

Э. Я. ГРАЕВСКИЙ

О ТЕМПЕРАТУРНОЙ ЗАВИСИМОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 2 I 1952)

Фотодинамическим действием называется сенсбилизация биологической системы к видимой и, быть может, к ближней ультрафиолетовой радиации веществом (красителем или пигментом), которое служит поглотителем света, необходимого для фотохимических реакций. По данным ряда исследователей, в возникающих в этом случае реакциях обязательное участие принимает молекулярный кислород.

Авторы, изучавшие зависимость фотодинамического действия от температуры, отмечают, что, как и в случае обычных фотохимических процессов, не усложненных дополнительными вторичными реакциями, фотодинамический процесс, точнее его фотохимическая часть, почти не зависит от температуры: его температурный коэффициент близок к единице. Так, для фотодинамического гемолиза обнаружен температурный коэффициент, равный 1—1,2^(1, 2), а температурный коэффициент фотодинамической инактивации инвертазы составляет 1,12⁽³⁾. Вольгемут и Сдеренюи⁽⁴⁾ указывают, что поглощение кислорода фотосенсибилизированными тканями не зависит от температуры. Большие величины температурных коэффициентов обычно рассматриваются как результат методических ошибок, возникших в результате включения в проведенные измерения вторичных процессов.

В то же время при изучении фотохимических процессов постоянно устанавливается закономерная, хотя и слабая зависимость от температуры; при понижении температуры наблюдается ослабление эффекта облучения⁽⁵⁾. Значительно большее влияние температура оказывает в случае оптической сенсбилизации фотографического слоя — явления, обнаруживающего чрезвычайно большое внешнее сходство с фотодинамическим действием. Здесь установлены следующие факты: 1) с изменением температуры светочувствительность эмульсии в области сенсбилизации изменяется быстрее, чем в области ее собственной чувствительности⁽⁶⁾; 2) при увеличении температуры уменьшается температурный коэффициент; 3) при переходе к сенсбилизации в более длинноволновой части спектра происходит увеличение температурного коэффициента⁽⁷⁾.

Перечисленные факты, а также химическая, окислительная природа фотодинамического процесса, заставили меня предположить наличие более сильной, сравнительно с несенсибилизированными фотохимическими процессами, его зависимости от температуры, чем это обычно допускается. Это обстоятельство и побудило меня предпринять экспериментальное исследование влияния температуры на фотодинамический процесс.

Объектом исследования явилась кишечная палочка (*Bacterium coli commune*). Критерием степени повреждения бактерий служили различия в способности их к размножению. Фотосенсибилизация достигалась помещением бактерий в раствор фотодинамически активного красителя (новометиленовый голубой N). Источником света служила 300-ваттная лампа, помещаемая на расстоянии 12 см от объекта, при напряжении на клеммах лампы в 110 в.

Суточные культуры кишечной палочки, выращенные на мясо-пептонном агаре при температуре 37°, разводились физиологическим раствором, куда затем добавлялся краситель, доведшийся до концентрации 0,001%. В растворе красителя бактерии выдерживались 30 мин. при температуре 37°. После этого капли раствора объемом 0,01 мл, содержавшие по 1 млн. микробных тел, наносились на тонкие пластинки слюды и затем подвергались освещению при температурах 0, 15 и 37° в течение 3—30 мин., а при температуре жидкого кислорода (—183°) — в течение 5—300 мин. Контролем служили такие же капли с бактериальной взвесью, содержавшие при этих же температурах, но не облученные. После освещения облученные и контрольные капли смывались в пробирки с равным количеством физиологического раствора, откуда затем производился высеv одинаковых количеств материала на агаровую среду (Эндо) в чашки Петри. Колонии бактерий, выросшие за сутки при 37°, подсчитывались на опытных и контрольных чашках. Для каждой серии

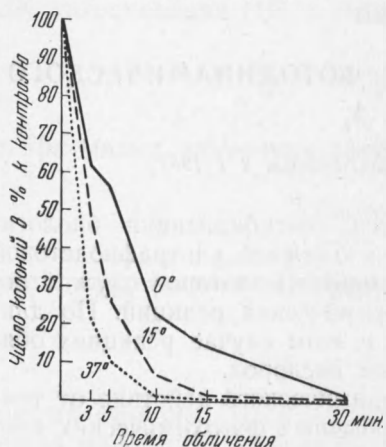


Рис. 1. Зависимость степени повреждения бактерий от сроков освещения при температурах 0, 15 и 37°

вычислялись средние числа колоний, выраставших в контроле и после освещения, и числа колоний в чашках с материалом, облученным при определенной температуре, выражались в процентах к контролю, содержавшемуся при той же температуре.

Итоги 4 серий опытов (45 опытов), проведенных при температурах 0, 15 и 37°, представлены графически на рис. 1. Результаты 5 серий опытов (42 опыта), проведенных при температуре жидкого кислорода, представлены на рис. 2. Кривые отображают суммарный результат всех наблюдений и показывают зависимость количества бактерий, выраженного в процентах к контролю, содержавшемуся в растворе красителя при той же температуре, от сроков облучения при разной температуре.

Полученные данные свидетельствуют о том, что температура в момент освещения оказывает значительное влияние на выживаемость микроорганизмов. Наибольшее повреждение бактерий наблюдается при температуре 37°, тогда как при понижении температуры стойкость организмов существенно возрастает. Так, гибель 50% клеток при 37° достигается освещением в течение 2 мин., при 15°—3 мин., а при 0°—6 мин. Температурный коэффициент этого процесса, равный в температурном интервале 37—0° 1,25—1,6, увеличивается с понижением температуры.

Сопоставление результатов фотодинамического повреждения бактерий при комнатной температуре (22°) и при температуре жидкого кислорода (—183°) также обнаружило существенную температурную зависимость этого процесса. Тогда как при комнатной температуре гибель 100% клеток достигалась облучением в течение 15—30 мин., освещение бактерий при температуре —183° даже в течение 5 час. оказалось безрезультатным.

Фотодинамическое действие на бактериальные клетки обнаруживает, следовательно, прямую зависимость от температуры. При уменьшении температуры, как и в случае сенсibilизированной фотографической эмульсии, несколько возрастает температурная зависимость процесса. При достаточно низких температурах (-183°) фотодинамический процесс практически не протекает. Таким образом, как мы и предположили, температура оказывает значительно более сильное влияние на фотодинамический эффект, чем на несенсibilизированный фотохимический процесс.

Это хорошо иллюстрируется сопоставлением полученных данных с результатами, изложенными в предыдущих работах. Мною было исследовано влияние температур $41, 37, 15, 0^{\circ}$ и -183° на бактерицидное действие ультрафиолетовых лучей. Действие радиации на бреславльскую и кишечную палочки оказалось наиболее

слабым при 15° . Усиление действия радиации наблюдалось не только при повышении температуры, но и при ее понижении. Последнее обстоятельство хорошо объясняется тем, что температурная зависимость фотохимического процесса очень мала, вследствие чего на первый план выступает неблагоприятное влияние пониженной температур, суммирующееся с повреждающим действием лучистой энергии (^{5, 8-10}).

Как показали данные настоящей работы, понижение температуры неуклонно ведет к ослаблению фотодинамического эффекта вследствие его большей зависимости от температуры. В этих опытах неблагоприятное влияние понижения температуры не проявляется, ибо оно с избытком компенсируется ослаблением фотодинамического эффекта при охлаждении. Обнаруженная разница температурной зависимости повреждения живого вещества лучистой энергией в присутствии фотодинамически активного красителя и без него свидетельствует о принципиальных различиях действия радиации в этих двух случаях.

Центральный рентгенологический,
радиологический и раковый институт
Ленинград

Поступило
30 XII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Blum, N. Pace and R. Garrett, Journ. Cell. Comp. Physiol., 9, 217 (1937).
² H. Davson and E. Ponder, *ibid.*, 15, 67 (1940). ³ B. Hannes and A. Jodlbauer, Biochem. Zs., 21, 110 (1909). ⁴ Y. Wohlgemuth und E. Szövényi, *ibid.*, 264, 371 (1933). ⁵ Э. Граевский, ДАН, 53, № 9 (1946). ⁶ О. Бартенева и Ю. Гороховский, ЖТФ, 14, 193 (1944). ⁷ П. Мейкляр и Б. Степанов, ДАН, 54, № 9 (1946). ⁸ Э. Граевский, ДАН, 62, № 1 (1950). ⁹ Э. Граевский, Природа, № 11 (1947). ¹⁰ Э. Граевский, Усп. совр. биол., 25, 2 (1948).

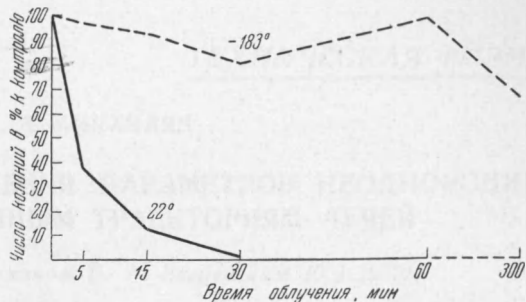


Рис. 2. Зависимость степени повреждения бактерий от сроков освещения при температурах 22 и -183°