

УДК 577.352.2; 577.352.3

¹Н.Г. Ригер*, ²Ю.А. Зарипова, ²В.В. Дьячков,
²С.М. Тореханова,
²А.В. Юшков, ¹Кастер, ¹С.А. Ибрагимова

¹РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина» КН МОН РК,
г. Алматы, Казахстан,

²Научно-исследовательский институт экспериментальной и теоретической физики
Казахского национального университета им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

*e-mail: nriger77@mail.ru

Сферосомы в качестве моделей биологических мембран при изучении воздействия альфа-излучения изотопов радона

Изучается биофизика процессов, возникающих в мембранах при воздействии альфа-излучения изотопов радона на сферосомы – моделях биологических мембран. Конкретными задачами данной работы явились: 1) однозначное доказательство радиационного повреждения мембраны; 2) измерение явления «доза-эффект». Актуальность данной работы связана с тем, что изотопы радона, по данным МКРЗ, вызывают 90-95% раковых болезней, но до настоящего времени остаются неизвестными причины их образования при внутреннем облучении организма человека альфа-излучением изотопов радона с энергиями в районе 5.5 МэВ.

Ключевые слова: сферосомы, модель биологических мембран, альфа-излучение изотопов радона, резистентность мембран, «доза-эффект»

Н.Г. Ригер, Ю.А. Зарипова, В.В. Дьячков, С.М. Тореханова,
А.В. Юшков, Кастер, С.А. Ибрагимова

Сферосомы ара сапа биологиялық мембрананың қалыптарының альфа радонның сыңарының сәулеленуі әсерінің байқауында

Биологиялық мембрана модельдері сферосомаларға радон изотоптарға альфа сәулелену мембраналарда пайда болатын әсерінің биофизика процесстері зерттелік жатыр. Бұл жұмыстың басты мақсаттары: 1) мембрананың радиациялық зақымданудың бірімәнді дәлелдеуі; 2) жағым-нәтиже құбылысының өлшеуі. Айттылмыш жұмыстың өзектілігі, не радонның сыңарларының, ша деректерлер шаянның ауруға шалдығуының дүниежүзілік комитетінің, шаянның қыңқыл-сыңқылының 90-95% мен ана тоқулы шақыртады, бірақ дейін осы уақыттың белгісіз оның білімінің себеп адам бой ішкі сәулелендіру радон сыңар альфа- сәулелену мен қайрат ара 5.5 аудан МэВ.

Түйінді сөздер: сферосомалар, биологиялық мембран қалыбы, альфа радонның сыңарының сәулеленуі, мембранның тиянағи, «жағым-нәтиже».

N.G Riger, Y.A. Zaripova, V. V. Dyachkov, S.M. Torehanova,
A. V. Yushkov, Kaster, S.A. Ibragimova

Spherosomes as models of the biological membranes in the study of the effects of alpha radiation of radon isotopes

Studied biophysics processes occurring in the membranes under the influence of alpha radiation of radon isotopes. The specific tasks of this work were: 1) unequivocal evidence of radiation damage to membrane on models of biological membranes – spherosome; 2) measurement of the phenomenon of “dose-effect”. The relevance of this work is the fact that the isotopes of radon, according to ICRP, causing 90-95% of cancer diseases, but to date remain unknown causes their formation when internal exposure of the human body by alpha radiation of radon isotopes with energies near 5.5 MeV.

Keywords: spherosomes, model of the biological membranes, alpha radiation isotopes of radon, resistant membranes, “dose-effect”.

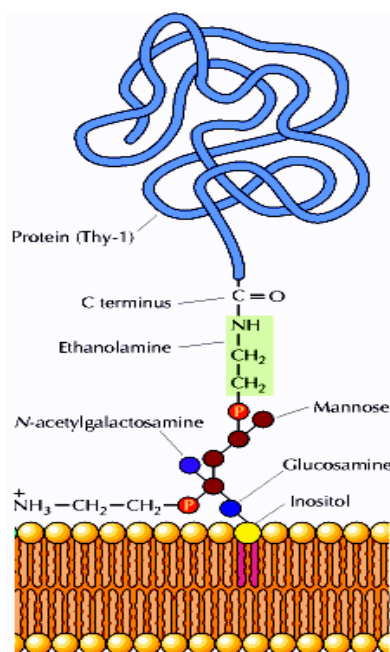
Сферосомы – это клеточные органеллы, состоят в основном из одного белка – глутаматдегидрогеназы и одного фосфолипида – фосфатидилинозитола. Отличительной чертой глутаматдегидрогеназы является наличие в составе ее молекулы собственного фосфатидилинозитола, соединенного с белковой частью через длинный углеводный компонент – гликан. Уникальное строение фермента, представляющего собой липогликопротеин, позволяет ему закрываться только на фосфатидилинозитольных мембранах благодаря точному стерическому соответствию. При встрече фосфатидилинозитольной везикулы с молекулой глутаматдегидрогеназы происходит погружение гидрофобных гиацильных хвостов фосфатидилинозитола фермента в фосфатидилинозитольную мембрану, то есть фосфатидилинозитол фермента благодаря точному стерическому соответствию нормально встраивается в мембрану и прочно удерживается в мембране благодаря гидрофобному взаимодействию между близко стоящими диацильными хвостами фосфолипидов (рисунок 1). В результате фосфатидилинозитольная везикула полностью покрывается белковой шубой, построенной из молекул глутаматдегидрогеназы наподобие ягоды малины.

Так как гидрофобная фосфатидилинозитольная везикула полностью покрыта гидрофильной “белковой шубой”, сферосома в отличие от всех других субклеточных органелл обладает высокой стабильностью и прекрасными гидродинамическими свойствами, что позволяет ей быть устойчивой в широком диапазоне рН, ионного состава, ионной силы и температуры до 60°C [1].

Такое уникальное строение сферосом делает их удобными объектами в качестве моделей биологических мембран.

Материалы и методы

Для однозначного доказательства радиационного повреждения мембраны альфа – излучением изотопов радона в качестве объекта были выбраны модели биологических мембран – сферосомы. Сферосомы выделяли из отрубей, полученных после размола беззародышевых половинок зерна мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*), сорта «Стекловидная-24», после гомогенизации и центрифугирования полученный бесклеточный экстракт подвергали гель-хроматографии на колонке с Сефарозой 4В (Pharmacia, Швеция). Сферосомы элюировались в первом высокомолекулярном пике. Для дальнейшей очистки



в рамке – структурная формула фосфатидилинозитола – липидного компонента мембраны сферосом

Рисунок 1 – Схема прикрепления белкового компонента сферосом к липидному

сферосом нами была предложена новая, заменяющая изопикническое ультрацентрифугирование лектиновая хроматография фракции сферосом на конканавалин-А Сефарозе 4В. Такая процедура позволяла получать высокоочищенные сферосомы.

Визуализация проводилась с помощью оптической микроскопии. На рисунке 2 изображен источник α -излучения ^{238}Pu , который подвешивается на микроскоп. На подставку для микроскопа устанавливается образец с препаратом сферосом. Временная экспозиция составляет 30 минут, с промежуточными измерениями каждые 5 минут.

Результаты и их обсуждение

Для однозначного доказательства радиационного повреждения мембраны был проведен эксперимент, в котором сферосомы подвергали воздействию альфа – излучения изотопов радона. Для определения дозы облучения для

сферосом было проведено прямое облучение альфа частицами ^{226}Ra в течение 30 минут препарата сферосом. Визуализация проводилась с помощью оптической микроскопии [2]. В качестве источника альфа – излучения использовали ^{238}Pu , который подвешивался на оптический микроскоп, экспозиция составляла 30 минут с промежуточными измерениями каждые 5 минут.

Наличие отрицательных зарядов на поверхности сферосомы способствует тому, что каждая отрицательно заряженная фосфатидилинозитольная сферосома отталкивается друг от друга, в то время как, лецитиновые липосомы ввиду электронейтральности и гидрофобности нестабильны и легко агрегируют, поэтому именно сферосомы были выбраны в качестве модели биологической мембраны при изучении влияния альфа-излучения на мембраны клетки. Под действием альфа-излучения происходило слипание сферосом. То есть происходило нарушение целостности (изменение проницаемости)

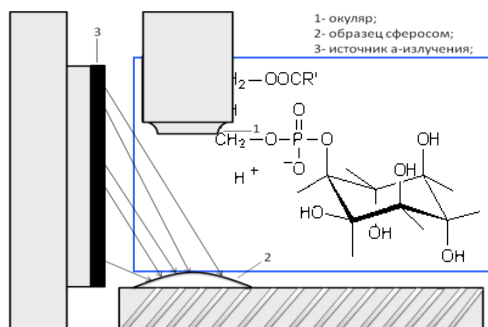


Рисунок 2 – Схема эксперимента по определению потерь энергии в образце со сферосомами

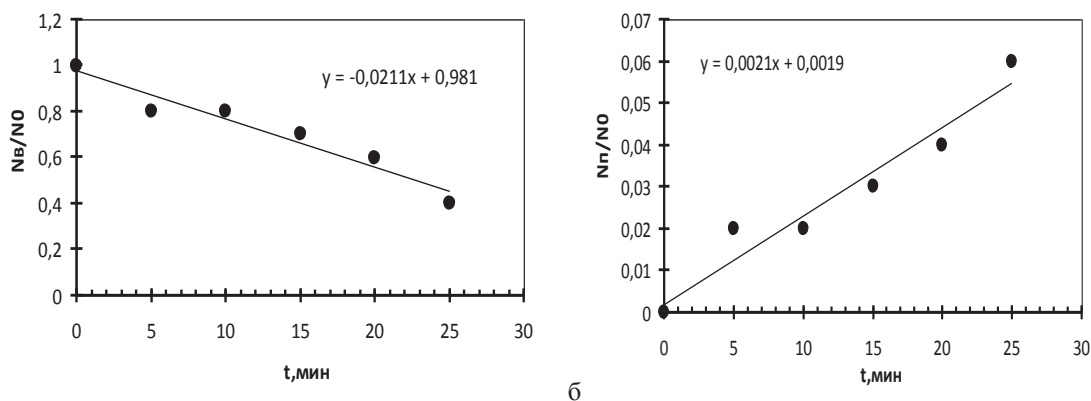


Рисунок 3 – Графики зависимости выживаемости (а) и повреждаемости (б) сферосом от времени воздействия альфа – излучения изотопов радона

мембраны сферосом ввиду того, что достаточно крупные альфа-частицы возбуждали и ионизировали молекулы мембран сферосом, от этого возникали свободные радикалы, которые вступали в реакцию с белковой «шубой» сферосом. Таким образом, происходило «сбрасывание» белковой оболочки, а лишённые белка фосфатидилинозитольные везикулы сферосом слипались между собой. Облучение сферосом в течение длительного времени приводило к полному разрушению сферосом. Для полноты и достоверности визуализации во время экспозиции был снят видеofilm, фотокамера крепилась к оптическому микроскопу. Полученные фотографии обрабатывались программой – спектральный обработчик, разработанной в лаборатории ядерных взаимодействий и радиационной безопасности НИИ экспериментальной и теоретической физики при КазНУ им. аль-Фараби, Республика Казахстан, Алматы, затем строились графики зависимости доза-эффект (рис. 3) [3].

На рисунке 3 показана зависимость выживаемости и повреждаемости сферосом под воздействием альфа – излучения изотопов радона, которое моделировалось ^{238}Pu . Данная зависимость носит линейный характер. Показано, что чем больше время воздействия альфа – излучения на сферосомы, тем меньше становится их количество. При радиоактивном воздействии альфа – частиц, наряду с общеизвестным механизмом ионизации, имеют место механизмы упругого и неупругого рассеяния альфа – частиц на атомных ядрах вещества клетки и ее мембран, а также механизмы ядерных реакций. После первичных ядерных процессов внутри клетки происходят атомные и молекулярные процессы. Так, образуются новые структуры за счет первично выбитых атомов (ПВА), каскадов атом – атомных смещений и последующей их

коллективизации в радиационные дефекты. Такие структуры, по существу, и являются радиационными повреждениями клетки.

Рассмотрим полный набор ожидаемых вторичных эффектов радиогенных воздействий на животную клетку: 1) повреждение мембраны клеток; 2) образование свободных радикалов и ионизация атомов клеточных химических элементов; 3) загрязнение объема клетки новыми химическими продуктами, образующимися в результате ядерных реакций, вызываемых налетающими альфа-частицами; 4) загрязнение объема клетки новыми химическими продуктами за счет внутриклеточных ядерных распадов радиоактивных продуктов от вышеуказанных ядерных реакций; 5) образование ПВА (ядер отдачи) и их каскадов.

Возможности репарационных, защитных систем естественно ограничены, и по этой причине интенсивно действующие в области малых доз процессы репарации и защиты затухают с ростом дозы. Это наводит на мысль, что известная «шахтерская болезнь» (рак легких и бронхов за счет воздействия высокой активности альфа – излучения изотопов радона на больших глубинах), действительно, может определяться радиационной повреждаемостью мембран. Эти же выводы можно сделать из результатов экспериментов по радиационному воздействию альфа – излучению на сферосомы. Однако в данном случае эффект пострадиационного восстановления отсутствует по той простой причине, что сферосомы не являются целостной живой клеткой, поэтому в этом случае мы наблюдали линейную зависимость конечного эффекта от дозы. В случае же живой клетки, составляющая взаимосвязи доза – эффект является нелинейной, что приводит к нелинейной взаимосвязи результирующего эффекта [4].

Литература

- 1 Дильбарканова Р., Гильманов М.К. Строение и функции сферосом растительной клетки. – Алматы: Гылым, 1997. – 38 с.
- 2 Джаксон М. Молекулярная и клеточная биофизика. – М.: Мир, 2009. – 551 с.
- 3 Дьячков В.В., Шакиров А.Л., Юшков А.В. Исследования возможности спектрометрии α – частиц с помощью твердотельных трековых детекторов // Вестник КазНУ. Серия физическая. – 2010. – Т.3. – №34. – С. 36 – 41.
- 4 Комочков М.М. Взаимосвязь доза – стохастический радиобиологический эффект и модель двух защитных реакций // Из сообщений Объединенного института ядерных исследований. – Дубна, 2002. – Р.19-77.