

## Κεφάλαιο 3: Τρόπος δράσης των ιονίζουσών ακτινοβολιών στα κύτταρα

Η σειρά των διαδικασιών που συμβαίνουν κατά την επίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας στα κύτταρα μπορεί να θεωρηθεί ότι γίνεται σε τέσσερα διαδοχικά στάδια, ως εξής (εικ. 53):

**Φυσικό στάδιο:** Αντιπροσωπεύει την πρώτη επαφή της ακτινοβολίας με τα άτομα ή τα μόρια του κυττάρου και εξασκεί επάνω τους, σε χρόνο  $10^{-16}$  sec τις επιδράσεις όπως περιγράφηκαν στο κεφάλαιο 2.3 (Μηχανισμοί απώλειας ενέργειας): κυρίως ιονισμοί και διεγέρσεις.

**Φυσιοχημικό στάδιο:** Κατά το στάδιο αυτό και ιδιαίτερα κατά το μηχανισμό της έμμεσης δράσης σχηματίζονται (σε χρόνο  $10^{-7}$  sec) οι πολύ δραστικές όσο και βραχύβιες «ελεύθερες ρίζες» (άτομα ή μόρια στα οποία τα ηλεκτρόνια της εξωτερικής στοιβάδας δεν έχουν αντίθετα spin όπως θα έπρεπε και έτσι είναι πολύ ασταθή).

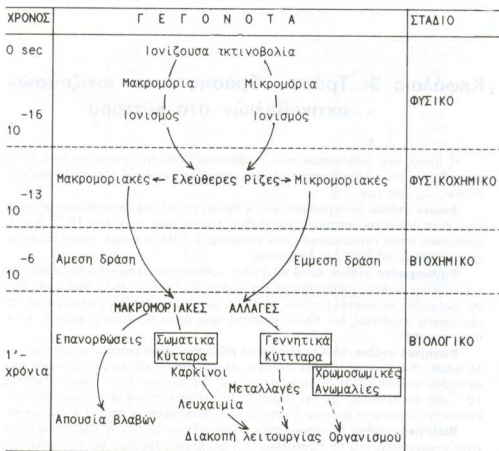
**Βιοχημικό στάδιο:** Εδώ οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και με άλλα μόρια επιφέροντας μόνιμες αλλαγές σε σημαντικά για το μεταβολισμό των κυττάρων συστατικά. Η διάρκεια και αυτού του σταδίου είναι μικρή, συνήθως  $10^{-7}$  sec και τελειώνει με την παρουσία μέσα στο κύτταρο προϊόντων της ακτινοβόλησης «άτυπων» ατόμων ή μορίων δηλ. διαφορετικών από τα φυσιολογικά.

**Βιολογικό στάδιο:** Ο σχηματισμός αλλοιωμένων (άμεσα ή έμμεσα) μορίων είναι αναμενόμενο ότι θα προκαλέσει την εκδήλωση κάποιων μη φυσιολογικών φαινομένων που θα αρχίσουν από το *μοριακό επίπεδο* (π.χ. αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης) για να προχωρήσουν στο *κυτταρικό* (π.χ. αναστολή κυτταρικής διαίρεσης) καταλήγοντας σε *επίπεδο οργανισμού* (π.χ. διακοπή ζωής, εκδήλωση κάποιων συμπτωμάτων κ.λπ.). Η πολυπλοκότητα οργάνωσης και μηχανισμών λειτουργίας των κυτταρικών συστατικών δεν έχει επιτρέψει μέχρι σήμερα την απόλυτη κατανόηση των επιπτώσεων σε όλα τα επίπεδα (μοριακό, κυτταρικό, οργανισμικό) παρά μόνο όπου οι δόσεις ακτινοβόλησης είναι πολύ μεγάλες και προκαλείται άμεσα ορατό αποτέλεσμα.

### 3.1. Άμεση και έμμεση δράση

Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες μπορούν να προκαλέσουν χημικές μεταβολές στα

Εικ. 53: Παραστατική απεικόνιση των γεγονότων που ακολουθούν τη διέλευση ιονίζουσας ακτινοβολίας από τη ζωντανή ύλη



βιολογικά συστήματα με άμεση ή με έμμεση δράση ή και με τους δύο τρόπους. Σαν άμεση χαρακτηρίζουμε τη δράση μιας ακτινοβολίας όταν το ίδιο το μόριο που δέχτηκε την ακτινοβολία υφίσταται τη χημική μεταβολή. Σαν έμμεση χαρακτηρίζουμε τη δράση μιας ακτινοβολίας όταν το μόριο που υφίσταται τη χημική μεταβολή δεν δέχτηκε απ' ευθείας την ακτινοβολία αλλά με δευτερογενείς αντιδράσεις.

Η σύνοψη και των δύο αυτών μηχανισμών είναι φανερή κατά την ακτινοβολή μέσω διασποράς και ιδιαίτερα εκείνων που έχουν σαν μέσο διασποράς το νερό και μακρομόρια στη διεσπαρμένη φάση. Τέτοιο σύστημα είναι και το κυτταρόπλασμα των κυττάρων με μέσα διασποράς το νερό και βιομόρια (πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα, υδατάνθρακες, λιπίδια) στη διεσπαρμένη φάση.

Η άμεση δράση των ακτινοβολιών στα βιολογικά μακρομόρια εκδηλώνεται συνήθως με διάσπαση ή χημική αλλοίωση του μορίου. Η έμμεση δράση προϋποθέτει πως κοντά στα μακρομόρια βρίσκονται ιονισμένα ή διηγεργμένα μικρομόρια όπως π.χ. μόρια νερού. Θεωρητικά, είναι δυνατόν η έμμεση δράση να προέλθει από επίδραση ιονισμένων ή διηγεργμένων μορίων νερού στα μακρομόρια. Όπως είδαμε όμως, ο χρόνος ζωής των μορίων αυτών είναι τόσο μικρός (μέχρι τη διάσπασή τους ή τη δημιουργία ελευθέρων ριζών) ώστε οι πιθανότητες για μία τέτοια επίδραση είναι ασήμαντες. Έτσι δεχόμαστε πρακτικά πως έμμεση δράση γίνεται με μεταβίβαση ενέργειας *αποκλειστικά από τις ελεύθερες ρίζες* που προκύπτουν με τη ραδιόλυση του νερού.

Δεδομένου πως ο χρόνος ζωής των ριζών αυτών είναι πολύ μικρός\* ( $10^{-5}$  sec) είναι φανερό πως η μεταβίβαση ενέργειας στα μακρομόρια θα πρέπει να γίνεται μέσα στο χρόνο αυτό. Έτσι, τόσο η άμεση όσο και η έμμεση δράση των ακτινοβολιών στα *μακρομόρια* έχει σαν αποτέλεσμα την *ακαριαία* δημιουργία *πρωτογενών* χημικών μεταβολών στα μακρομόρια αυτά.

### 3.1.1. Μέθοδοι διάκρισης της άμεσης από την έμμεση δράση

Όταν μια βιολογικά δραστική καθαρή ουσία, π.χ. ένα ένζυμο ή ένας ιός, ακτινοβοληθεί σε ξηρή κατάσταση, τότε η δράση των ακτινοβολιών που ιονίζουν, και που εκδηλώνεται με αδρανοποίηση της αναφερόμενης ουσίας, είναι αναμφισβήτητα άμεση.

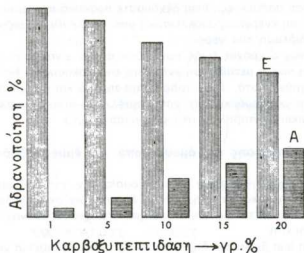
Όταν όμως η ίδια βιολογικά δραστική ουσία ακτινοβοληθεί *in vivo* ή σε υδατικό διάλυμα, τότε η δράση της ακτινοβολίας είναι δυνατόν να είναι άμεση ή έμμεση. Ο έλεγχος του τρόπου δράσης της ακτινοβολίας στην περίπτωση αυτή που σημειωτέον, δεν είναι πάντοτε δυνατός στα βιολογικά συστήματα, γίνεται με τις ακόλουθες μεθόδους:

### 3.1.2. Διάκριση με αραίωση

Μια δεδομένη δόση ακτινοβολίας παράγει μέσα στο διάλυμα ένα ορισμένο αριθμό ελευθέρων ριζών. Συνεπώς, αν η δράση της ακτινοβολίας είναι έμμεση ο αριθμός των αδρανοποιημένων μακρομορίων ή οργανισμών θα είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωσή τους, επειδή ο αριθμός των διαθεσίμων για την αντίδραση ριζών στο διάλυμα παραμένει σταθερός. Αντίθετα αν η δράση της ακτινοβολίας είναι άμεση, ο αριθμός των αδρανοποιημένων μακρομορίων ή οργανισμών θα εξαρτάται από τον αριθμό αυτών μέσα στο ακτινοβολημένο διάλυμα και συνεπώς θα είναι ανάλογος με τη συγκέντρωσή τους (εικ. 54). Έτσι αν η

\* Η ταχύτητα εξαφάνισης των ελευθέρων ριζών εξαρτάται αφ' ενός μεν από τη συγκέντρωση των βιολογικών μακρομορίων και αφ' ετέρου από τον «ειδικό ιονισμό» της ακτινοβολίας που όπως είδαμε (κεφ. 2.3) καθορίζει την τοπική συγκέντρωση των ριζών. Η τελευταία αυτή ρυθμίζει την ταχύτητα επανασύνδεσής τους.

δράση είναι έμμεση, το επί της % ποσοστό των αδρανοποιηθέντων μακρομορίων ή οργανισμών ελαττώνεται όσο αυξάνει η συγκέντρωση αυτών, με άλλα λόγια το σχετικό μέγιστο της αδρανοποίησης παρατηρείται στο πιο αραιωμένο διάλυμα. Αντίθετα, αν η δράση είναι άμεση, η αναλογία των μεταβληθέντων μορίων παραμένει η ίδια, οποιαδήποτε κι' αν είναι η συγκέντρωση, το δε επί της % ποσοστό της αδρανοποίησης είναι σταθερό για μια δεδομένη δόση.



Εικ. 54: Διαφορά ανάμεσα στην άμεση (A) και στην έμμεση (E) δράση της ακτινοβολίας κατά την αδρανοποίηση ενζύμου.

### 3.1.3. Διάκριση με χημική προστασία.

Η ικανότητα για αντίδραση των ελεύθερων ριζών που σχηματίζονται μέσα στο νερό είναι μεν πολύ μεγάλη, αλλά αυτές δεν εμφανίζουν καμμία ειδίκευση σε σχέση με τις αντιδράσεις, στις οποίες συμμετέχουν. Έτσι λοιπόν η παρουσία μέσα στο διάλυμα άλλης ουσίας, εκτός της βιολογικά δραστηκής, μπορεί να ελαττώσει τον αριθμό των αδρανοποιημένων μορίων της δραστηκής ουσίας, π.χ. του ενζύμου. Με άλλα λόγια, η ξένη ουσία συναγωνίζεται τη δραστηκή ουσία στην αντίδραση με τον περιορισμένο αριθμό των διαθέσιμων ριζών. Αν η προσθήκη μιας ξένης ουσίας ελαττώνει το ποσοστό των αλλοιουμένων δραστηκών μορίων, τότε λέμε ότι αυτή προστατεύει το σύστημα από την ακτινοβολία. Στην περίπτωση αυτή η δράση των ιονιζουσών ακτινοβολιών είναι πιθανώτατα έμμεση. Τέτοιο προστατευτικό αποτέλεσμα από την παρουσία ξένων ουσιών ουδέποτε παρατηρείται στα βιολογικά εκείνα συστήματα, για τα οποία γνωρίζουμε με βεβαιότητα ότι η δράση των ακτινοβολιών είναι άμεση.

### 3.1.4. Διάκριση με πήξη

Αυτή βασίζεται στη σύγκριση των αποτελεσμάτων της επίδρασης δεδομένης δόσης ακτινοβολίας σε ένα διάλυμα α) στη συνθισμένη θερμοκρασία και β) στη θερμοκρασία, στην οποία το διάλυμα πήζει. Η πήξη εμποδίζει προφανώς τη διάχυση των ελευθέρων ριζών, οπότε αν η δράση είναι έμμεση, καμμία αντίδραση δεν γίνεται. Αντίθετα, αν η δράση της ακτινοβολίας είναι άμεση, τότε οι χημικές μεταβολές δεν θα εξαρτώνται σημαντικά από τη θερμοκρασία. Δυστυχώς, είναι περιορισμένος ο αριθμός των βιολογικών συστημάτων που μπορούν και επιζούν μετά από πήξη: σ' αυτά η εφαρμογή της μεθόδου έχει μεγάλη αξία (κατά κανόνα το υλικό ακτινοβολείται σε κατάσταση πήξης και κατόπιν ξαναξεσταίνεται για εξέταση).

## 3.2. Σχέση ανάμεσα στη δόση της ακτινοβολίας και στο παρατηρούμενο αποτέλεσμα.

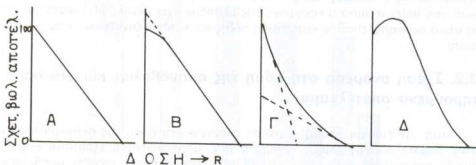
Κατά την έμμεση δράση, η σχέση ανάμεσα στη δόση της ακτινοβολίας και στην παρατηρούμενη χημική μεταβολή (π.χ. αδρανοποίηση) εξαρτάται από το προϊόν της αρχικής αντίδρασης. Αν δηλαδή το προϊόν της αρχικής αντίδρασης μεταξύ μακρομορίου και ελευθέρων ριζών δεν αντιδρά με τις ίδιες ελεύθερες ρίζες, τότε ο αριθμός των μεταβαλλομένων μορίων θα είναι ανάλογος της δόσης. Αν όμως το προϊόν της αρχικής αντίδρασης (π.χ. το αδρανοποιημένο ένζυμο) είναι ικανό να αντιδράσει με ελεύθερες ρίζες, οπότε παίζει ρόλο προστατευτικού πράγοντα, τότε η σημασία αυτής της προστασίας αυξάνει όσο προχωρά η αντίδραση και έτσι η σχέση ανάμεσα στη δόση και στο παρατηρούμενο αποτέλεσμα θα είναι εκθετική. Ακόμα, αν το προϊόν της αντίδρασης αντιδρά με τις ελεύθερες ρίζες με την ίδια ευκολία όπως και το αρχικό μακρομόριο (πράγμα που συμβαίνει πολλές φορές όταν το αρχικό μακρομόριο είναι ένζυμο), τότε μια δόση που παράγει αρκετές ελεύθερες ρίζες που αδρανοποιούν όλα τα ένζυμα που υπάρχουν στο διάλυμα, δεν θα προκαλέσει παρά μονάχα 63% αδρανοποίηση, γιατί τα 37% των ριζών θα αντιδράσουν με τα προϊόντα της αρχικής αντίδρασης. Η διαπίστωση αυτή ωδήγησε στην καθιέρωση της ορολογίας του Lea η οποία εκφράζει την ευαισθησία ενός οργανισμού ή ενός ενζύμου απέναντι στην ακτινοβολία, με τη δόση των 37% δηλ. της δόσης εκείνης κατά την οποία παρατηρείται επιβίωση 37%. Η δόση αυτή, αν διαιρεθεί με τον ολικό αριθμό των ακτινοβολημένων κυττάρων (ή οργανισμών), μας δίνει τη δόση που απαιτείται για την αδρανοποίηση καθ' ενός κυττάρου (ή οργανισμού) ξεχωριστά.

### 3.2.1. Θεωρία του στόχου

Για να περιγραφεί η σχέση ανάμεσα στη δόση της ιονίζουσας ακτινοβολίας και στο βιολογικό αποτέλεσμα είναι απαραίτητη η ύπαρξη ποσοτικής εκτίμησης/μέτρησης των επιπτώσεων, π.χ. χάραξη καμπύλης θνησιμότητας, μέτρηση

ενεργότητας ενζύμων, ή ανάπτυξης σπόρων. Τέτοιες μετρήσεις οδηγούν συνήθως σε καμπύλη της ακόλουθης μορφής (βλ. εικ. 55).

Α) Εκθετική καμπύλη «απλής προσβολής» (single hit). Αποτελεί την απλούστερη περίπτωση που παρατηρείται π.χ. κατά την ανενεργοποίηση ιών ή ενζύμων. Σε ημιλογαριθμική απόδοση η σχέση είναι  $N=N_0 \cdot e^{-D/D_0}$  και εκφράζει τον αριθμό  $N$  μορίων ενζύμων (ή ιών) που παραμένουν ενεργά μετά από ακτινοβόληση  $N_0$  μορίων με δόση  $D$ .



Εικ. 55: Πιθανές περιπτώσεις προσβολής μορίων ή κυττάρων με απλή προσβολή (Α), πολλαπλή προσβολή (Β), διαφορές ραδιοευσαισθησίας (Γ) και με ενεργοποίηση (Δ). (βλ. κείμενο για λεπτομέρειες).

Η Θεωρία του στόχου προσπαθεί να βρει τη σχέση ανάμεσα στη στοχαστική διαδικασία της απορρόφησης και στις διάφορες καμπύλες δόσης-αποτελεσματικότητας. Δέχεται ότι υπάρχουν σε κάθε μόριο ή κύτταρο περιοχές-στόχοι που πρέπει να ιονιστούν από την ακτινοβολία για να επέλθει καταστροφή του μορίου (ή του κυττάρου). Με αυτή την παραδοχή, η εκθετική καμπύλη του σχήματος Α, δείχνει ότι υπάρχει μια περιοχή σε κάθε μόριο ή κύτταρο που προσβάλλεται από την ακτινοβολία και προκαλεί αδρανοποίηση.

Β) Καμπύλη πολλαπλής προσβολής (multiple hit curve): Παρατηρείται κατά την ακτινοβόληση βακτηρίων ή και ανώτερων οργανισμών και δείχνει ότι σε χαμηλές δόσεις δεν παρατηρείται καμία επίπτωση, ενώ καθώς αυξάνεται η δόση τότε παρατηρούνται επιπτώσεις με εκθετική μορφή. Σύμφωνα με τη θεωρία του στόχου, αυτό που συμβαίνει είναι ή ότι χρειάζονται περισσότεροι από ένας ιονισμοί (προσβολές) για κάθε στόχο ή ότι υπάρχουν δύο (ή περισσότεροι) στόχοι για κάθε κύτταρο, ώστε να προκληθεί καταστροφή. Διάκριση μεταξύ των δύο περιπτώσεων είναι πολύ δύσκολη, αλλά προεκτείνοντας την καμπύλη προς τον κατακόρυφο άξονα μπορούμε να κάνουμε κάποια εκτίμηση για τον αριθμό των προσβολών ή τον αριθμό των στόχων.

Γ) Διφασική καμπύλη (Biphasic curve): Παρατηρείται όταν σε ένα ακτινοβολούμενο πληθυσμό κυττάρων ή οργανισμών υπάρχουν διαφορές ραδιοευσαισθησίας. Έτσι σε χαμηλές δόσεις παρατηρείται άμεση καταστροφή των ευαίσθητων

κυττάρων ή οργανισμών, ενώ σε υψηλότερες δόσεις παρατηρείται ανθεκτικότητα των λιγώτερο ραδιοευαίσθητων. Οι σχετικές ευαισθησίες των δύο, ή περισσότερων κατηγοριών κυττάρων (ή οργανισμών) εκτιμάται με προέκταση της καμπύλης από τα δύο της άκρα προς την αντίθετη πλευρά, εφαπτομενικά.

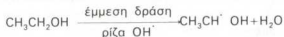
Δ) *Καμπύλη ενεργοποίησης* (stimulation curve): Παρατηρείται κατά την ακτινοβόληση ανωτέρων Φυτών, Ζώων, Φυκών και μερικών Βακτηρίων, δηλ. διαπιστώνεται αύξηση βιωσιμότητας (π.χ. αύξηση ύψους φυτού, αύξηση σύνθεσης RNA) μετά από έκθεση σε χαμηλές δόσεις. Οι περιπτώσεις αυτές δεν μπορούν να εξηγηθούν με τη θεωρία του στόχου, παρά μόνο αν δεχθούμε ότι γίνεται αλλαγή μορίων που σε φυσιολογική κατάσταση διατηρούν σε χαμηλά επίπεδα τις ενεργοποιούμενες διεργασίες (π.χ. καταστροφή αναστολέων σύνθεσης RNA, κ.λπ.).

### 3.3. Σχετική αποτελεσματικότητα της άμεσης και της έμμεσης δράσης των ακτινοβολιών

Σε πολλές περιπτώσεις ένα ένζυμο ή ένας ιός μπορούν να αδρανοποιηθούν ή με άμεση ή με έμμεση δράση μιας ακτινοβολίας. Πάντως, η αποτελεσματικότητα (δηλ. η απαιτούμενη ενέργεια) δεν είναι η ίδια και στις δύο περιπτώσεις, όπως άλλωστε και οι αρχικές αντιδράσεις δεν είναι οι ίδιες: Η άμεση δράση προκαλεί γενικά διάσπαση του μορίου, ενώ η έμμεση δράση προϋποθέτει την παρουσία μιας ελεύθερης ρίζας, η οποία προστίθεται στο μόρι ή αφαιρεί από αυτό ένα άτομο ή μια ομάδα ατόμων. Αν η ελεύθερη ρίζα αφαιρέσει ένα άτομο από το μόριο, τότε το τελικό προϊόν είναι δυνατόν να είναι το ίδιο ή όμοιο, τόσο κατά την άμεση όσο και κατά την έμμεση δράση. Αυτό συμβαίνει π.χ. στις αλκοόλες όπου το μόριο μπορεί να ενεργοποιηθεί με άμεση δράση και να ελευθερώσει ένα άτομο υδρογόνου:

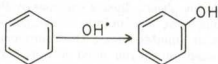


Το ίδιο αποτέλεσμα όμως μπορεί να επιτευχθεί έμμεσα με παρέμβαση της ρίζας  $\text{OH}^\cdot$ , οπότε το υδρογόνο που ελευθερώνεται ενώνεται με αυτήν και σχηματίζει νερό:



Και στις δύο περιπτώσεις ο *συντελεστής G*, δηλ. ο αριθμός των μεταβαλλομένων ή παραγομένων μορίων/100eV απορροφούμενης ενέργειας είναι ο ίδιος. Διαφορετικό είναι το αποτέλεσμα με το βενζόλιο. Εκεί, κατά την άμεση δράση

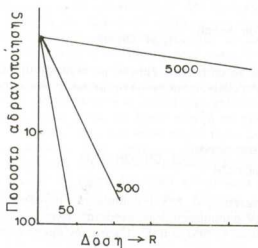
ση το μόριο διασπάται σε μεγάλο αριθμό στοιχείων ή/και ενώσεων όπως π.χ. το υδρογόνο, το ακετυλένιο κ.α. Κατά την έμμεση δράση (παρέμβαση της ρίζας  $\text{OH}^{\cdot}$ ) το κύριο προϊόν, η φαινόλη, παράγεται μετά από προσθήκη της ρίζας  $\text{OH}^{\cdot}$  στον δακτύλιο του βενζολίου:



Η ενέργεια που χρειάζεται για να σχηματιστεί ένα μόριο φαινόλης με έμμεση δράση είναι περίπου 45eV (δηλ.  $G=100\text{ev}/45=2,2$ ) ενώ κατά την άμεση δράση χρειάζεται ενέργεια 50-100 φορές μεγαλύτερη για να γίνει διάσπαση του μορίου του βενζολίου.

Κατά κανόνα η ανθεκτικότητα των διαφόρων μορίων απέναντι στην άμεση δράση των ακτινοβολιών δεν είναι τόσο μεγάλη όπως στο βενζόλιο. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου η ενέργεια που χρειάζεται για χημική αλλοίωση του μορίου είναι ίδια τόσο κατά την άμεση όσο και κατά την έμμεση δράση. Στις πιο πολλές όμως περιπτώσεις η ενέργεια που χρειάζεται για την αδρανοποίηση ενός μορίου ενζύμου ή ιού με άμεση δράση είναι πολύ μικρότερη από εκείνη που χρειάζεται για την αδρανοποίηση με έμμεση δράση. Κατά κανόνα, αρκεί ένας μόνος ιονισμός ανά μόριο (32,5 ή 35eV) για να αδρανοποιηθεί ένας ιός ή ένας βακτηριοφάγος με άμεση δράση, ενώ σε αραιωμένο διάλυμα (έμμεση δράση) απαιτούνται χίλιοι περίπου ιονισμοί ανά μόριο.

Η απαιτούμενη δόση για την αδρανοποίηση ενός δεδομένου (επί της %) ποσού μορίων ενζύμου ή ιού σε διάλυμα ελαττώνεται όσο μειώνεται η συγκέντρωσή τους (εικ. 56) λόγω συμβολής του έμμεσου αποτελέσματος. Αν  $D_0$  παριστάνει



Εικ. 56: Συμπεριφορά της συγκέντρωσης ενζύμου (σε  $\text{mg/ml}$ ) στο ποσοστό αδρανοποίησής του.



τη δόση 37% για την άμεση δράση (η οποία, όπως είδαμε, εξαρτάται από τη συγκέντρωση), τότε η δόση  $D_c$  των 37% στη συγκέντρωση  $c$  (ανά γραμ./κυβ. εκατ.) βρίσκεται με τη σχέση:  $D_c = D_0 / (1 + a/c)$ , όπου  $a$  είναι η σχέση μεταξύ της ενέργειας της απαιτούμενης για αδρανοποίηση με έμμεση δράση (δηλαδή του αριθμού των μορίων της διαλυμένης ουσίας, των αδρανοποιουμένων για κάθε ιονισμό που προκαλείται μέσα στο διαλυτικό μέσο) και της ενέργειας που απαιτείται για αδρανοποίηση με άμεση δράση (δηλαδή του αριθμού των μορίων της διαλυμένης ουσίας των αδρανοποιουμένων για κάθε άμεσο ιονισμό αυτών των μορίων). Όταν η άμεση δράση είναι αποτελεσματικότερη της έμμεσης, το  $D_c$  πλησιάζει το  $D_0$ , για να εξισωθεί εντελώς με αυτό ( $D_c = D_0$ ), όταν η αποτελεσματικότητα της άμεσης δράσης και σε σχετικά αραιά διαλύματα είναι πάρα πολύ μεγαλύτερη της έμμεσης (οπότε το  $a$  έχει πολύ μικρή τιμή). Σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις η δόση αδρανοποίησης ( $D_c$ ) δεν εξακολουθεί ελαττούμενη, αλλά φθάνει σε μια οριακή τιμή, πέρα της οποίας παραμένει σταθερή, διότι στις αραιώσεις αυτές οι ελεύθερες ρίζες δεν έχουν πλέον επίδραση, επειδή αντιδρούν περισσότερο μεταξύ τους παρά με τη διαλυμένη ουσία. Με τις συνθήκες αυτές η απόδοση της έμμεσης δράσης (και συνεπώς και ο συντελεστής  $a$ ) ελαττώνεται, όταν μειωθεί η συγκέντρωση. Το μέσο σημείο, όπου η δόση των 37%  $D_c$  γίνεται ίση με  $D_0/2$ , επιτυγχάνεται όταν η συγκέντρωση του υποστρώματος ανά γραμ./κυβ. εκατ. είναι αριθμητικά ίση με το  $a$ .

Όταν ακτινοβολεί κανείς μη καθαρά παρασκευάσματα, πρέπει να έχει υπ' όψη του ότι οι προσμίξεις δρουν σαν προστατευτικοί παράγοντες και ελαττώνουν την απόδοση της έμμεσης δράσης και συνεπώς την τιμή του συντελεστή  $a$ .

Για τον ιό της μωσαϊκής του καπνού, όπως και για τους περισσότερους ιούς η έμμεση δράση δεν είναι αποτελεσματική, το  $a$  είναι της τάξης των  $10^{-4}$  και σαν αποτέλεσμα η δόση των 37% δεν εξαρτάται από τη συγκέντρωση, παρά μόνο όταν αυτή είναι μικρότερη των  $2 \times 10^{-3}$  γραμ./cm<sup>3</sup>. Η προσθήκη μικρών ποσών ζελατίνης (προστατευτική ουσία) ελαττώνει ακόμη περισσότερο την αποτελεσματικότητα της έμμεσης δράσης, της οποίας η συμβολή στην αδρανοποίηση γίνεται ίση προς το μηδέν και στις μεγαλύτερες ακόμη δυνατές αραιώσεις. Με άλλες λέξεις σ' όλη την περιοχή των δυνατών συγκεντρώσεων η δόση των 37% γίνεται ανεξάρτητη από την έμμεση δράση.

Για τα ένζυμα η απόδοση της έμμεσης δράσης είναι πολύ μεγαλύτερη παρά για τους ιούς και κυμαίνεται μεταξύ  $10^{-2}$  και 1. Η αντίστοιχη τιμή του  $a$  είναι επίσης μεγαλύτερη, στα συνηθισμένα δε διαλύματα (συγκέντρωση 1%) η συμβολή της έμμεσης δράσης στην αδρανοποίηση είναι σημαντική, αν όχι επικρατούσα. Εδώ επίσης η παρουσία ξένων ουσιών δρα προστατευτικά, αλλ' είναι αδύνατον να προβλέψει κανείς την αποτελεσματικότητά τους.

Αν και τα δεδομένα τα οποία προκύπτουν από τα πειράματα *in vitro* δεν μπορούν να εφαρμοστούν αμέσως στα *in vivo* παρατηρούμενα φαινόμενα (ο βαθμός προστασίας σ' αυτά είναι άγνωστος), πάντως αυτά δείχνουν ότι ο ρόλος της έμμεσης δράσης είναι πιθανώτατα σημαντικότερος για την αδρανοποίηση των ιών παρά των ενζύμων.

Οι βιταμίνες, όπως λ.χ. το ασκορβικό οξύ και το νικοτινιμίδιο, σε υδατικό

διάλυμα αδρανοποιούνται σε μεγαλύτερο βαθμό στους 4°C παρά στους -35°C. Το ότι και στη χαμηλή θερμοκρασία των -35°C επιτελείται ακόμη μικρός βαθμός αδρανοποίησης πρέπει να αποδοθεί στην άμεση δράση. Όταν οι ουσίες αυτές διαλυθούν μέσα σε χυμό πορτοκαλιού αντί μέσα σε νερό, τότε η αδρανοποίηση αυτών στους 18°C είναι πολύ ασθενέστερη, αλλ' η επίδραση της θερμοκρασίας εξαφανίζεται σχεδόν ολοκληρωτικά. Πιθανώς ο χυμός των πορτοκαλιών να δρα σαν προστατευτικός παράγοντας, ελαττώνοντας το έμμεσο, όχι όμως και το άμεσο αποτέλεσμα.

### 3.4. Δράση ελευθέρων ριζών

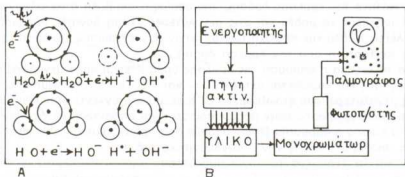
Ελεύθερες ρίζες (free radicals) είναι άτομα ή μόρια που προκύπτουν από άμεση επίδραση της ακτινοβολίας στα μόρια του νερού. Πρόκειται για ασταθείς μορφές μορίων εξ' αιτίας του ασύζευκτου (δηλ. με ίδιο spin) ζεύγους ηλεκτρονίων της εξωτερικής στοιβάδας. Η διασπορά των ριζών αυτών είναι ο κύριος φορέας της έμμεσης δράσης.

#### 3.4.1. Ραδιόλυση του νερού

Εξ αιτίας της μεγάλης περιεκτικότητας των κυττάρων σε νερό, η έμμεση επίδραση της ακτινοβολίας σε σχέση με τη ραδιόλυση του νερού, είναι πολύ σημαντική (εικ. 57). Μετά από έναν αρχικό ιονισμό, όπου παράγονται «ξηρά» ιόντα:



ακολουθεί μια σειρά φυσικοχημικών αντιδράσεων όπως έχουν προταθεί από τους Samuel και Maggee, οι οποίοι θεωρούν ότι το ελεύθερο ηλεκτρόνιο που



Εικ. 57: Πειραματική διάταξη ανίχνευσης των προϊόντων (Α) της ραδιόλυσης του νερού με τη βοήθεια «παλμών» ακτινοβολίας (Β). Δίνεται ένας σύντομος παλμός διάρκειας 10<sup>-9</sup> έως 10<sup>-3</sup> sec και τα προϊόντα ανιχνεύονται με φασματοφωτομετρία απορρόφησης.

παράγεται, χάνει ενέργεια πολύ κοντά (~350Å) στο μητρικό (ή πατρικό) ιόν, (αφού το  $H_2O^+$  έχει εμβέλεια 85Å) ώστε:



με αποτέλεσμα το διηγεμένο μόριο νερού ( $H_2O^*$ ) να διασπαστεί, σχηματίζοντας δύο πολύ δραστικές *ελεύθερες ρίζες*, δηλ. άτομα ή μόρια με ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα και κατά συνέπεια ασταθή – Συμβολίζονται με μια τελεία επάνω δεξιά:



Σύμφωνα με τους Platzman και Fröhlich αυτό που συμβαίνει είναι ότι το αρχικό («ξηρό») ηλεκτρόνιο χάνει ενέργεια συνδεδεμένο με μόρια νερού (δηλ. δημιουργείται «ενυδατωμένο ηλεκτρόνιο»)



ενώ το μητρικό ιόν ( $H_2O^+$ ) διασπάται:



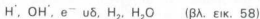
Έτσι το πρωτόνιο ( $H^+$ ) που δημιουργήθηκε αντιδρά με το ενυδατωμένο ηλεκτρόνιο παράγοντας την ελεύθερη ρίζα  $H^\cdot$ :



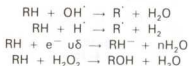
Βλέπουμε λοιπόν ότι και με τους δύο τρόπους παράγονται ελεύθερες ρίζες  $OH^\cdot$  και  $H^\cdot$  που με τη σειρά τους αντιδρούν για σχηματισμό νερού, υδρογόνου και υπεροξειδίου του υδρογόνου:

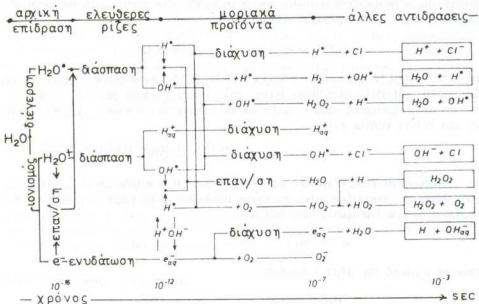


Όλες οι παραπάνω αντιδράσεις γίνονται *πολύ γρήγορα* δηλ. μέσα σε ένα δεκάκις εκατομμυριοστό του δευτερολέπτου ( $10^{-7}$ sec), ώστε τελικά σχηματίζονται τα παρακάτω μόρια που με τη σειρά τους είναι διαθέσιμα για αντιδράσεις:



Ακολουθεί αντίδραση των προϊόντων αυτών με άλλα μόρια:





Εικ. 58: Πορεία της ραδιόλυσης του νερού μετά την επίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας.

Με άλλα λόγια η ραδιόλυση του νερού καταλήγει σε οξειδωτικές αντιδράσεις. Η αντίδραση των ριζών  $H^\bullet$ ,  $OH^\bullet$  και του ενυδατωμένου ηλεκτρονίου  $e^-$  υδ με διάφορα βιολογικά μόρια είναι η ακόλουθη (Πίνακας XVIII):

ΠΙΝΑΚΑΣ XVIII: Αντιδράσεις των προϊόντων ακτινοβόλησης με βιολογικά μόρια (Nieman, 1983)

Βιολογικό μόριο	Ρυθμός αντίδρασης (mol/sec)		
	Ενυδατωμένο ηλεκτρόνιο ( $e^-$ υδ)	Ελεύθερη ρίζα $H^\bullet$	Ελεύθερη ρίζα $OH^\bullet$
$e^-$	$6 \times 10^9$	$2,5 \times 10^{10}$	$3 \times 10^{10}$
H	$2,5 \times 10^{10}$	$2 \times 10^{10}$	$2 \times 10^{10}$
$OH^\bullet$	$3 \times 10^{10}$	$2 \times 10^{10}$	$6 \times 10^9$
$H_2O$	16	—	—
$o_2$	$2 \times 10^{10}$	$2,2 \times 10^{10}$	—
$CO_2$	$8 \times 10^9$	$\sim 10^8$	$3 \times 10^8$
$CH_3OH$	$\sim 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$5 \times 10^8$
Θυμίνη	$2 \times 10^{10}$	$2 \times 10^9$	$5 \times 10^9$
Θυμιδίνη	—	$2,5 \times 10^8$	$4 \times 10^9$
Ουρακίλη	$7,7 \times 10^9$	—	$4,5 \times 10^9$
Κυτασίνη	$8 \times 10^9$	—	$4 \times 10^9$
Κυτιδίνη	$10^{10}$	—	$4 \times 10^9$
Αδενίνη	$3 \times 10^{10}$	$8 \times 10^7$	$4 \times 10^9$
Αδενοσίνη	$10^{10}$	$1,4 \times 10^8$	$3,6 \times 10^9$

### 3.4.2. Αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών του νερού με ανόργανα και οργανικά μόρια

Όπως είδαμε, μέρος των σχηματιζομένων κατά τον ιονισμό του νερού ελευθέρων ριζών αντιδρούν αμέσως μεταξύ τους και δίνουν γένεση σε νέα μόρια ( $H_2$  και  $H_2O_2$ ). Συνεπώς το ποσοστό αυτό των ριζών δεν είναι διαθέσιμο να αντιδράσει με άλλα μικρομόρια ή μακρομόρια. Το υπόλοιπο των ελευθέρων ριζών διαχέεται μέσα στο διάλυμα και μπορεί να αντιδράσει με παντοειδή μόρια του συστήματος.

#### 3.4.2.1. Αντιδράσεις της ρίζας $OH^\cdot$

Η ρίζα αυτή είναι δυνατόν να προκαλέσει τις ακόλουθες αντιδράσεις: α) οξειδώσεις, όπως, λ.χ.  $Fe^{++} + OH^\cdot \rightarrow Fe^{+++} + OH^-$ , β) απόσπαση ενός ατόμου υδρογόνου, όπως π.χ.  $CH_3 \cdot CH_2OH + OH^\cdot \rightarrow CH_3 \cdot CHOH + H_2O$ , γ) υποκατάσταση στην περιοχή διπλού δεσμού και δ) αναγωγή μιας ισχυράς οξειδωτικής ουσίας, όπως π.χ.  $Ce^{++++} + OH^\cdot + H_2O \rightarrow Ce^{+++} + H_2O_2 + H^+$ .

#### 3.4.2.2. Αντιδράσεις της ρίζας $H^\cdot$

Η δραστηριότητα της ρίζας αυτής είναι πολύ περιορισμένη, διότι ταυτόχρονα με το σχηματισμό της αντιδρά ταχύτατα με μοριακό οξυγόνο, που παρέχει την ρίζα  $HO_2^\cdot$ .

#### 3.4.2.3. Αντιδράσεις της ρίζας $HO_2^\cdot$ (υπεροξύλειο).

Η ρίζα αυτή είναι δυνατόν όπως είδαμε, να προέλθει από την ένωση της ρίζας  $H^\cdot$  με το μοριακό οξυγόνο. Άλλοι τρόποι σχηματισμού της είναι οι ακόλουθοι:

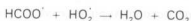


ή

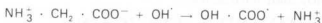


Η ρίζα  $HO_2^\cdot$  έχει μικρότερη ικανότητα αντίδρασης και συνεπώς μακρότερη ζωή από τη ρίζα  $OH^\cdot$ : Είναι ισχυρό οξειδωτικό μέσο (το οξειδαναγωγικό δυναμικό της είναι μικρότερο του  $OH^\cdot$ ) και συλλαμβάνει εύκολα ένα ηλεκτρόνιο, μετατρέπόμενη σε ιόν:





Σε υδατικό διάλυμα η κυριώτερη αντίδραση μεταξύ ελευθέρων ριζών και αμινοξέων είναι η απαμίνωση των τελευταίων:



Παρόμοια αλυσιδωτή αντίδραση παρατηρείται για τα περισσότερα των αμινοξέων (περιλαμβανομένης και της έχουσας ιμιδαζολικό χαρακτήρα ιστιδίνης). Εξαίρεση αποτελεί η κυστεΐνη, στη οποία παρατηρείται οξειδωση της ομάδας SH ( $2\text{SH} \rightarrow \text{S} \cdot \text{S} + \text{H}_2$ ) και τα αρωματικά αμινοξέα (φαινυλαλανίνη και τυροσίνη), στα οποία διαπιστώθηκε οξειδωση του βενζολικού δακτυλίου προς φαινολικό.

Σε σχέση με τα βιολογικά μακρομόρια (ένζυμα κλπ.) είναι γνωστό ότι αυτά αδρανοποιούνται κατόπιν ακτινοβόλησης, οι χημικές λεπτομέρειες όμως της αδρανοποίησης δεν είναι ακόμη γνωστές.

### 3.4.3. Επίδραση των ακτινοβολιών στα υδροκολλοειδή

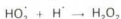
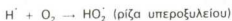
Εκτός από τις χημικές μεταβολές που προκαλούν σε ένα σύστημα διασποράς οι ιονίζουσες ακτινοβολίες, είναι δυνατόν να έχουμε, αν το σύστημα βρίσκεται στην κολλοειδή κατάσταση, και μεταβολές των φυσικών ιδιοτήτων του. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για το κυτταρόπλασμα το οποίο είναι ένα υδρόφιλο πολυφασικό κολλοειδές σύστημα.

Η ακτινοβόληση ενός τέτοιου κολλοειδούς συστήματος συνεπάγεται μεταβολή του ηλεκτροκινητικού δυναμικού ( $\zeta$ ) των μικκυλίων, που μετρούμε με έλεγχο της ταχύτητας μετακίνησής τους κατά την ηλεκτροφόρηση. Το δυναμικό αυτό είναι συνάρτηση του φορτίου του μικκυλίου και του πάχους του περιβάλλοντος αυτό υδατινού περιβλήματος. Το υδατινό περίβλημα σχηματίζεται, ως γνωστόν, γύρω από κάθε μικκύλιο από ηλεκτρικά δίπολα μόρια νερού, που λόγω του φορτίου του μικκυλίου δεσμεύονται από αυτό ηλεκτροστατικά. Το πάχος του περιβλήματος καθορίζει το βαθμό ενυδάτωσης του μικκυλίου. Όταν ακτινοβολήσουμε ένα τέτοιο σύστημα, προκαλούμε λόγω ραδιόλυσης του νερού ελευθέρωση θερμικών ηλεκτρονίων και σχηματισμό ιόντων, τα οποία ενούμενα με τα μικκύλια είναι δυνατόν να μεταβάλουν το φορτίο τους και συνεπώς και το ηλεκτροκινητικό δυναμικό.

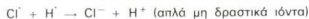
Από τα παραπάνω προκύπτει, ότι κατά την εξέταση των αποτελεσμάτων της επίδρασης ιονιζουσών ακτινοβολιών σε ζωντανούς οργανισμούς πρέπει να έχουμε υπ' όψη μας και τη δυνατότητα καθαρά φυσικοχημικών μεταβολών στο κυτταρόπλασμα και στα κυκλοφορούντα υγρά.

### 3.5. Ραδιοευαισθησία — Ο ρόλος του οξυγόνου

Το οξυγόνο που υπάρχει στα κύτταρα, σαν ενεργοποιητής της αναπνευστικής αλυσίδας για παραγωγή ενέργειας με τη μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ΑΤΡ) επηρεάζει σημαντικά τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών:

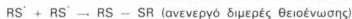


Αντίθετα άλλα ανόργανα μόρια ελαττώνουν τη δράση των ελευθέρων ριζών:



### 3.6. Επανορθωτικές διεργασίες — ραδιοευαισθητοποιητές (sensitizers)

Τροποποίηση των βλαβερών επιπτώσεων της ιονίζουσας ακτινοβολίας στη ζωντανή ύλη μπορεί να γίνει σε διάφορα επίπεδα όπως π.χ. στο αρχικό στάδιο του σχηματισμού των ελευθέρων ριζών. Όπως αναφέρθηκε, το οξυγόνο και το χλώριο επηρεάζουν τη δράση των ελεύθερων ριζών, καθώς και η ιστιδίνη που ελαττώνει σημαντικά τη δράση των ριζών. Ακόμα, οι θειοενώσεις επαναφέρουν τις οργανικές ενώσεις στην αρχική τους μορφή π.χ.



Θα πρέπει όμως να τονιστεί ότι οι παραπάνω αντιδράσεις είναι δυνατές εφόσον δεν έχει μετατραπεί η οργανική ένωση σε ρίζα υπεροξειδίου, δηλ.  $R^{\cdot} + O_2 \rightarrow RO_2^{\cdot}$  (δραστική ρίζα)

Αύξηση της ευαισθησίας του DNA στην ακτινοβολία μπορεί να γίνει αν αντικατασταθεί (π.χ. κατά την αντιγραφή του DNA) η βάση θυμίνη από 5-βρωμοουρακίλη. Τροποποίηση των βλαβερών επιπτώσεων γίνεται επίσης με ελάττωση του ρυθμού δόσεων της ακτινοβολίας και ιδιαίτερα όταν συμβαίνουν επανορθωτικές διεργασίες (αυτό δεν συμβαίνει όμως για ακτινοβολίες με μεγάλο LET).