинированного воздействия пучка ускоренных электронов (или УФ излучения) на кинетику гемолиза эритроцитов. Предложена модель для описания кинетических кривых гемолиза эритроцитов под действием излучения.

© НИИЯФ МГУ, 2002

Оглавление

Введение.....	4
Описание эксперимента и анализ экспериментальных данных.....	5
Облучение суспензии пучком ускоренных электронов.....	6
Анализ экспериментальных данных.....	6
Облучение суспензии УФ излучением.....	10
Анализ экспериментальных данных.....	10
Математическая модель описания кинетических кривых гемолиза.....	16
Список литературы.....	23

Введение

На сегодняшний день считается, что наиболее чувствительными к действию ионизирующего излучения являются ДНК и мембраны. В современной литературе наибольший акцент делается на изучение механизмов поражения ДНК и их последствий, хотя также интересен процесс разрушения мембран, приводящий к гибели клетки.

Высоко воспроизводимой модельной системой для изучения мембранного разрушения является суспензия эритроцитов. Эритроциты в кровяном русле представляют собой физиологически регулируемую систему клеток. Эритроциты не являются однородной в норме массой клеток, а образуют систему, в которой закономерно сочетаются клетки различных возрастов и состояний. Представляется интересным исследование влияния ионизирующего излучения как на отдельный эритроцит, так и на систему в целом.

В последнее время опять возрос интерес к исследованию особенностей кинетики гемолиза эритроцитов, подвергающихся воздействию ионизирующего излучения. Большая часть исследований посвящена действию гамма-излучения [1-5]. Лишь в некоторых работах рассматриваются вопросы воздействия альфа-излучения [6], протонов [7] и электронов [8]. Продолжается исследование действия УФ излучения на эритроциты [19]. Особенностью действия ионизирующей радиации на биологические объекты, в том числе и на популяцию эритроцитов, является ярко выраженная зависимость биологического проявления от дозы излучения. Несмотря на то, что интерес к проблеме кинетики гемолиза не угасает в течение 50 лет, остаются неясными детали механизма поражения мембран эритроцитов под действием облучения [9-13]. Детализируются и выявляются новые экспериментальные данные, в частности, касающиеся эффекта фракционности дозы [1], защитной реакции биологической системы [8,14-18].

В данной работе приведены результаты экспериментального исследования воздействия пучка электронов с энергией 5,5 Мэв и УФ на суспензию эритроцитов в физиологическом растворе. Измерены *кинетические кривые гемолиза*, возникающего во время облучения и продолжающегося после воздействия. На основании экспериментально измеренных характерных времен гемолиза при разных временах облучения получена зависимость "доза – эффект". Предлагается математический подход к описанию наблюдаемых зависимостей при облучении пучком электронов и УФ.

Описание эксперимента и анализ экспериментальных данных

Для проведения эксперимента изготавливалась суспензия эритроцитов в изотоническом растворе 0,9% NaCl в пропорции 0,5 мл крови на 10 мл раствора. Через 1 час суспензию смешивали с физиологическим раствором NaCl в пропорции 1 мл суспензии на 16 мл раствора и далее работали с суспензией данной концентрации.

Для наблюдения за кинетикой гемолиза использовали фотоэлектрический концентрационный колориметр КФК-2МП. С помощью данного прибора измеряли оптическую плотность растворов, сравнивая с оптической плотностью дистиллированной воды, принятой за 0. Измерение поглощения монохроматического света проводится, сравнивая интенсивность ослабленного пучка света (I) с интенсивностью падающего пучка (I_0) (рис.1).

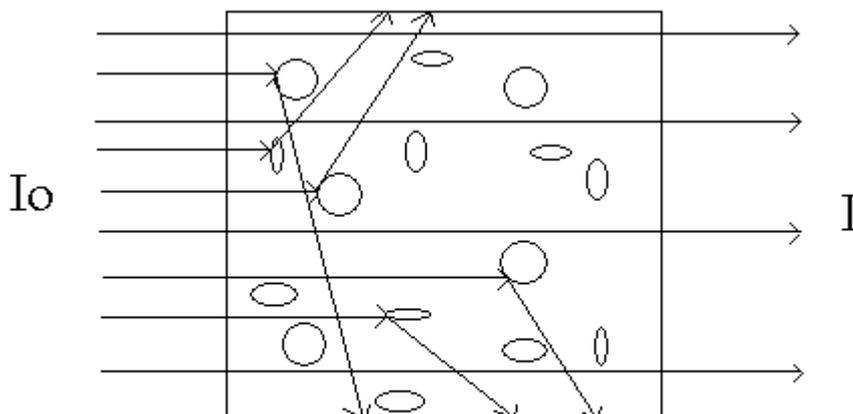


Рис.1 Ослабление интенсивности пучка света, прошедшего через суспензию эритроцитов.

Поглощение света описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$I = I_0 e^{-\epsilon Cl},$$

где ϵ - молярный коэффициент поглощения [л/(моль·см)], C - концентрация исследуемого вещества (моль/л), l - толщина кюветы с раствором (см). Количество вещества обычно определяют по оптической плотности раствора (D):

$$D = -\ln(I/I_0) = \epsilon Cl.$$

Спектр поглощения света суспензией эритроцитов определяется поглощением всеми компонентами суспензии и рассеянием света на эритроцитах. На длине волны $\lambda = 750$ нм ослабление интенсивности пучка света, прошедшего через суспензию, определяется практически только рассеянием на эритроцитах, поэтому измеряемая оптическая плотность суспензии несет информацию о концентрации негемолизированных эритроцитов.

Облучение суспензии пучком ускоренных электронов

Облучение проводилось на ускорителе электронов.

Параметры ускорителя: энергия электронов $E=5,5$ Мэв. Ускоритель работает в импульсном режиме, длительность импульса 8нс. Средний ток пучка $I_{cp}=0,1$ мкА, заряд пучка $Q=2$ нКл, частота 50 Гц. Пучок формируется 22 сгустками, длительность сгустка 4-5пкс, время между сгустками 350 пкс.

Суспензия облучалась в пробирке 3 мин., 5 мин., 7 мин., что соответствует различным дозам облучения. Одновременно проводилось измерение контрольного раствора, не подвергавшегося облучению. Схема эксперимента показана на рис.2.

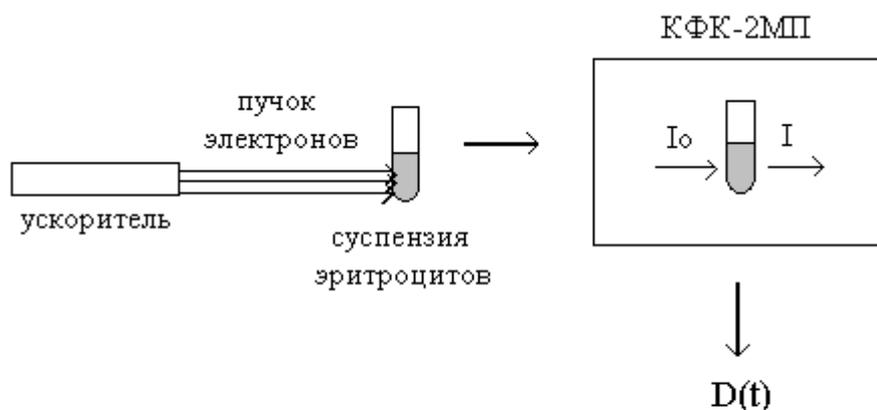


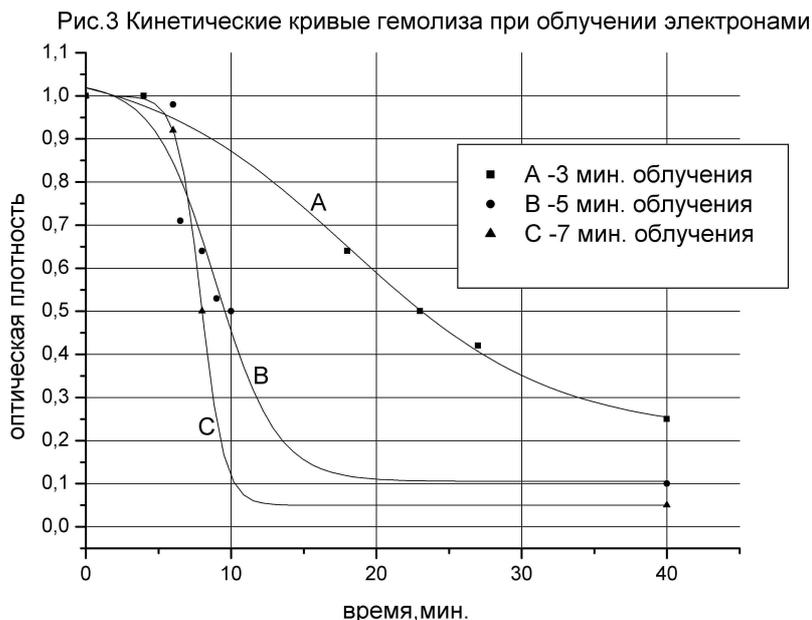
Рис.2 Схема эксперимента по облучению суспензии эритроцитов пучком электронов

Анализ экспериментальных данных

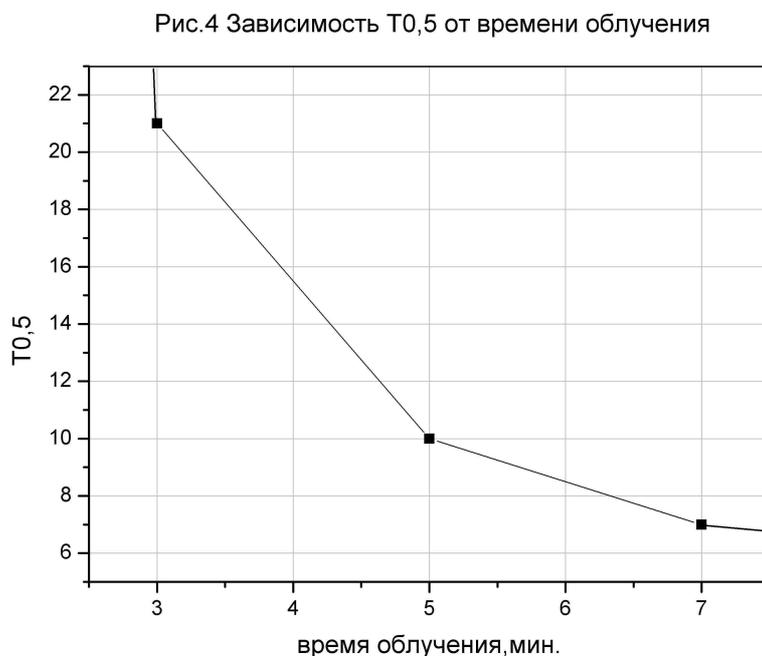
Измерение оптической плотности суспензии со временем $D(t)$ свидетельствует об уменьшении концентрации (C) негемолизированных эритроцитов, т.е. оставшихся в растворе в данный момент времени. Предполагая линейную зависимость

$$D(t)=k*C(t),$$

где k – коэффициент пропорциональности, можно считать кривые $D(t)$ кинетическими кривыми уменьшения концентрации эритроцитов за счет гемолиза. На рис.3 представлены экспериментальные кинетические кривые гемолиза эритроцитов с разными временами облучения.

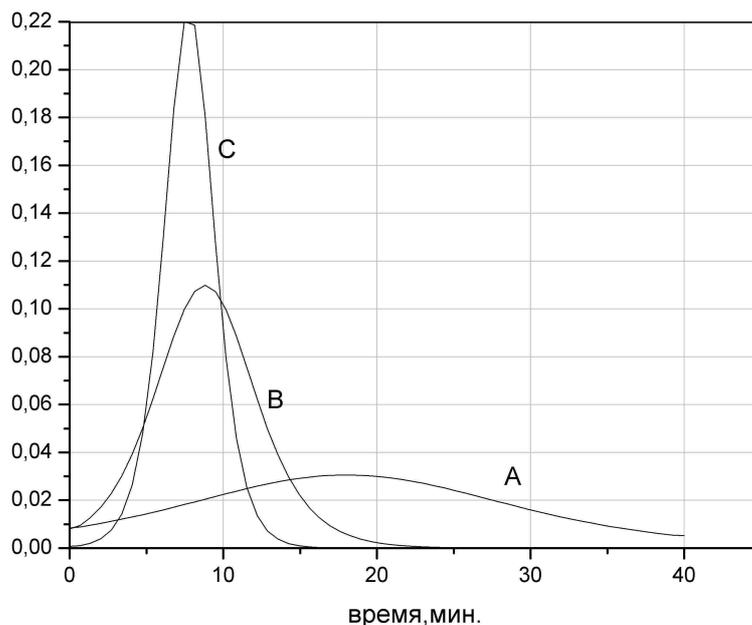


Из рисунка видно, что чем больше время облучения, тем быстрее происходит гемолиз эритроцитов. Сглаживание экспериментальных кривых сигмоидальными зависимостями позволяет определить характерное время гемолиза эритроцитов (время, в течение которого происходит гемолиз 50% эритроцитов, $T_{0,5}$) для данных условий эксперимента, а также оценить его дисперсию σ . С увеличением дозы (а именно времени облучения) величина $T_{0,5}$ нелинейно уменьшается со временем (рис.4).



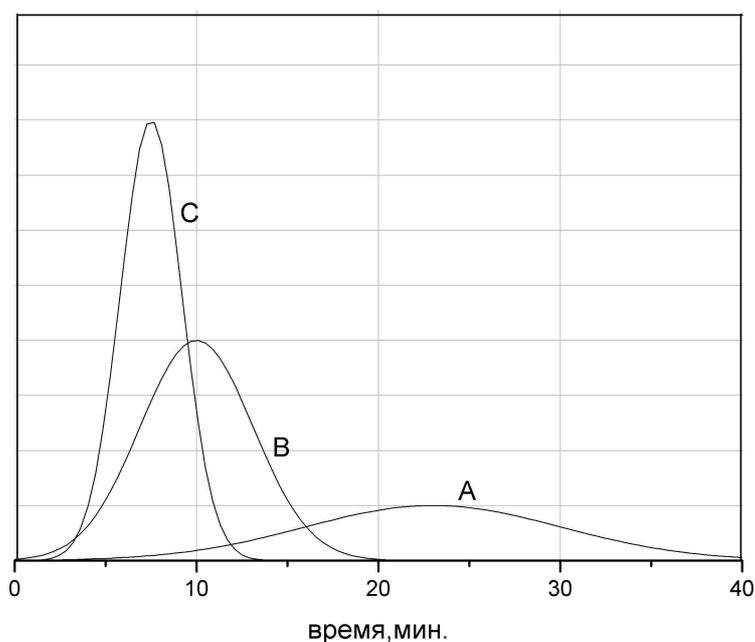
На рис.5 изображены дифференциальные кривые, соответствующие экспериментальным данным.

Рис.5 Дифференциальные кривые, соответствующие эксп. данным



Как показано на рисунке, при увеличении дозы облучения $T_{0,5}$ уменьшается (на графиках точка, соответствующая пику кривой по оси абсцисс). Также уменьшается и дисперсия кривых, с увеличением дозы они становятся более узкими. На рис.6 представлены теоретические распределения Гаусса, с параметрами $T_{0,5}$ и σ , соответствующими кривым на рис. 5.

Рис.6 Теоретические распределения Гаусса с экспер. параметрами



Видно, что кривые на рис.5 и 6 схожи, таким образом можно предположить, что кривые на рис.5 также подчиняются

распределению Гаусса.

Все эти экспериментальные данные хорошо согласуются с общепринятыми представлениями о кинетике изменения численности популяции в условиях воздействия ионизирующего излучения.

В качестве особенности данных исследований можно было бы выделить довольно-таки высокие мощности дозы воздействия электронного пучка и соответственно малые времена гемолиза. Такие времена гемолиза (7-20мин) соизмеримы с временами гемолиза при воздействии химического гемолитика, например, при получении кислотной эритрограммы человека, когда на суспензию эритроцитов воздействуют раствором соляной кислоты.

Наряду с уменьшением времени гемолиза происходит существенное уменьшение дисперсии с увеличением дозы. На основании экспериментальных данных можно предположить, что наблюдается корреляция относительного изменения дисперсии по сравнению с относительным изменением времени гемолиза ($T_{0,5}$ и σ). Эти отношения совпадают с точностью 10-20% для различных времен облучения. В таблице 1 приведены значения времени гемолиза и дисперсии для соответствующих времен облучения.

Таблица 1. Значения времени гемолиза и дисперсии для соответствующих времен облучения.

Время облучения	3 мин.	5 мин.	7 мин.
$T_{0,5}$	21 мин.	10 мин.	7,5 мин.
σ	10,4мин.	4,4 мин.	2,4 мин.

Таким образом, эритроциты, повреждаясь под воздействием пучка электронов не только быстрее гемолизуются, но и "становятся равными" в условиях интенсивного внешнего воздействия. Другими словами, теряется физиологическая индивидуальность особей клеточной популяции, предусмотренная организмом. Причем, если бы популяция эритроцитов продолжала находиться в крови организма, то при их поражении функциональная система стремилась бы вернуться в исходное состояние. Известно, что система устойчиво возвращается к исходному уровню после возмущающего воздействия, развивая при этом мощность эритропоэза в 10 и более раз превосходящую среднюю.

В условиях же нашего модельного эксперимента суспензия эритроцитов в физиологическом растворе находится обособленно от организма. И именно это позволяет оценить поведение в условиях внешнего воздействия популяции эритроцитов, "предоставленных самим себе".

Облучение суспензии УФ излучением

Суспензия эритроцитов начальной концентрации облучалась с помощью ультрафиолетовой лампы. Схема облучения показана на рис. 7.

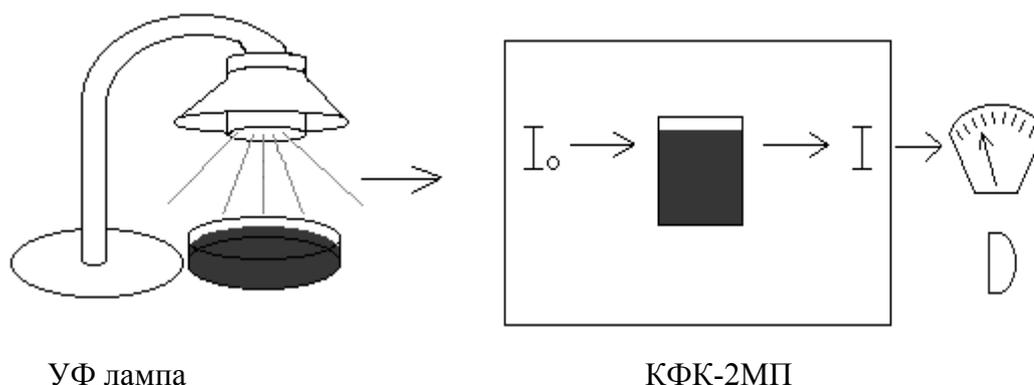


Рис.7 Схема эксперимента по облучению суспензии эритроцитов УФ излучением

Время облучения было различно: 10 , 20, 40, 60 секунд – малые времена; 2, 4, 6, 8, 10 минут - большие времена. Далее с помощью колориметра следили за кинетикой гемолиза во времени. Одновременно проводилось наблюдение за контрольной суспензией, не подвергавшейся ультрафиолетовому воздействию.

Анализ экспериментальных данных

На рис. 8а и 8б представлены экспериментальные кинетические кривые гемолиза эритроцитов соответственно с малыми и большими временами облучения. Как показано на рисунках, чем больше время облучения, тем быстрее происходит гемолиз эритроцитов. Сглаживание экспериментальных кривых сигмоидальными зависимостями как и в случае с электронами позволяет определить характерное время гемолиза эритроцитов для данных условий эксперимента, а также оценить его дисперсию.

Рис.8а Кинетические кривые гемолиза при облучении УФ (малые времена)

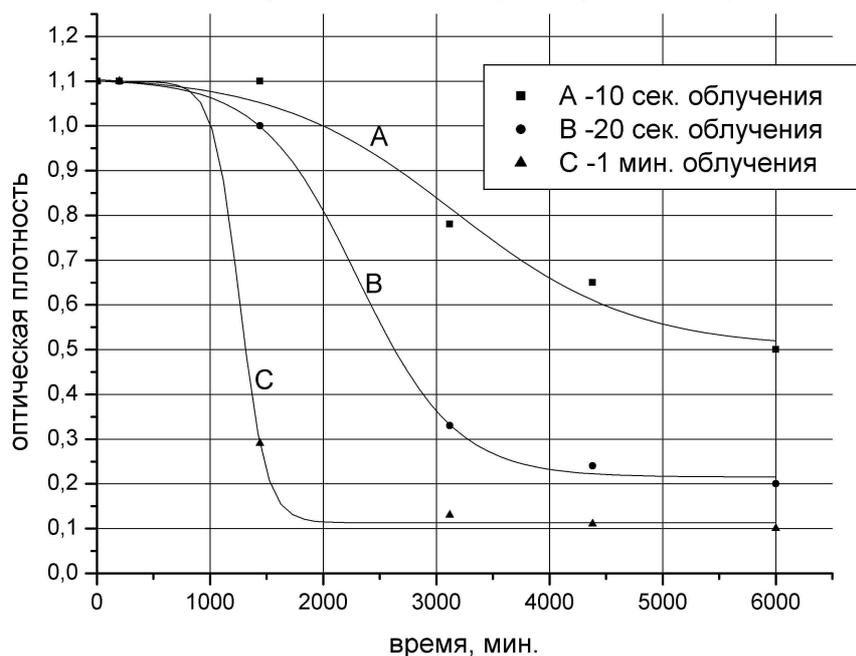
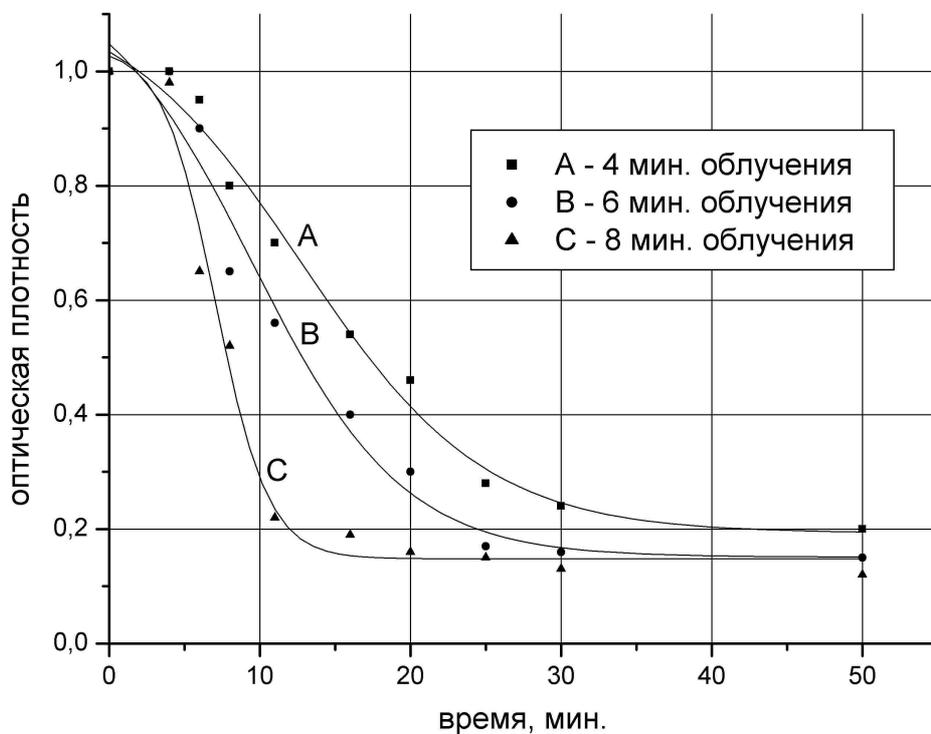


Рис.8б Кинетические кривые гемолиза при облучении УФ



С увеличением дозы величина $T_{0,5}$ нелинейно уменьшается со временем (рис.9а и 9б для малых и больших времен соответственно).

Рис.9а Зависимость T0,5 от малых времен облучения

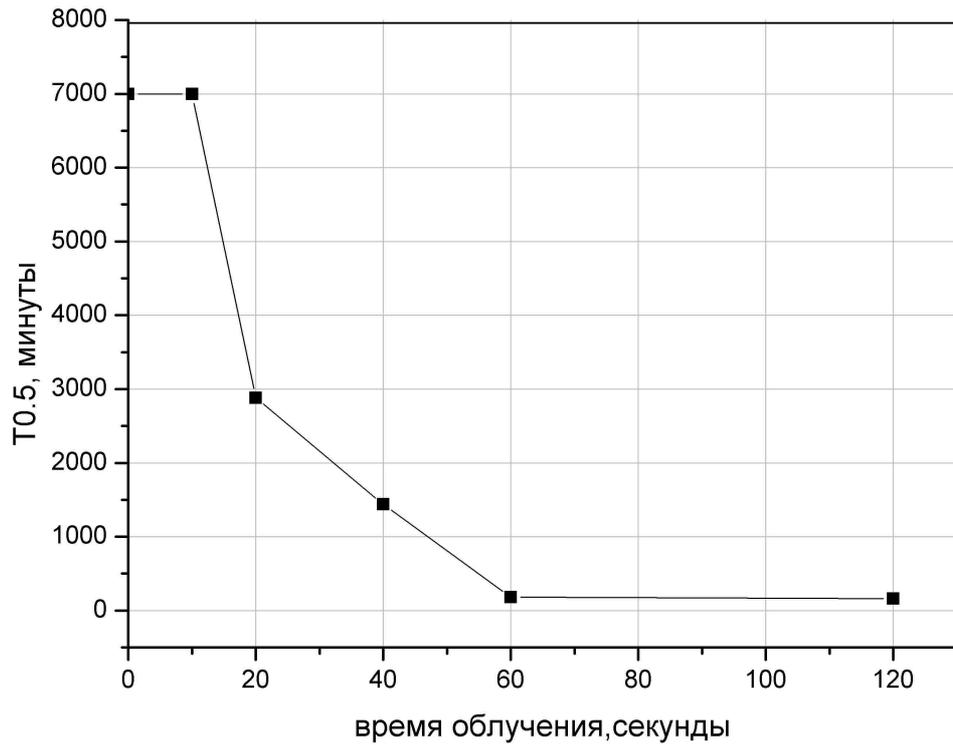
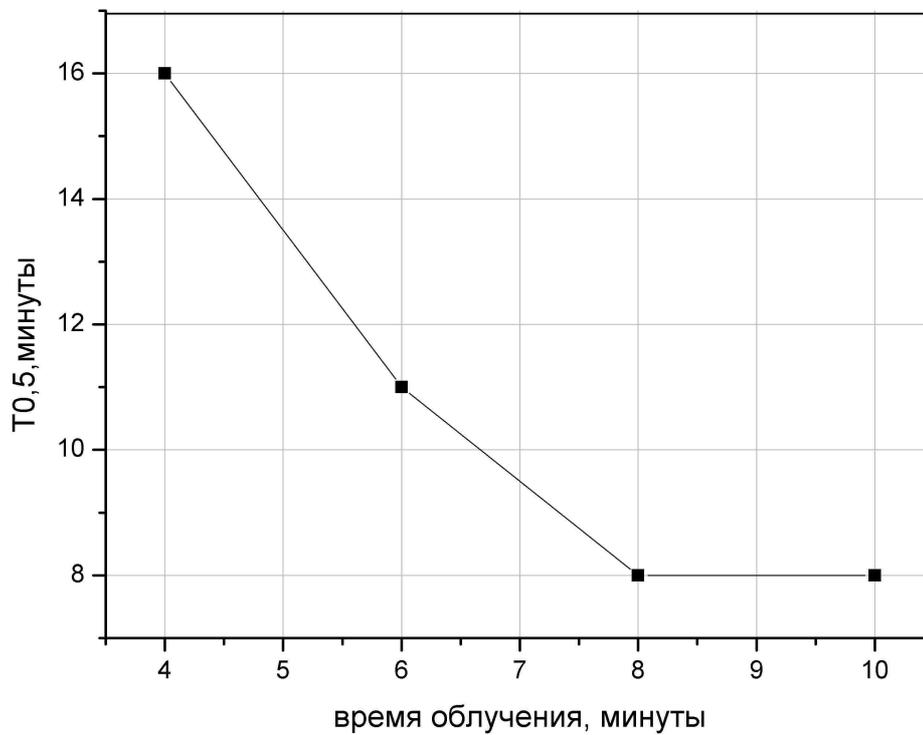


Рис.9б Зависимость T0.5 от больших времен облучения



На рис.10а и 10б изображены дифференциальные кривые, соответствующие экспериментальным данным для первой и второй серии.

Рис.10а Дифференциальные кривые, соответствующие exper. данным

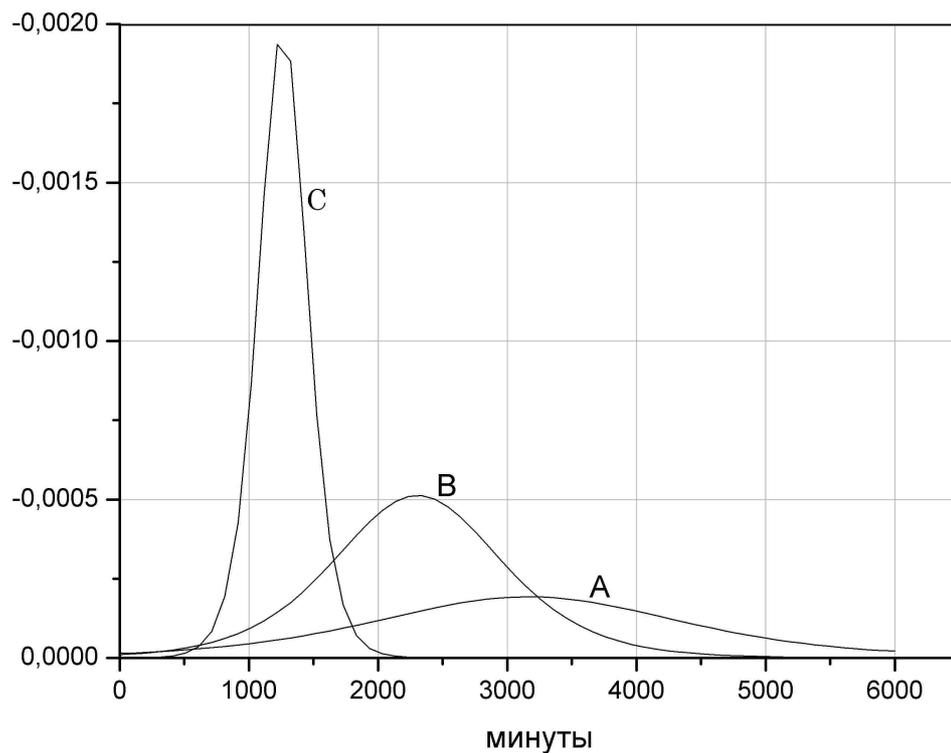
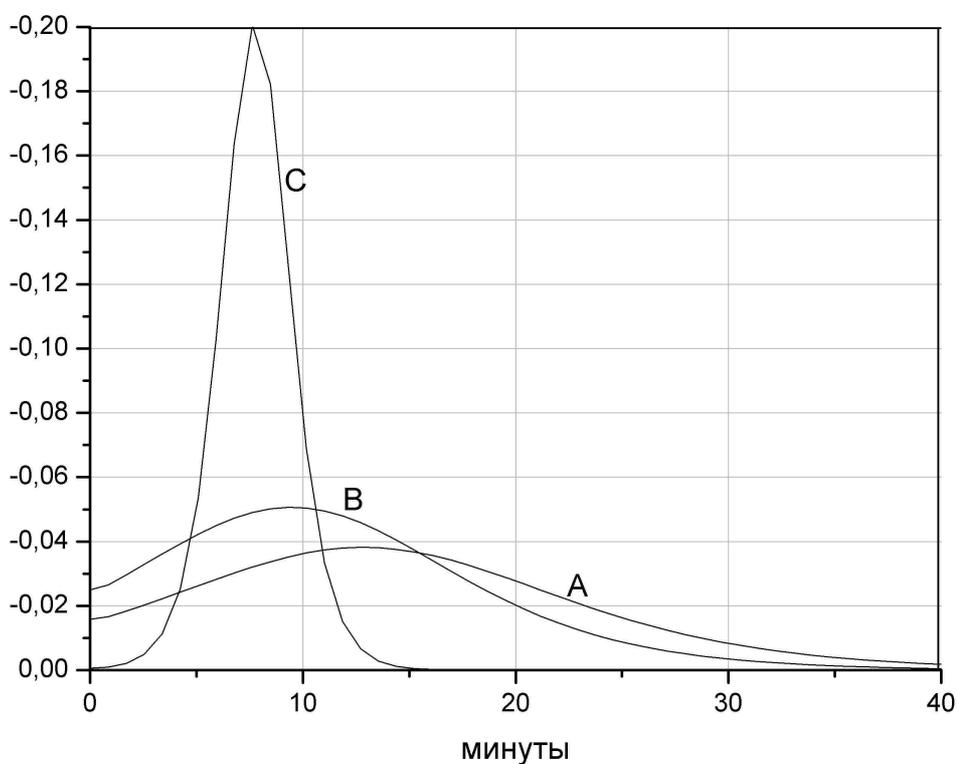


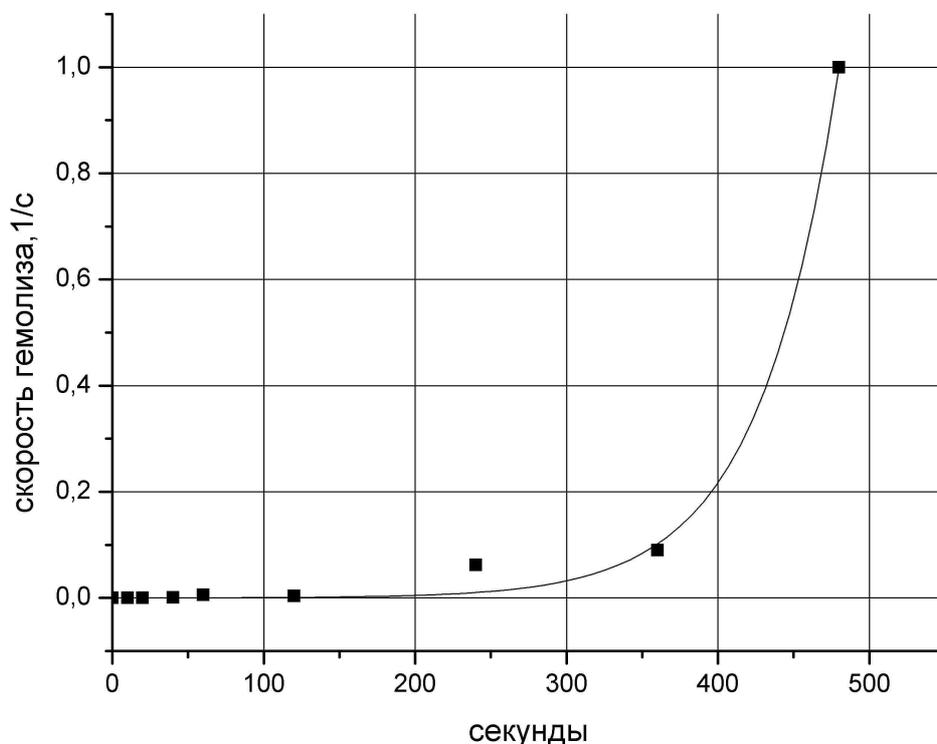
Рис.10б Дифференциальные кривые, соответствующие exper. данным



Из рисунков видно, что чем больше время облучения, тем меньше $T_{0,5}$. Также как и в случае с электронами уменьшается дисперсия кривых. На рис.11 представлена зависимость скорости гемолиза от

времени облучения (дозы). Как показано на рисунке, с увеличением дозы скорость гемолиза нелинейно возрастает.

Рис.11 Зависимость скорости гемолиза от времени облучения



Такая параболическая зависимость скорости гемолиза от дозы может свидетельствовать о существовании порога фотохимического разрушения, ниже которого гемолиз отсутствует или почти незначителен.

Как и в эксперименте с электронами наряду с уменьшением времени гемолиза уменьшается и дисперсия. В таблице 2 приведены времена гемолиза и дисперсии для разных времен облучения ультрафиолетом.

Таблица 2. Времена гемолиза и дисперсии для разных времен облучения.

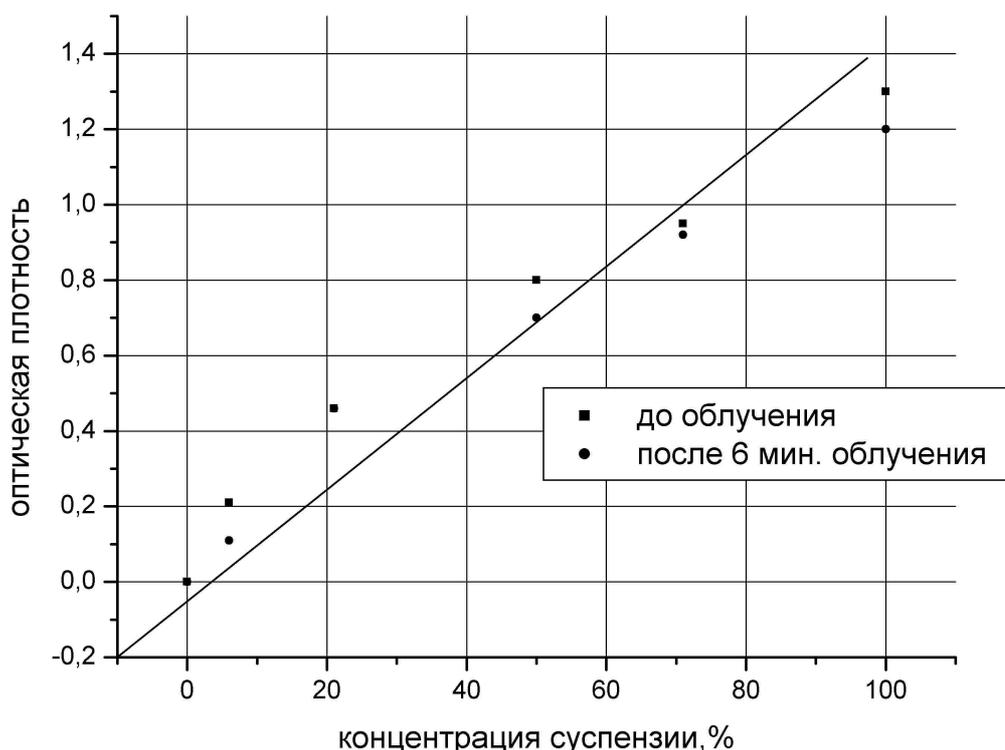
Время облучения	10 сек	20 сек	1 мин	4 мин	6 мин	8 мин
$T_{0,5}$, мин.	3340	2334	1245	16	11	8
σ , мин.	950	590	200	9,9	6,9	1,75

Как было сказано ранее, оптическая плотность

прямопропорциональна концентрации эритроцитов. Для подтверждения этого факта был проведен эксперимент по облучению суспензий разных концентраций. Для проведения эксперимента изготавливались суспензии 100%, 70 %, 50%, 30% и 6% от начальной суспензии. На рис.12 показана

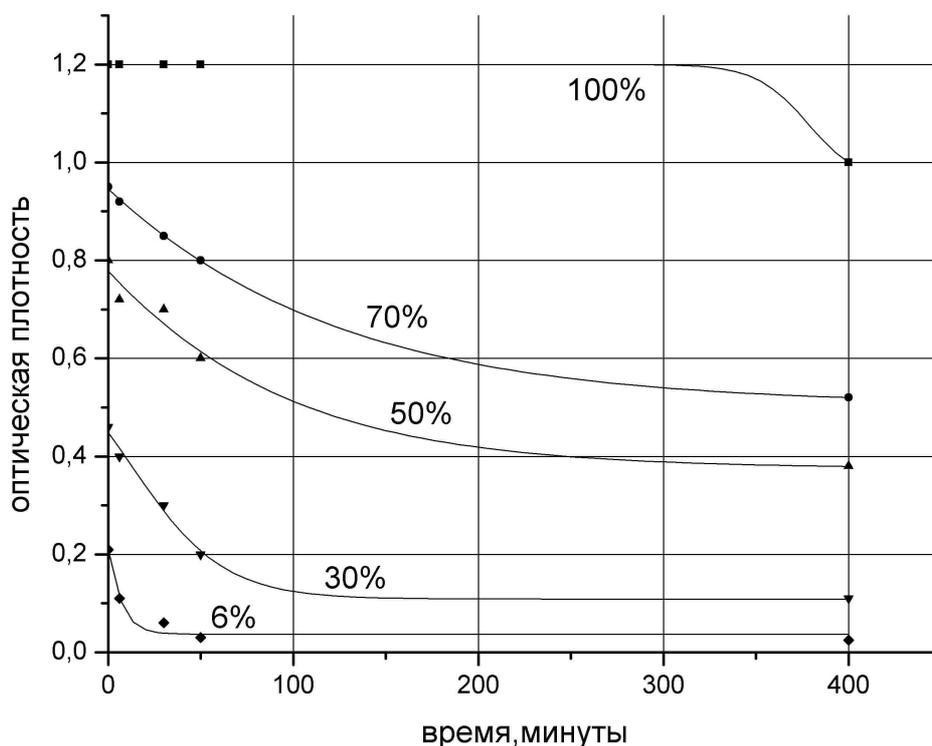
зависимость оптической плотности от концентрации до и после облучения 6 мин. Как видно из рисунка, оптическая плотность линейно возрастает с увеличением концентрации суспензии..

Рис.12 Зависимость оптической плотности от концентрации суспензии



Также был проведен эксперимент по облучению суспензий разных концентраций. Суспензии облучались 6 минут и затем измерялась кинетика гемолиза. На рис.13 показаны кинетические кривые гемолиза разных концентраций. Из рисунка видно, что чем меньше концентрация суспензии, тем быстрее происходит процесс гемолиза, особенно это заметно при 30% и 6% концентрациях.

Рис.13 Кинетические кривые гемолиза суспензий разных концентраций



Математическая модель описания кинетических кривых гемолиза

Сложность анализа механизма и математического описания кинетики гемолиза эритроцитов при воздействии связана со многими причинами, прежде всего, с *физиологической неоднородностью популяции эритроцитов и особенностью действия радиации на биологические объекты, а именно многостадийностью*. Сигмоидальный характер кинетических кривых может быть объяснен с позиции двух подходов, рассматриваемых как по отдельности, так и комплексно вместе.

1 подход к описанию кинетических кривых. Красные кровяные клетки – высоко воспроизводимая модельная система для изучения мембранного разрушения. С возникновением многоклеточных организмов два свойства клеток популяции (неограниченный рост и равноценное развитие каждой клетки организма) оказались в противоречии с интересами организма как целого. В организме

неизбежно должна была развиваться способность ограничивать скорость

роста собственных клеток вплоть до полного его прекращения. Система красной крови является примером функциональной системы, в которой

существует стационарное равновесие между распадом эритроцитов и их поступлением. При этом точность ведения эритроцитарного баланса высока. Система устойчиво возвращается к исходному уровню после возмущающего воздействия, развивая при этом мощность эритропоэза в 10 и более раз превосходящую среднюю [10,11].

Содержание белков в эритроцитах выше, а низкомолекулярных веществ ниже чем в плазме. Осмотическое давление, создаваемое высокой внутриклеточной концентрацией белков, в значительной степени компенсируется малой концентрацией веществ, поэтому осмотическое давление в эритроцитах лишь немногим выше, чем в плазме: величина его как раз достаточна для обеспечения нормального тургора этих клеток [20].

Мембрана эритроцита в принципе проницаема для малых молекул и ионов (для разных в разной степени). По причине этого изменение структуры мембраны или ингибирование активного транспорта ионов под внешним воздействием приводит к снижению трансмембранных концентрационных градиентов. Высокое внутриклеточное содержание белков, которое при этом остается постоянным, перестает компенсироваться и осмотическое давление в эритроците возрастает. В результате вода начинает поступать в эритроцит. Это продолжается до тех пор, пока его мембрана не лопнет и гемоглобин не выйдет наружу. Процесс называется *"коллоидно-осмотическим гемолизом"*.

Эритроциты человека в плазме крови или свежeweыделенные эритроциты в изотоническом солевом растворе представляют собой двояковогнутые диски - дискоциты. Распределение их по диаметру у здорового человека соответствует кривой нормального распределения (кривая Прайс-Джонса). Форма варьируется от дискоцита до сферы. Средняя величина диаметра эритроцита у взрослого человека равна 7,3 мкм (практически находится в диапазоне от 5,2 мкм до 9,75 мкм).

Эритроциты не являются в норме однородной массой клеток, а образуют систему, в которой закономерно сочетаются клетки различного возраста (от 1 до 100 дней) и соответственно различной осмотической хрупкости. Поэтому необходимо различное время для гемолиза каждого эритроцита (молодые эритроциты обладают большей стойкостью). Другими словами, характерное время гемолиза – случайная величина, подчиняющаяся распределению Гаусса. Без внешнего воздействия характерное время гемолиза около 5 дней ($T_{0,5}$), дисперсия σ около 2 дней. Тогда концентрация негемолизированных

эритроцитов от времени может быть представлена как:

$$C(t) = C_0 \cdot \Phi\left(\frac{t - T_{0,5}}{\sigma}\right),$$
$$\Phi\left(\frac{t - T_{0,5}}{\sigma}\right) = 1 - \operatorname{erf}\left(\frac{t - T_{0,5}}{\sigma}\right).$$

2 подход к описанию кинетических кривых. Особенностью действия ионизирующего излучения на биологические объекты является *многостадийность* и *сочетание прямого и косвенного действия*.

Первая, или физическая, стадия действия ионизирующего излучения (на примере воздействия электронного пучка) на биологические системы занимает всего $10^{(-13)}$ с. Вначале происходит акт первичной ионизации, при котором связанному электрону различными способами сообщается запас энергии, достаточный для того, чтобы он с некоторой скоростью покинул пределы атома. Возникает положительно заряженный ион и свободный электрон с запасом кинетической энергии. Свободный электрон проходит в ткани определенное расстояние, осуществляя вдоль своего трека акты вторичной ионизации. На этом этапе происходит дальнейшая передача энергии излучения веществу. Растратив запас кинетической энергии на ионизацию и возбуждение, свободный электрон замедляет движение, захватывается нейтральным атомом с образованием отрицательного иона.

Из литературы известно, что было обнаружено зарождение в облучаемом растворе высокоактивных продуктов радиолиза воды – свободных радикалов, способных диффундировать на значительные расстояния и поражать биологические структуры. В результате облучения происходит активное вовлечение липидов биомембран в процессы перекисного окисления, приводящие впоследствии к множественным поражениям и гибели клетки. В норме окислительные процессы в тканевых липидах протекают на низком уровне и находятся в стационарном режиме. После облучения процессы окисления могут переходить в нестационарный режим и вовлекать различные компоненты внутриклеточных мембранных структур, обуславливая динамику лучевого поражения.

Возникающие на физической стадии ионизированные и возбужденные молекулы запускают сложную цепь реакций, приводящих в конечном счете к тестируемому биологическому эффекту. Например, глубокая деградация какого-либо мембранного участка может резко нарушить ионный гомеостаз и привести в результате к гибели клетки.

В облученной клетке не существует структур, испытывающих преимущественное поглощение энергии, так как возбужденными и

ионизированными в равной мере могут оказаться белки и нуклеиновые кислоты, липиды и углеводы, молекулы воды и различные низкомолекулярные органические соединения. Вовлечение липидов мембран в процессы перекисного окисления может привести к поражению мембраносвязанных белков и к разнообразным деструктивным изменениям в мембранах: нарушается проницаемость, смещаются ионные градиенты. Накопление продуктов окисления липидов приведет к развитию лучевого токсического эффекта, происходит массовая деградация мембран. Разнообразные функциональные изменения, происходящие на биологической стадии, формируются в течение секунд, часов и более. Они могут закончиться гибелью клетки [9].

Таким образом, особенностью повреждения клетки является то, что она не только связана с повреждением локальных мишеней энергией ионизирующей радиации, но и происходит в результате комплексного поражения, которое может развиваться за счет физико-химических механизмов усиления начального радиационного поражения мишеней. Вероятность проявления биологического эффекта будет определяться числом центров исходного поражения мишени (первичная ионизация), а также вероятностью развития процессов усиления начального радиационного поражения мишени. В этом случае вероятностный характер инактивации клеток может быть объяснен вероятностью зарождения соответствующих физико-химических процессов усиления. Сигмоидальный характер кривых "доза-эффект" может соответствовать необходимости какого-то критического числа событий абсорбции энергии клеткой для развития физико-химических процессов усиления [9].

Эта идея может быть записана при упрощенном подходе в следующем математическом виде:

$$q = a \cdot D \cdot e^{-\frac{b}{D}}.$$

Здесь q - скорость изменения объема эритроцита, определяемая характерными временами процессов, вызывающих гемолиз, в частности нарушения структуры мембраны, нарушения ионного баланса, осмоса воды. Коэффициент a зависит от физико-химических особенностей суспензии. Коэффициент b отражает критическую дозу, необходимую для развития физико-химических процессов усиления эффекта ионизации, D - доза.

Объединим эти два подхода, а именно статистический характер изначального распределения эритроцитов по стойкости к облучению и существование пороговой дозы для развития физико-химических процессов, усиливающих действие радиации.

Время гемолиза эритроцита можно оценить как:

$$t = \frac{(V_{кр} - k \cdot V_0)}{q_0},$$

где $V_{кр}$ - критический объем эритроцита, при достижении которого за счет осмоса воды эритроцит лопается, V_0 - исходный объем эритроцита, k - коэффициент, учитывающий физиологическую стойкость эритроцита. Величины V_0 и k являются случайными статистическими величинами для данной популяции эритроцитов, q_0 - скорость изменения объема эритроцита, определяемая характерным временем нарушения структуры, ионного обмена, осмоса воды в нормальных физиологических условиях.

При действии ионизирующего излучения на суспензию эритроцитов скорость изменения их объема увеличивается на величину q за счет возникновения дополнительных источников нарушения структурно-метаболического равновесия в системе. Тогда результирующая скорость может быть записана в виде:

$$q' = q_0 + q.$$

Характерное время гемолиза (гемолиз половины эритроцитов) при действии радиации:

$$T'_{0,5} = \frac{V_{кр} - V_{0;0,5} \cdot k_{0,5}}{q_0 + q} = \frac{T_{0,5}}{1 + P},$$

$$P = \frac{a \cdot D}{q_0} \cdot e^{-\frac{b}{D}}.$$

При дозе, равной 0 эта величина совпадает со временем гемолиза системы без внешнего воздействия. При дозе, стремящейся к бесконечности, эта величина стремится к нулю.

Предполагая, что дисперсия уменьшается по тому же закону, можно записать, что

$$\sigma' = \frac{\sigma}{1 + P}.$$

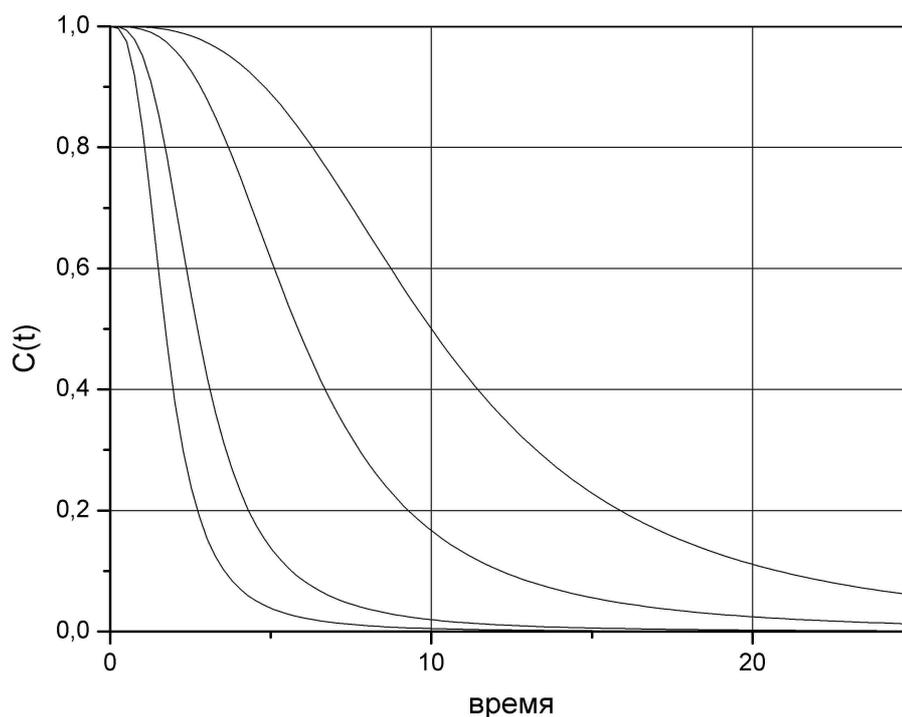
В результате концентрация негемолизированных эритроцитов в данный момент времени может быть записана в виде:

$$C(t) = C_0 \cdot \Phi \left(\frac{t - \frac{T_{0,5}}{1 + P}}{\frac{\sigma}{1 + P}} \right).$$

На рис. 14 представлены кинетические кривые гемолиза

эритроцитов, рассчитанные по формуле.

Рис.14 Теоретические кинетические кривые гемолиза



Полученные теоретические кривые адекватны экспериментальным кривым.

Модель позволяет описать нелинейную зависимость $T_{0,5}(D)$ и, кроме того, показать, что скорость гемолиза $v=1/T_{0,5}$ возрастает с увеличением дозы: $v \sim D^2$.

При математическом описании возникает ряд проблем, которые также должны быть приняты во внимание при более детальном анализе. Особенностью данного пучка электронов является неоднородность потока электронов во времени. Как было уже отмечено ранее, импульсы - банчи электронов длительностью 8нс, которые следуют через 10^{-2} с друг за другом. Причем в каждой банче также наблюдается дискретность. Характерное минимальное время одного сгустка электронов составляет $5 \cdot 10^{-12}$ с, что соизмеримо с характерным временем физико-химических процессов.

Кроме этого, в условиях данного облучения средний ток во много раз меньше пикового значения в пучке. Действительно, $I_{cp}=0,1$ мкА, в то время как пиковый ток $I_{пик}=0,25$ А. Соответственно средняя мощность излучения и пиковая мощность существенно различаются, что также проявится в результатах воздействия на биологическую систему. Например, различие средней и пиковой мощности, а также довольно-таки большие времена между пачками электронов могут сказаться на совместном действии электронов и химических веществ-антиоксидантов.

В случае УФ излучение непрерывно, но поглощение неравномерно вдоль всего образца (интенсивность излучения уменьшается по экспоненте).

Анализируя статистические закономерности гемолиза популяции эритроцитов, необходимо, вероятно, принимать во внимание и неоднородность распределения электронов в облучаемом растворе, что в целом может сказаться на статистическом распределении. В работе [12] приведено распределение дозы по глубине в воде для быстрых электронов. Для электронов с энергией 5 МэВ максимум в распределении дозы находится на расстоянии около 0,5 см, пробег электронов в среде около 1,5 см. С увеличением энергии электрона эти характеристики увеличиваются. При экспериментальном исследовании необходимо создавать условия для наиболее равномерно распределения дозы в объеме раствора во избежание дополнительной дисперсии.

Доза зависит от энергии электрона, количества электронов, времени облучения. Принимая во внимание механизм ионизации, а также сложную последовательность физико-химических превращений в клетке, для системы может оказаться не совсем эквивалентным облучение электронами разных энергий 5 и 10 МэВ. Для пучков электронов разных энергий линейные потери энергии будут отличаться, что может сказаться на распределении дозы по глубине. Это может внести дополнительный вклад в статистические закономерности гемолиза эритроцитов по объему раствора. Ток пучка электронов определяет число актов взаимодействия, что в конечном счете определяет число центров поражения в клетке и интенсивность физико-химических процессов усиления. Принимая во внимание также возможные механизмы защиты системы [8,17], можно говорить о минимальном токе пучка, а следовательно минимальной дозе, при которой происходит значимое биохимическое нарушение функционирования биологической системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Koziczak R., Krokosz A., Szweda-Lewandowska Z. Effect of dose-rate and dose fractionation on radiation-induced hemolysis of human erythrocytes. *Biochem Mol Biol Int* 1999 May
2. Dreval VI, Sichevskaia LV, Doroshenko AO, Roshal AD. Radiation-induced changes in the structure of erythrocyte membrane proteins. *Biofizika* 2000 Sep
3. Dreval VI, Sichevskaia LV. Exposure to ionizing radiation decreases hemoglobin binding to erythrocyte membrane. *Biofizika* 2000 Nov
4. Benderitter M, Vincent-Genod L, Berroud A, Muller S, Donner M, Voisin P. Radio-induced structural membrane modifications: a potential bioindicator of ionizing radiation exposure? *Int J Radiat Biol* 1999 Aug
5. Jin YS, Anderson G, Mintz PD. Effects of gamma irradiation on red cells from donors with sickle cell trait. *Transfusion* 1997 Aug
6. Hofer M, Viklicka S, Gerasimenko VN, Kabachenko AN. Effects of sublethal irradiation with helium ions (300 Mev/nucleon) on basic hematological parameters of mice. *Acta Astronaut* 1994 Nov
7. Kajioaka EH, Gheorghe C, Andres ML, Abell GA, Folz-Holbeck J. Effects of proton and gamma radiation on lymphocyte populations and acute response to antigen. *In Vivo* 1999 Nov
8. Neamtu S, Morariu VV, Turcu I, Popescu AH, Copaescu LI. Pore resealing inactivation in elctriporated erythrocyte membrane irradiated with electrons. *Bioelectrochem Bioenerg* 1999 May
9. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики. Московского Университета, 1982
10. Терсков И.А., Гительзон И.И. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Изд-во «Наука», М., 1967
11. Grossweiner LI. Photosensitization of red blood cell hemolysis. www.photobiology.com.
12. Grossweiner LI. Ionization radiation. www.photobiology.com.
13. Rozhdestvenskii LM. Pro and contra regarding the threshold/non threshold mutagenic (carcinogenic) action of low-level ionizing radiation. *Radiats Biol Radioecol* 2001 Sep
14. Zaborowski A, Szweda-Lewandowska Z. The influence of dose fractionation on radiation-induced hemolysis of human erythrocytes. *Cell Biol Int* 1997 Sep
15. Usnakov IB, Dlusskaia IG, Lvova TS. The state of one of the erythropoiesis regulatory mechanisms after ionizing radiation exposure. *Radiats Biol Radioecol* 1998 Jul
16. Zaichikina SI, Klovov DI, Rozanova OM et al. Correlation between the duration of radiation adaptive response in bone marrow cells of mice and the dose of gamma-irradiation in vivo. *Genetika* 1999 Sep
17. Lee SW, Ducoff HS. The effects of ionizing radiation on avian erythrocytes. *Radiat Res* 1994 Jan
18. Sharifi S, Dzik WH, Sadrzadeh SM. Human plasma and tirilazad mesylate protect stored human erythrocytes against the oxidative damage of gamma-irradiation. *Transfus Med* 200 Jun
19. Potapenko. Influence of reduction of enhanced mountain UV-radiation. www.photobiology.com
20. Шмидт Р, Тевс Г. Физиология человека, т.2. М.:Мир, 1996

**Елена Карловна Козлова
Александр Петрович Черняев
Ульяна Александровна Фомина
Полина Юрьевна Алексеева
Петр Владимирович Горбунов
Александр Михайлович Черныш**

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ (ПУЧОК УСКОРЕННЫХ ЭЛЕКТРОНОВ
И УФ ИЗЛУЧЕНИЕ) НА КИНЕТИКУ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ**

Препринт НИИЯФ МГУ-2002-23/707

Работа поступила в ОНТИ 24.09.2002 г.

ИД № 00545 от 06.12.1999

**Издательский отдел
Учебно-научного центра довузовского образования**

117246, Москва, ул. Обручева, 55А
119992, Москва, Ленинские горы, ГЗ МГУ, Ж-105а
Тел./факс (095) 718-6966, 939-3934
e-mail: izdat@abiturcenter.ru
<http://www.abiturcenter.ru>

Гигиенический сертификат №77.99.2.925.П.9139.2.00 от 24.02.2000
Налоговые льготы - Общероссийский классификатор продукции
ОК-005-93, том 1-953000

Заказное. Подписано в печать 27.09.2002г. Формат 60x90/16
Бумага офсетная № 2. Усл. Печ. л. 1,56
Тираж 50 экз. Заказ №222

Отпечатано в Мини-типографии УНЦ ДО
в полном соответствии с качеством
предоставленного оригинал-макета