

Э. Я. ГРАЕВСКИЙ

К ВОПРОСУ О ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ЭФФЕКТЕ
В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ СПЕКТРЕ

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

Известно, что биологическая система может быть сенсibilизирована к видимой радиации веществом (красителем или пигментом), которое поглощает свет, необходимый для фотохимических реакций, протекающих с обязательным участием молекулярного кислорода.

Исходя из того, что многие красители поглощают ультрафиолетовый свет, некоторые авторы считают возможной сенсibilизацию живого вещества и в этой области спектра. Однако результаты попыток сенсibilизации живых систем к ультрафиолетовым лучам являются крайне противоречивыми (1-4). Некоторые исследователи (5-9) находят, что фотодинамически активные красители могут сенсibilизировать биологические объекты и к ионизирующим излучениям. С другой стороны, ряд исследователей, изучавших влияние рентгеновского и γ -излучений на ферменты и парамеции, обработанные эозином, сообщает об отрицательных результатах (10-12).

В связи с неясностью этого вопроса я предпринял экспериментальное исследование возможности фотодинамического действия некоторых красителей в ультрафиолетовой области спектра.

Опыты были поставлены на кишечной палочке (*Bacterium coli commune*) и инфузориях (*Paramecium caudatum*). Степень повреждения бактерий устанавливалась по отличиям в их способности к размножению, тогда как критерием повреждения инфузорий явились их выживаемость, скорость движения и темп деления. Источником излучения служила ртутно-кварцевая лампа АРК-2. С. Розенталь (13) указывает, что видимая часть спектра этого источника света не дает при обычных сроках и способах облучения фотодинамического эффекта вследствие относительно слабой энергии излучения, поглощаемого сенсibilизатором. Это наблюдение было полностью подтверждено и моими экспериментами: лучи лампы, прошедшие через стекло, даже при очень длительных сроках облучения никакого повреждения у организмов не вызывали. Мной, следовательно, сопоставлялась чувствительность бактерий и инфузорий к ультрафиолетовому свету, обладающему, как известно, сильным повреждающим действием, в присутствии фотодинамически активных веществ, обнаруживающих интенсивное поглощение в этой области спектра, и без них.

В опытах с бактериями суточные культуры кишечной палочки, выращенные на мясопептонном агаре при температуре 37°, разводились физиологическим раствором, куда затем добавлялся фотодинамически действенный краситель новометиленовый голубой N, доведшийся до концентрации 0,005%, или трипафлавин в концентрации 0,00025%. В растворе красителя бактерии содержались в течение 30 мин. при температуре 37°. После этого капли раствора объемом 0,01 мл, содержавшие по

1 млн. бактерий, наносились на пластинки слюды и затем подвергались облучению в течение 5—30 мин. при температуре 22°, на расстоянии от горелки лампы в 1 м и при напряжении на клеммах лампы в 70 в. Контролем служили такие же капли с бактериальной взвесью, освещавшиеся в отсутствие красителя, а также бактерии, содержащиеся в тех же концентрациях красителя или без него, но не облученные. После окончания освещения облученные и контрольные капли смывались в пробирки с одинаковым количеством физиологического раствора, из которых затем производился высеv равных количеств материала на агаровую среду (Эндо) в чашки Петри. Выросшие за сутки при температуре 37° колонии бактерий подсчитывались на контрольных и опытных чашках, и для каждой серии полученных данных вычислялись средние числа выраставших колоний. Числа колоний в чашках с материалом, облученным в присутствии красителя или без него, соответственно выражались в процентах по отношению к контролю, содержащемуся в растворе красителя, или в отсутствие последнего.

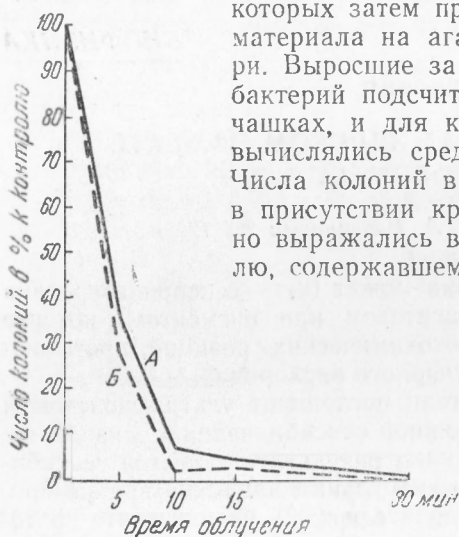


Рис. 1. Зависимость степени повреждения бактерий от сроков облучения в присутствии новометиленового голубого N (A) и без него (B). Данные каждой кривой указаны в процентах к соответствующему необлучавшемуся контролю

Суммарные результаты из 2 серий опытов (16 опытов), произведенных с новометиленовым голубым N, и 2 серий опытов (16 опытов), поставленных с триафлавином, представлены графически на рис. 1 и 2. Кривые показывают зависимость количества бактерий, выраженного в процентах к необлученному контролю, от сроков облучения в присутствии красителя и без него. Анализ полученных данных показывает, что добавление фотодинамически активного красителя несколько не усиливает бактерицидного действия ультрафиолетовых лучей, что принципиально отличает ультрафиолетовую радиацию в этом смысле от видимого света. В случае ультрафиолетового излучения иногда наблюдается даже некоторое снижение чувствительности организмов в присутствии красителей. При этом, видимо, сами сенсibilизаторы отфильтровывают ультрафиолетовые лучи, снижая тем самым их повреждающее действие. Однако отсутствие фотодинамического эффекта в этих случаях не может быть объяснено экранированием объекта от лучей избыточной концентрацией красителя. Употребление значительно меньших концентраций красителя, вызывающих резко выраженное фотодинамическое действие в видимой области спектра, также не дает в ультрафиолетовом свете фотодинамического эффекта.

Аналогичные опыты были поставлены с парамециями. Помимо выживаемости инфузорий, наблюдение велось также за скоростью их движения и темпом деления, по методу одиночного культивирования, предложенному В. Александровым (14). В культуральной среде с инфузориями растворялось определенное количество фотодинамически активного красителя. Окраска инфузорий производилась в темноте. После пребывания в растворе красителя в течение 30 мин. инфузории для отмывки от красителя помещались на 30 мин. в солонки с чистой средой, затем они в каплях объемом 0,1 мл подвергались облучению ультрафиолетовым светом в течение 2—10 мин. на расстоянии 50 см от горелки лампы (АРК-2), при напряжении на ее клеммах в 100 в. После освещения определялось число погибших организмов, а выжившие инфузории помещались в нормальные

условия культивирования, где велось наблюдение за их выживаемостью, скоростью движения и темпом деления. Контролем служили парameции, облучавшиеся в тех же условиях, но в отсутствие фотосенсибилизатора. В опытах были использованы следующие фотодинамически активные красители: метиленовый синий (0,001—0,0001 %); новометиленовый голубой N (0,001—0,00001 %); эозин (0,01 %); эритрозин (0,01—0,001 %); акридин красный (0,01—0,0001 %); акридин оранжевый (0,001—0,0002 %) и триафлавин (0,005—0,00002 %). Использованные растворы красителей, как правило, не являлись токсичными для инфузорий и в указанной постановке опыта обнаруживали чрезвычайно сильный фотодинамический эффект в видимой спектральной области. Однако чувствительность парameций к ультрафиолетовому излучению в присутствии этих красителей несколько не изменялась, если концентрация красителя сама по себе не оказывалась токсичной для организмов.

Таким образом, изложенные выше опыты показывают, что фотодинамические красители, при условии применения их в нетоксических концентрациях, не сенсibiliзируют живое вещество к ультрафиолетовому излучению. Тем менее вероятна сенсibiliзация живых систем этими веществами к X- и γ -лучам. Возможность такой сенсibiliзации представляется крайне сомнительной, также исходя из теоретических предпосылок. Ее трудно ожидать, так как если молекула красителя поглотит квант с энергией, соответствующей рентгеновской области спектра, то она окажется разорванной, а не активированной в фотохимическом смысле.

Результаты указанных выше работ, сообщающих об усилении эффекта ультрафиолетового и ионизирующих излучений в присутствии фотодинамических красителей, возможно, обусловлены более длинноволновой вторичной радиацией, возникающей в протоплазме в результате трансформации квантов длинноволновых рентгеновских лучей в меньшие кванты. Более вероятным, однако, представляется, что сенсibiliзация, наблюдаемая в этих опытах, ничего общего с фотодинамическим процессом не имеет, а представляет собой сумму двух подпороговых воздействий: повреждающего влияния рентгеновских лучей и темнового действия красителя на биологическую систему.

Попытки получить фотодинамический эффект совместным действием высокочастотного излучения и красителя также нельзя признать успешным. Вызывая гемолиз эритроцитов эритрозином, Роффо⁽¹⁵⁾ нашел, что этот процесс усиливается при действии высокочастотной радиации. Следует указать, однако, что кванты излучений высокой частоты, повидимому, слишком малы, чтобы вызвать активацию молекул красителя в фотохимическом смысле, т. е. изменить энергетические уровни электронов. вследствие чего результат, полученный Роффо, обусловлен, вероятно, не фотодинамическим эффектом, а иной причиной — быть может, нагревом.

Все изложенное выше дает основание полагать, что фотодинамическое

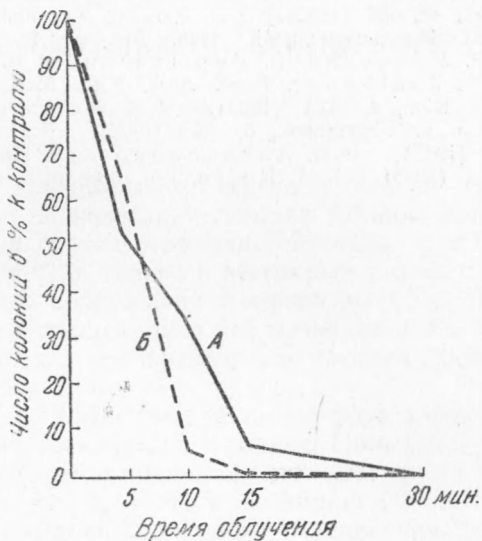


Рис. 2. Зависимость степени повреждения бактерий от сроков облучения в присутствии триафлавина (A) и без него (B). Данные каждой кривой указаны в процентах к соответствующему необлучавшемуся контролю

действие красителя может протекать с заметной интенсивностью, главным образом, в области видимой радиации и, быть может, в спектральных областях, непосредственно к ней прилегающих.

Центральный рентгенологический, радиологический
и раковый институт
Министерства здравоохранения СССР
Ленинград

Поступило
30 XII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. Hausmann u. C. Sonne, *Strahlenther.*, 25, 174 (1927). ² H. Lassen, *ibid.*, 27, 757 (1928). ³ W. Hausmann u. P. Rosenfeld, *ibid.*, 45, 125 (1932). ⁴ H. Blum, *Photodynamic Action and Diseases Caused by Light*, New York, 1941. ⁵ N. Podkaminsky, *Strahlenther.*, 38, 98 (1930). ⁶ C. Carrie, *ibid.*, 46, 697 (1933). ⁷ A. Roffo, *Bol. inst. med. exp. estud. cáncer.*, 9, 576 (1932). ⁸ А. Имшенецкий, *Изв. АН СССР, отд. мат. и ест. наук*, 225 (1932). ⁹ Э. Уманский, Б. Варшавский и В. Кудокоцев, *ДАН*, 65, № 4 (1949). ¹⁰ A. Jodlbauer, *Deut. Arch. Klin. Med.*, 80, 488 (1904). ¹¹ G. Viale, *Arch. Sci. Biol.*, 4, 323 (1923). ¹² H. Kammerer u. H. Weisbecker, *Arch. exp. Path. u. Pharmacol.*, 3, 263 (1926). ¹³ С. Розенталь, *Тр. Лец. К. В. И.*, 5, 39 (1945). ¹⁴ В. Александров, *Тр. Ин-та цитол., гистол. и эмбр. АН СССР*, 3, 1 (1948). ¹⁵ A. Roffo, *Bol. inst. med. exp. estud. cáncer.*, 10, 72 (1933).