

ÚJ FEJEZETEK A SEJTMEMBRÁNOK SUGÁRBIOLÓGIÁJÁBAN

KÖTELES GYÖRGY és KUBÁSZOVA TAMARA

Országos „Frederic Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató
Intézet, Budapest

Bevezetés

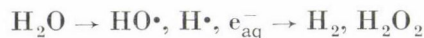
A sejtbiológia újabb és újabb eredményei mindig ösztönözték a sugárbiológiai vizsgálatokat, a sugárbiológia módszertani és elméleti ismeretanyaga pedig visszahatott a sejtbiológia fejlődésére. Ionizáló sugárzásoknak a sejt permeabilitását növelő hatását már a legkorábbi sugárbiológiai megfigyelések között leírták (KOVÁCS 1928, SAXE 1931, NEU 1950). Az ötvenes években pedig, amikor a membránok szerkezetének elektronmikroszkópos kutatása során nyilvánvalóvá vált a fehérje és a lipid komplexek szerepe, tanulmányozni kezdték ezeknek a membránkomponenseknek a sugárkémiaiáját. Ehhez igen nagy, több tízezer Gy-ig* terjedő sugárdózisokat alkalmaztak. Így azonban a vizsgálatok eredményeiből a több nagyságrenddel kisebb, sugárbiológiailag érdekes dózisú sugárzás *in vivo* hatásának mechanizmusára, a sejtbiológiai folyamatok változásaira nem, vagy csak igen közvetett módon lehetett következtetni. A sejt különböző membránjaira, illetve azok komponenseire vonatkozó, s a hetvenes évekig felhalmozott sokféle sugárbiológiai ismeretet több összefoglaló közlemény részletesen ismerteti (MYERS 1970, WALLACH 1974, PATRICK 1977). Az utóbbi évtizedben azonban a membránok dinamikus szerkezetének, a szerkezet és funkció összefüggésének mélyebb megismerésével, melynek során a folyékony mozaik szerkezet leírása döntő jelentőségű volt (SINGER és NICOLSON 1972, NICOLSON 1976, ISRAELACHVILI 1977), a membránrendszer sugárbiológiája újra az érdeklődés előterébe került (KÖTELES és KUBÁSZOVA 1977, KÖTELES 1979). Már a napjainkig összegyűjthető adatokból is az tűnik ki, hogy a membránok szupramolekuláris szerkezete, illetve funkciója olyan kis sugárdózisokra is érzékenyen reagál, melyek alkalmazása esetén a sejt túléli a sugárhatást, azaz regenerálódik. Különösen a plazmamebrán sugárzás okozta funkcionális változásai bizonyítják ezt az állítást, s a jelenségek alapján lehetővé válik a hatás mechanizmusának tanulmányozása is. Új ismeretek születtek a sugárzás okozta szabad gyökök képződésére, azok hatásmechanizmusára, illetve eliminálására vonatkozóan is, s úgy tűnik, hogy a

* Az abszorbeált sugárdózis új SI egysége a gray (Gy), mely egyenlő a régi egység, a rad százszorosával, azaz $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$.

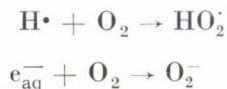
lipidekben, telítetlen zsírsavakban gazdagabb sejtszerkezeti elemek különösen érzékenyek ionizáló sugárzásokkal szemben. A membránok szerkezetére és funkciójára, valamint a sugárzás és a biológiai anyagok kölcsönhatására vonatkozó új ismeretek új megvilágításba helyezik a sejt membránrendszerének szerepét a sejt sugárkárosodásában és regenerációjában. A következőkben rámutatunk e témakörön belül néhány új ismeretre, illetve összefüggésre. A plazmamembrán sugárzás okozta reakcióival kapcsolatos saját vizsgálataink egyes eredményeit a következő előadásban részletezzük (KUBÁSZOVA és KÖTELES 1982).

Szabad gyökök képződése, reakcióik a membránokban és eliminálásuk

Bármely sugárzás kiváltotta biológiai jelenséghez olyan folyamat vezet, melyet fotonoknak, vagy töltéssel rendelkező, vagy töltés nélküli részecskéknek és a sejt anyagainak a kölcsönhatása indít el. Az ionizáló sugárzás hatásait és azok időbeni megjelenését a sejtben, vagy a szervezetben az I. táblázat szemlélteti. Látható, hogy a sugárzás biológiai hatásai az időskála 26 nagyságrendjén belül jelenhetnek meg. A folyamatok jellege alapján három főbb szakaszt szoktak megkülönböztetni, a fizikait, mely kb. 10^{-18} – 10^{-12} másodpercen belül zajlik le, a kémiait, kb. 10^{-12} –1 másodperc között és a biológiait, 1 és 10^8 másodperc között (ADAMS és JAMESON 1980). A fizikai fázisban keletkező elsődleges és másodlagos gyökök az élő sejt anyagaival való kölcsönhatásuk folytán biológiai hatásaikat kétféle módon fejthetik ki: *közvetlenül* ionizálhatják a biológiai molekulákat, megváltoztatva ezáltal szerkezetüket, mely kémiai esemény esetleg funkciójuk változásával, vagy elvesztésével járhat, valamint a biomolekulák módosulásai a vizes közegben sugárzás keltette szabad gyökök (páratlan elektront tartalmazó atomok, vagy molekulák) révén *közvetve* következhetnek be. Az élő sejt nagy víztartalma miatt az utóbbi mechanizmus jut túlsúlyba, s oxigént tartalmazó atmoszférában sokféle igen reakcióképes, erős oxidáló és redukáló hatású szabad gyök képződik, így



azaz a hidroxil gyök ($\text{HO}\cdot$), a hidrogén gyök ($\text{H}\cdot$) és az ún. hidratált elektron (e_{aq}^-). A szabad gyökök reagálhatnak egymással, így rekombinálódásukkal hidrogén molekula (H_2) és hidrogénperoxid (H_2O_2) szabadul fel a sejtben. A gyökök reagálhatnak továbbá az oxigén molekulával, amikor is további ún. szekunder szabad gyökök, a hidroperoxi ($\text{HO}\cdot_2$) és szuperoxid (O_2^-) gyökök keletkeznek:



I. táblázat

Ionizáló sugárzás és az élő anyag kölcsönhatásainak időbeni kiterjedése

[ADAMS és JAMESON (1980) alapján]

	(másodperc)			
<i>Fizikai szakasz</i>	10 ⁻¹⁸	gyors részecske áthalad egy atomon		
	10 ⁻¹⁷ —10 ⁻¹⁶	ionizáció	H ₂ O	→ H ₂ O ⁺ + e ⁻
	10 ⁻¹⁵	elektron excitáció	H ₂ O	→ H ₂ O*
		és		
	10 ⁻¹⁴	ion-molekula reakciók, pl. molekula vibráció, az excitált állapotok disszociációja	H ₂ O ⁺ + H ₂ O	→ HO· + H ₃ O ⁺ H ₂ O* → H· + HO·
<i>Kémiai szakasz</i>	10 ⁻¹²	ionok hidratálása	e ⁻	→ e _{aq} ⁻
	10 ⁻¹⁰ —10 ⁻⁷	az e _{aq} ⁻ és más gyökök reakciói az ionizációs pályán belül, a gyökök koncentrációja kb. 1 M	e _{aq} ⁻ + e _{aq} ⁻	→ H ₂ + 2 HO ⁻
			e _{aq} ⁻ + H·	→ H ₂
			e _{aq} ⁻ + O ₂	→ O ₂ ⁻
			e _{aq} ⁻ + HO·	→ HO ⁻
			2 HO·	→ H ₂ O ₂
			H· + HO·	→ H ₂ O
			H· + O ₂	→ HO ₂ · ⇌ ⇌ H ⁺ + O ₂ ⁻
	10 ⁻⁸ —10 ⁻⁷	a gyökök homogén eloszlása		
	10 ⁻⁷ —10 ⁻³	az e _{aq} ⁻ és más gyökök reakciói a szorbenssel, a gyökök koncentrációja kb. 10 ⁻⁷ M		
1	szabad gyökök reakciói többnyire befejezettek			
<i>Biológiai szakasz</i>	1 —10 ³ (percek)	biokémiai folyamatok zavara, pl. makromolekula szintézis, energiefelszabadító folyamatok változása		
	10 ³ —10 ⁵ (órák)	sejtbiológiai folyamatok zavara, pl. mitózisgátlás		
	10 ⁵ —10 ⁶ (napok, hetek)	korai, nem sztochasztikus (szomatikus) hatások		
	10 ⁶ —10 ⁸ (hónapok évek)	késői nem sztochasztikus (szomatikus), és sztochasztikus (daganatképződés, genetikai ártalom megjelenése) hatások		

Ugyancsak szuperoxid gyök keletkezik akkor is, amikor a HO₂ disszociál H⁺-ra és O₂⁻ gyökre:



A szabad gyökök jelenlétének időtartama a sejtben igen változó. A II. táblázatból látható, hogy a legtöbb primer, vagy szekunder gyöknél hosszabb ideig lehet jelen a hidratált elektron, egyéb oxigénfüggő gyökök, s a szuperoxid gyök jelenléte pedig akár egy órán át is kimutatható a besugárzott sejtben. A gyökök

II. táblázat

Ionizáló sugárzás hatására keletkező szabad gyökök jelenlétének időtartama a sejtben

Cyök-féleség	Időtartam, másodperc	Irodalom
e^- e_{aq}^-	10^{-16} — 10^{-12} 10^{-10} — 10^{-3}	ADAMS és JAMESON (1980). ADAMS és JAMESON (1980).
Oxigén-függő gyökök spórákban anaerob besugárzás esetén	120—300	STRATFORD és mtsai (1977). EWING (1980).
O_2^- vörösvérsejtekben	3600	STONE, LIN, KWOCK (1978).

sorsát, jelenlétük időtartamát meghatározza a sejtből való eliminálásuk módja. Ennek három fő útja van: a spontán *rekombinálódás*, a természetesen jelenlévő, vagy a rendszerbe vitt vegyületek, vagy antioxidánsok *gyökfogása* („scavenging”), vagy a gyökök *enzimatis* átalakítása. Az igen gyorsan reagáló gyököknél, mint pl. a hidroxil gyök ($HO\cdot$) nincs mód a sokkal lassúbb enzimatis eliminálásra. Más a helyzet azonban az igen toxikus szuperoxid gyökkel, mely a sejt normál oxidatív anyagcseréje során is keletkezik (FRIDOVICH 1975), s melynek az utóbbi években egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a sugárbiológiában is, ugyanis a szuperoxid gyökök, valamint a szekunder gyökök reakciói folytán képződött szerves gyökök még nem teljesen tisztázott mechanizmus révén a besugárzott sejtben újraképződnek (FRIDOVICH 1978). A nagy toxicitású szuperoxid gyököt, bár spontán diszmutációra is képes, a sejtekben a *szuperoxid diszmutáz enzimek* (SOD) több nagyságrenddel nagyobb reakciósebességgel eliminálják:



Az ezúton keletkezett hidrogénperoxidot a kataláz és peroxidáz rendszer bontja el. A peroxid anyagcsere enzimeit, a peroxidázokat és a SOD is a sejt különböző hatásokkal szembeni elsődleges biológiai védekező mechanizmusának részei (MATKOVICS 1977).

A *szuperoxid diszmutázok* sugárbiológiai jelentősége két fontos kérdést vet fel, azaz, hogy a SOD enzimek mennyire egységesen oszlanak meg a különböző típusú sejtekben, valamint, hogy az enzim aktivitását mennyire befolyásolják ionizáló sugárzások. A sugárhatásra képződött gyökök nem enzimatis, vagy enzimatis eliminálásának, az ebben mutatkozó különbségeknek ugyanis nagy szerepe lehet egy sejt típus sugárérzékenységének meghatározásában. A különböző sejt típusokban a SOD aktivitás meghatározása és ennek sugárhatásra bekövetkező változása a sejtbiológia és a sejtszintű sugárbiológia egyik legújabb fejezetét képezi. A várhatóan rohamosan akumulálódó kezdeti adatok közül néhányat a III. táblázat mutat be. Látható például, hogy a sugárrezisztensnek ismert máj mintegy ötször annyi aktivitást tartalmaz, mint a közismerten sugárérzékeny limfocita. Magát az enzim aktivitását ionizáló sugár-

III. táblázat

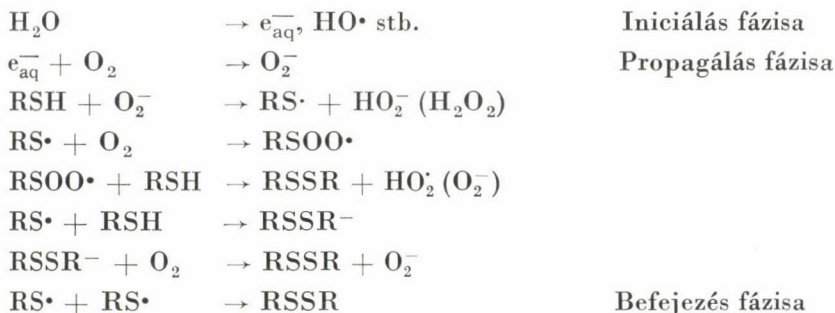
Különböző patkány sejtek szuperoxid diszmutáz aktivitása

Sejttípus	U/mg fehérje	Irodalom
Máj	6,39	KRIZALA, LEDVINA (1980).
Csontvelő	2,37	KRIZALA, LEDVINA (1980).
Trombocita	2,11—2,70	KIMURA, FUJIMURA, KURAMOTO (1979).
Limfocita	1,23	RIGAS és mtsai (1980).
Granulocita	0,58	RIGAS és mtsai (1980).
Vörösvérsejt	0,07*	KRATOCHVILOVA és mtsai (1981).

* U/mg hemoglobin

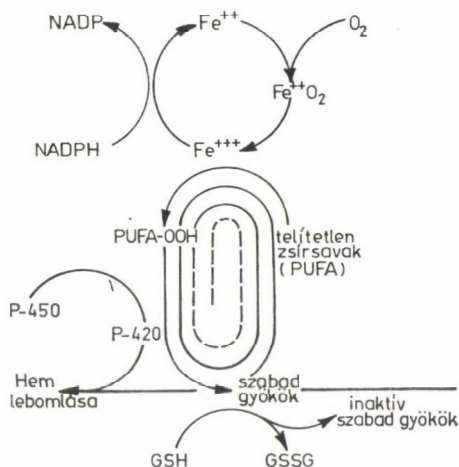
zások különböző sejtekben eltérően befolyásolják. Például egér lépben és pajzsmirigyben (PETKAU 1978) és nyúl májban (LIPINSKI, LIPECKA, DONIEC és KANSKI 1976, LIPECKA, LIPINSKI és KANSKI 1978) 750—1000 R *in vivo* besugárzást követően a SOD aktivitását az első napokban csökkentnek találták, azonban később ez helyreállt. Legutóbb KRIZALA és LEDVINA (1980) kimutatták, hogy patkány májában a csontvelőhöz viszonyítva több, mint kétszer magasabb SOD aktivitást szupraletális, 800 R egésztest besugárzás nem befolyásolta, a csontvelő viszont a besugárzást követő két hét alatt mintegy a felére csökkent. A túlélő csontvelő sejteket vizsgálva azonban azt találták, hogy azok SOD aktivitása a vizsgálati periodusban többszörösére nőtt. Intézetünkben szintén azt találták, hogy patkányok egésztest besugárzását követő első héten a SOD enzim aktivitása májban változatlan maradt, míg az agyban 72 óra múlva már jelentős, 50%-os csökkenés következett be, sőt egy héttel a besugárzás után az agy SOD aktivitása teljesen eltűnt (SCHWEIZER és BENKŐ 1980). Patkány egésztest besugárzását követően mintegy 30 napon át oszcilláló jellegű SOD aktivitást észleltek vörösvérsejtekben, azaz a félhalálos dózisú 650 R gamma-besugárzás az első napon enyhe csökkenést, a 7. napon emelkedést, a 30. napon még mindig mintegy 40%-os emelkedést okozott (KRATOCHVILOVA, KRIZALA és LEDVINA 1981). A szerzők feltételezik, hogy az enzimaktivitás változás a perifériás vér összetételétől is függ, s valószínűnek tartják, hogy retikulocitákban több a SOD, mint vörösvérsejtekben. Fialat vörösvérsejtekben valóban, mintegy 50%-kal nagyobb SOD aktivitást mértek, mint öregebb vörösvérsejtekben (BARTOSZ, TANNERT, FRIED és LEYKO 1978). Emberi trombociták SOD aktivitását 1000—20 000 R sugárkezelés után változatlanak találták (KIMURA, FUJIMURA és KURAMOTO 1979).

A szuperoxid gyök tartósabb jelenléte fokozza szerves gyökök képződésével járó eseménysorozatok, vagy láncreakciók lezajlását. Egyik példa erre a cisztein radiolízisének folyamata, melynek során diszulfid kötés, cisztin képződik (STONE, LIN és KWOCK 1978):



A szuperoxid gyökök elhúzódó képződésére mutatnak PETKAU és CHE-LACK (1974a, 1974b) munkái, akik mikoplazma besugárzásával végzett kísérleteikben bizonyították, hogy a szuperoxid diszmutáz védőhatása besugárzás után néhány órával hatásosabb volt, mint a besugárzás után közvetlenül, vagy azzal egyidőben alkalmazva. A szuperoxid diszmutáz inhibitorának, a dietilditiokarbamátnak alkalmazásával vörösvérsejtekben a besugárzás után még egy óra múlva is kimutatható volt a szuperoxid gyök hemolizáló hatása (STONE, LIN és KWOCK 1978). Egy másik példa már a szuperoxid és a szerves gyökök szerepén kívül a membrán komponensek kémiai jelentőségére is rámutat a membránok sugárbiológiájában. A szerves gyökök képződésében, valamint a gyökreakciók kémiai következményeinek létrejöttében a membránok komponensei közül különösen nagy szerepe van a telítetlen zsírsavaknak. A fiziológias körülmények és egyes nem ionizáló sugárzás okozta hatások következtében is lezajló lipid peroxidáció folyamatában, a gyökök képződésében és újraképződésében részt vesz a sejt NADPH-citokróm c redukáz, citokróm P-450, glutation peroxidáz rendszere, miközben szerves gyökök, lipidperoxidok, telítetlen zsírsavak hidroperoxidjai képződnek (1. ábra; HRYCAY és O'BRIEN 1971, RADTKE és COON 1974, KAGAN, PRILIPKO, SAVOV, PISAREV, ELUASHVILI és KOZLOV 1979). Az 1. ábrán az is látható, hogy a telítetlen zsírsavak peroxidálása láncreakciószerűen zajlik le.

A fenti példa azt is mutatja, hogy ionizáló sugárzás hatására lezajlanak olyan folyamatok, melyek a normál anyagcserében, vagy egyéb külső hatások reakciójaként is léteznek vagy megjelennek a sejtben. A fenti új ismeretek alapján úgy tűnik, hogy a sejt sugárérzékenységében feltétlenül szerepet kell tulajdonítanunk több, együttesen jelenlévő, vagy ható tényezőnek, mint a képződött szabad gyökök mennyiségének és minőségének, az eliminálásukban részt vevő, a sejtben fiziológias körülmények között is meglévő enzimek hatékonyságának, valamint a szerves peroxid gyökök képződése szempontjából a membránok kémiai összetételének, elsősorban telítetlen zsírsavakban való gazdagságának és a lipid komponensek membránon belüli elrendeződésének, a membránok szupramolekuláris szerkezetének.



I. ábra. Lipid peroxidok képződésének és inaktíválásának lánreakciója HRYCAY és O'BRIEN (1971) alapján

A plazmamembrán sugárzás okozta változásai

Az alábbi néhány jellemző példa azt mutatja be, hogy sugárzások számos változást idéznek elő a plazmamembránhoz kötött tulajdonságokban, a sejt-felület töltésében, enzimek aktivitásában, a receptorok működésében, a membrán mikromorfológiai szerkezetében.

A *felületi töltésváltozások* nyomkövetésére megfelelően érzékeny módszerként többen alkalmazták a sejtek mikroelektroforézisét. Igen rendszeres vizsgálataik során SATO és munkatársai azt találták, hogy patkány vörösvérsejtek és különböző tenyésztett tumorsejtek elektroforetikus mobilitása 50 és 3000 R röntgendózis tartományban a besugárzás hatására 4 órán belül a kontroll értékek 60–95%-ára csökkent, majd további 20 óra alatt úgyszintén dóziszfüggően a normál szinten helyreállt (SATO és KOJIMA 1974, 1976, SATO, KOJIMA, NISHIZAWA, SHIMIZU és INOUE 1976, SATO, KOJIMA és NISHIZAWA 1977a, 1977b). Más szerzők akár mikroelektroforézissel, akár polimer-víz megoszlási módszerrel leukémiás, melanoma és vörösvérsejtekben nem találtak ilyen változást (WALTER, TUNG, KROB és SWINGLE 1974, GERSTEN és BOSMANN 1975), Ehrlich ascites sejteken (STEIN, SEAMAN és HEARD 1962) és emberi vörösvérsejteken (SUNDARAM, PHONDKE és SADARANGANI 1971) pedig éppen ellenkezőleg az elektroforetikus mobilitás növekedését írták le. Az ellentmondó eredményeknek két fő oka lehet. Az egyik az, hogy a különböző sejtek plazmamembránja eltérő összetételű és ezáltal az ionizáló sugárzások nem egyforma választ váltanak ki, a töltéssel rendelkező csoportok különböző eloszlását eredményezik. A másik magyarázat az lehet, hogy az eltérések a besugárzás körül-

ményeitől (dózis, oxigéntenzió stb.), valamint a megfigyelések időpontjaitól erednek. Utóbbi különösen lényeges, ugyanis a felületi töltésváltozásokat mindig a besugárzást követő korai, néhány órás periódusban tudták csak megfigyelni, ezután az eredeti töltésviszonyok álltak helyre. Az elektroforetikus mobilitás csökkenés magyarázatát keresve SATO és munkatársai vizsgálták a plazmamembrán sztiálsav tartalmát, s azt változatlanul találták. A töltésváltozás mechanizmusát ezért azzal magyarázzák, hogy a sztiálsav csoportok besugárzás hatására a membrán mintegy 7,5 Å-ig terjedő felszíni rétegeből mélyebbre, mintegy 9–17 Å-re lévő rétegbe süllyednek. A membrán szerkezetének ilyenén perturbációja mellett szól az a megfigyelés, miszerint az SH-csoportokat blokkoló szerek, egyes lektinek a plazmamembránt enyhe módon „kifeszítik”, s így a besugárzás előtt alkalmazva a sugárhatást kivédik (SATO, KOJIMA 1974, 1976, SATO, KOJIMA, NISHIZAWA, SHIMIZU és INOUE 1976). Mások izolált vörösvérsejt membránokban vizsgálták a fluiditás változását, s azt találták, hogy annak csökkenése már viszonylag kis, 100 R röntgendózissal való besugárzás után 30–60 perccel mérhető volt (YONEI, TODO és KATO 1979).

A fenti kísérleteket a sejtek *in vitro* besugárzásával végezték. A membránok sugárzás hatására bekövetkező érzékeny reagálását bizonyítja, hogy a felületi töltés változását kísérleti állatok *in vivo* besugárzása után is ki tudták mutatni egér ascites sejteken (STEIN, SEAMAN és HEARD 1962), nyúl vörösvérsejteken (GROMOV 1974) és egér timuszsejteken (MIYAZAWA, SATO és KOJIMA 1979). Utóbbi vizsgálatokban mind az *in vitro*, mind az *in vivo* alkalmazott 170 R röntgensugárzás azonos hatást váltott ki.

A membránhoz kötött *enzimek* lipid mikrokönyezete meghatározza, vagy befolyásolja működésüket. Így a fehérje és lipid kapcsolatok sugárzás okozta változása az enzimek aktivitását is módosíthatja. A IV. táblázat néhány ilyen példán azt mutatja, hogy egyes enzimek aktivitása mind az *in vivo*, mind az *in vitro* ható besugárzást követően megváltozik. A változás iránya különböző, de érdekes felfigyelni arra, hogy egyetlen enzimnél is az aktivitás változásának iránya függhet a sugárzás dózisától. Így például patkány embrió májának plazmamembránját *in vitro* besugározva kimutatták, hogy az adenilcikláz aktivitás 50 és 250 R tartományban 1 órán belül 20–115%*k*-al a kontroll fölé emelkedik, míg ennél magasabb dózisok kevésbé fokozták az enzimaktivitást (KUZIN, SLOZHENIKINA és USHAKOVA 1977). Úgy tűnik, hogy mintegy 250 R felett már nemcsak szupramolekuláris szintű perturbáció, hanem a membránok strukturális dezintegrálódása indul meg.

Ugyancsak a plazmamembrán sugárzás okozta változásának tulajdonítják azt, hogy besugárzott egerek csontvelő sejtjei *in vitro* kevesebb ¹²⁵IUDR-t vesznek fel, mint a kontroll sejtek (ZAMBOGLOU, PORSCHEN, MÜHLENSIEPEN, BOOZ és FEINENDEGEN 1981). A hatás néhány órával 0,2–500 R tartományú gamma és neutron sugárzás után nyomon követhető volt. Feltehetően a biokémiai prekursorok transzfer mechanizmusában, a szénhidrátokat szállító doliko-

IV. táblázat

Membránhoz kötött enzimek aktivitásának változása ionizáló sugárzás hatás ára

Enzim	A besugárzás dózisa, rad	körülménye	Észlelés ideje a besugárzás után, óra	Változás jellege	Irodalom
Adenilátcikláz patkány embrió máj plazmamembrán	50—200	in vitro	1	20—115%-os növekedés	KUZIN és mtsai (1977).
Adenilátcikláz patkány embrió máj plazmamembrán	250—1000	in vitro	1	40—60%-os növekedés	KUZIN és mtsai (1977).
Na ⁺ és K ⁺ -függő ATPáz patkány máj plazmamembrán	800	in vivo	1	66%-os csökkenés	RISKULOVA és mtsai (1976).
NAD-glikohidroláz egér máj magmembrán	100—250	in vivo	3—6 24	10—25%-os csökkenés 58%-os növekedés	KONINGS, BREUER és STREFFER (1975).

lok működésének befolyásolásában keresendő annak az oka is, hogy egerek májsejtjeinél 4,5 Gy (450 rad) *in vivo* röntgenbesugárzást követően a glikoprotein egyik prekursorának, a glukozaminnak késleltetett felvételét figyeltük meg (KUBÁSZOVA és KÖTELES 1977). Hasonló késleltetett felvételt észleltek alfa-amino-izovajsav esetében patkány timusz és lépsejtek 0,5—100 Gy-el (50—10 000 rad-dal) való *in vitro* besugárzását követően (KWOCK és WALLACH 1974, KWOCK, WALLACH, HEFTER és SCHNALL 1976). Hat órán belül több, mint 60%-os gátlás fejlődött ki a timusz limfocitákban, míg a lépsejtekben csak 20%-os. Érdekes megjegyezni, hogy 2,5 és 5,0 Gy (250 és 500 rad) besugárzást követően a csökkenést két óra múlva átmeneti normalizálódás követte, de később a csökkenés folytatódott. Ez a megfigyelés szintén arra utal, hogy besugárzás hatására a membrán „lipid-tengere” nyugtalanra és viharossá válik.

A bemutatott példák azt bizonyítják, hogy a membrán szerkezeti perturbációja a membránhoz kötött enzimek és anyagszere funkciók változásával jár a változás mértéke és iránya a különféle sejttípusokban függ a molekulák membránon belüli szupramolekuláris elhelyezkedésétől, azaz a funkciókért, felelős fehérjemolekulák mikro környezetétől.

Az ionizáló sugárzás membránokon kifejtett hatását még komplexebb biológiai funkción, a *receptorok működésén* át lehet talán a legérzékenyebben tanulmányozni. Nyilvánvaló ugyanis, hogy a plazmamembrán szupramolekuláris összerendezettségének zavara megnyilvánulhat a különböző membrán receptorok működésében. FACCHINI és munkatársai emberi limfociták receptorainak változását vizsgálták *in vitro* röntgenbesugárzás után 2 órával (FACCHINI, MARALDI, BARTOLI, FARULLA és MANZOLI 1976). Megállapították, hogy B-limfocitákon az SmIg antigén membránon belüli tömörülését, „capping”-jét már 0,5 Gy (50 rad) kimutathatóan, a sejtek mintegy 20–25%-ában, 1,0 Gy (100 rad) pedig már 50%-ában gátolta. A sugárdózis emelése 25 Gy-ig (2500 rad-ig) a „capping” jelenség további fokozatos csökkenését eredményezte. Megjegyzendő, hogy a rövid kísérleti idő folyamán ezt a jelenséget egyik dózissal sem kísérte a sejtek viabilitásának, vagy az SmIg és Fc membrán receptorok számának csökkenése. A jelenséget tehát nem a membrán dezintegrációja okozta. T-limfociták E-rozetta képződését 0,5–25 Gy (50–2500 rad) dózistartományban 2 órával a besugárzás után szintén mintegy 15–80%-osan gátoltak találták. Magunk lektinkötési módszerrel vizsgáltuk állati és emberi sejteken a plazmamembrán sugárzás okozta perturbációjának néhány jellemzőjét (KÖTELES, KUBASOVA és VARGA 1976, KUBASOVA, CSÁKY, KÖTELES, VARGA és SZTANYIK 1977, KUBASOVA, VARGA és KÖTELES 1980, KUBASOVA, VARGA és KÖTELES 1981, KUBASOVA, KÖTELES és VARGA 1981), s a témán belüli újabb eredményeinket a soron következő közleményben ismertetjük (KUBÁSZOVA és KÖTELES 1982).

Érdekes módon a viszonylag kis sugárdózisú besugárzást követő funkcionális változások háttérében lévő *mikromorfológiai* jelenségekről csak az utóbbi időben jelennek meg közlemények. Azokról a dózisokról van ugyanis szó, melyeknél a membrán szerkezete a besugárzást követően korán és csak annyira változik, hogy az bizonyos reverzibilis funkcionális hatásokban nyilvánul meg. A fültömörig sejteinek 2 Gy (200 rad) besugárzását követően 2 órával észlelték annak fokozott fellazulását és egyidőben a szérumban az amiláz szint emelkedését (EL-MOFTY és KAHN 1981), V-79 kínai hőresög sejttenyészetben 0,5–10 Gy (50–1000 rad) között már 10 perccel a besugárzás után vas kolloid kötés csökkenését, majd emelkedését észlelték elektronmikroszkóposan (SUBJECK, HUI és JOHNSON 1980). Magunk humán embrió fibroblasztokat vizsgáltunk scanning elektronmikroszkópiával olyan besugárzási dózissal és a besugárzást követő korai időpontoknál is, melyeknél ugyanilyen sejteken korábban a ³H-konkanavalin A emelkedését észleltük (KÖTELES, KUBASOVA és VARGA 1976). Azt találtuk, hogy 0,25 és 2,5 Gy (25–250 rad) röntgensugárdózis már 10 perccel a besugárzás után a sejtek szélének fellazulását eredményezi, a sejt–sejt kapcsolat, a sejt és a kultúraedény felület kapcsolat gyengülésével, széles filopódiumok megjelenésével, a sejtek megnyúlásával és elvékonyodásával. Az első óra folyamán már a sejtek „plazmahidak” segítségével viszont kezdenek

visszakötödni. A besugárzást követő 4., illetve 24. órában már a normál viszonyok helyreállítását észleltük (SOMOSY, KUBASOVA és KÖTELES 1982).

A sejt membránrendszerének szerepe a sejt sugárkárosodásában és regenerációjában

A sejt membránjainak, mint a sugárzás támadáspontjának, „target”-jének szerepe a hatvanas—hetvenes években sokak érdeklődését felkeltette. BACQ és ALEXANDER (1961) „enzim felszabadulási elmélete” a lizoszóma membránok sérülése következtében felszabaduló hidrolázok sejtpusztító hatásának tulajdonítja a sugárhatásra bekövetkező sejthalált. ALPER (1971, 1974, 1979) az oxigén sugárkárosodást módosító hatásának elemzése alapján kétféle helyen ható sugársérülés létezését tételezte fel: a) az ultraibolya sugárzás hatásához hasonló és anoxiás körülmények között is bekövetkező sejthalált, melynek okát a prokariotokban a DNS és a sejtmembrán komplexének sérülésében látták („N-típusú sérülés”), valamint b) olyan sérüléseket, melyek az eukarióta sejteket oxigén jelenlétében károsítják („O-típusú sérülés”), s ezek helyéül az oxidálható lipidekben gazdag magi, vagy egyéb membránokat vélte. Emlős sejtek sugárérzékeny térfogatának mérése alapján feltételezték, hogy abban a DNS-en kívül a magmembrán is bent foglaltatik (ZERMENO és COLE 1969). Nukleinsavak, akár RNS, akár DNS és a különféle membránok sajátosságok kapcsolata különféle sejtorganellumokban, a magokban, mitokondriumokban és az endoplazmás retikulumban nyilvánvaló. Sőt, emberi limfociták plazmamembránjában is kimutatták DNS jelenlétét (MEINKE, HALL, GOLDSTEIN, KOHNE és LERNER 1973, MEINKE és GOLDSTEIN 1974, KUO, MEINKE és SAUNDERS 1975). Elképzelhető tehát, hogy nukleinsav + membrán komplexek a sugárzás együttes, kombinált targetjei. E mellett szól, hogy az ultracentrifugálás folyamán együtt ülepedő DNS + lipid + fehérje komplexet a sejtek 1 és 8 Gy (100 és 800 rad) közötti besugárzása megbontja, a DNS elkülönül, majd a helyreállító folyamatok során ez a komplex újra összeáll (ELKIND és CHANG-LIU 1972, ELKIND és BEN-HUR 1972). Patkánytimusz sejtek besugárzásával is kimutatták, hogy a nagy molekulású DNS + lipid komplex *in vivo* és *in vitro* besugárzásnál 50 és 5000 R tartományban megbomlik, mely a viszkozitás csökkenésével mérhető (STRAZHEVSKAYA és STRUCHKOV 1977). Érdekes, hogy ez a jelenség timuszban nem, de májsejteknel reverzibilisnek mutatkozott.

A szabad gyökök a legkülönbözőbb molekulatípusokkal, nukleinsavakkal, fehérjékkel és lipidekkel képesek reagálni és ezáltal igen változatos kémiai reakciókat, vegyületmódosításokat, telítéseket, keresztkötéseket, láncszakadásokat, depolimerizációt eredményezhetnek. Egységnyi energia abszorpció esetén azonban a különböző vegyülettípusok különböző módon reagálnak. A többféle vegyülettípust tartalmazó kromatin komplex besugárzása és biokémiai

analízise során például STRAZHEVSKAYA és STRUCHKOV (1977) megállapították, hogy a 100 eV energia hatására megváltozott, képződött, vagy degradálódott gyökök, vagy molekulák száma, az ún. G-érték legnagyobb a lipideknél, $G = 10^5$, ettől mintegy 2 nagyságrenddel kisebb a fehérjéknél és további 3 nagyságrenddel kisebb a nukleinsavaknál. A besugárzott sejtben huzamosan jelenlévő, illetve újraképződő szabad gyökök egyik legérzékenyebb támadáspontjai tehát a lipidek, ezeken belül a telítetlen zsírsavak. A lipid peroxidáció láncreakciószerű folyamata oxigén jelenlététől függ. Ezzel magyarázható, hogy a membránok sugársérülése oxigén jelenlétében nagyobb fokú, mint anoxiás körülmények között. Ezt bizonyítja az a kísérlet is, melyben kimutatták, hogy liposzómák levegőben és hipoxiás körülmények közötti besugárzása esetén az oxigén sugárhatást fokozó hatása, az ún. „oxygen enhancement ratio”, OER igen nagy, azaz ugyanazon hatás kiváltásához levegőben tizenháromszor kisebb dózis kellett, mint hipoxiás körülmények között (KONINGS, DAMEN és TRIELING 1979). A membránok sugársérülésében a lipid komponensek reakcióképességének tulajdonítják azt a jelenséget, hogy a dóziszintenzitás csökkentésével nő a biológiai hatás (ún. „dose-rate effect”). A telítetlen zsírsavak G-értéke ugyanis a dóziszintenzitás csökkenésével nő, pl. linolsav esetében, ha 10 Gy (1000 rad) *in vitro* teljes dózist 6 Gy/perc (600 rad/perc) intenzitással közöltek, akkor a G-értéke 3 volt, 0,33 Gy/perc (33 rad/perc)-nél már 100, míg 0,1 Gy/perc (10 rad/perc)-nél már 200 felett (MEAD 1952). Hasonló jelenséget észleltek mesterségesen előállított foszfolipid membránoknál (PETKAU 1972, SCHUTTE és KONINGS 1978) és baktérium membránoknál (CHELACK, FORSYTH és PETKAU 1974, PETKAU és CHELACK 1974a). E megfigyelések értelmében az indirekt sugársérülés esélye nő, ha vizes közegben keletkezett szabad gyökök rekombináció, vagy eliminálás nélkül eléri a membránt, ami könnyen megtörténik, ha a sugárzás ionizációs sűrűsége csökken. Különböző zsírsavak peroxidációjánál is azonos sugárdózist, 100 Gy-t (10 000 rad) különböző dóziszintenzitással alkalmazva, kisebb dóziszintenzitásnál nagyobb degradációs hatást kaptak. Különösen a docosahexansavat (22 : 6), az arachidonsavat (20 : 4) és a linolensavat (18 : 2) találták érzékenynek. A membránok lipid peroxidációjának fokozódását *in vivo* besugárzás után is kimutatták, s azt találták, hogy ha azonos dózisu besugárzást kis dóziszintenzitással végeznek, akkor a hatás nagyobb. Egerek *in vivo* 3,75–30 Gy (375–3000 rad) dózistartományban teljestest röntgenbesugárzása után a májszövetben a lipid peroxidációs termék, a malondialdehid mennyisége 0,2 Gy/min dóziszintenzitásnál kétszerese volt annak, mint amit 0,8, illetve 1,2 Gy/min-nél mértek (KONINGS 1979). Igen érdekes és fontos következtetéseket enged meg az a megfigyelés, miszerint a természetes membránokból izolált lipidkeverékből készített liposzómákban a két telítetlen kötést tartalmazó linolénsav (cis, cis-9, 12-octadiénsav) sugárérzékenyebbnek bizonyult, mint a tiszta zsírsavakból előállított micellák formájában besugárzott, három telítetlen kötést tartalmazó gamma-linolénsav (cis, 6, 9, 12-octa.

decatriensav). A zsírsavak telítetlenségének foka tehát nem szükségszerűen szabja meg sugárérzékenységüket, hanem a lipidek membránokban elfoglalt szerkezeti elhelyezkedése is fontos, a zsírsavak acilláncának egymáshoz viszonyított helyzete, melyek feltehetően fontos tényezők a károsító sugárzás okozta oxigénfüggő láncreakció végbemenetelében (MOOIBROEK és KONINGS 1980).

Komplex biológiai rendszerekben tehát a lipid komponensek látszanak a sugárzás legérzékenyebb targetjeinek. A lipidek szerepét hangsúlyozza STRAZHEVSKAYA a DNS + membrán komplex sérülés mechanizmusára vonatkozó elmélete (STRAZHEVSKAYA és STRUCHKOV 1977). A szerzők szerint a besugárzás azokat a lipoprotein összekötőket, „linker”-eket károsítja, amelyek a kisebb molekulású DNS alegységeket összekapcsolják. Ennek eredményeképpen DNS alegységek szabadulnak fel a kromatin komplex struktúrájából, s így a DNS a lipid oxidáció révén keletkezett szabad gyökök, peroxidok jelenléte miatt további káros reakcióknak lehet kitéve. Ez az elképzelés egyben arra a lehetőségre is rámutat, hogy a lipidek és a DNS károsodása összefügg, sőt a lipidek révén a sugárhatás felerősödhet.

A membránok sugársérülésének kifejlődésében a lipidek szerepére utalnak azok a vizsgálatok is, miszerint E-vitamin, mint természetes antioxidáns hiányában kísérleti állatok, vagy tenyésztett sejtek sugárérzékenysége jelentős mértékben megnő, izolált membránjaikban nagyobb mértékű lipid peroxidáció folyik, mint normál sejtekben (KONINGS 1978, KONINGS és DRIJVER 1979). A képződő E-vitamin gyökökkel (Vit E \cdot) viszont a C-vitamin reagál, mely utóbbit a NADH-NAD $^{+}$ rendszer redukálja (PACKER, SLATER és WILLSON 1979). A membránok lipid peroxidációját védő antioxidáns vegyületek között azonban még továbbiak, a redukált glutation és még nem azonosított vízoldékony anyagok is részt vesznek (KONINGS és OOSTERLOO 1980). Kimutatták östradiol és hidrokortizon lipid peroxidációt gátló hatását is (SAKSONOV 1978). Természetesen a lipideken kívül a membránok *fehérje komponenseinek* a sérülése, konformáció változása is hozzájárulhat a sugárhatáshoz. A „kooperatív target” hipotézis azon a megfigyelésen alapul, hogy a jódozott membránfehérjék azáltal fokozták baktériumsejtek pusztulását, hogy befolyásolták a helyreállító, ún. „repair” folyamatokat (SINGH és GOPAL-AYENGAR 1972, SINGH 1974). A membránfehérjék konformációváltozása bekövetkezhet akár a lipid peroxidáció miatt megváltozott lipid-milieu rendezetlensége, akár a lipid peroxidáció termékeinek kémiai hatása miatt (GRZELINSKA, BARTOSZ, GWOZDZINSKI és LEYKO 1979).

A sugárzások biológiai hatásai igen sokrétűek. A sejt képes számos molekula, szerkezeti, vagy funkcióváltozást kijavítani. A sugárzás okozta biológiai hatások súlyossága és ezek regenerációja jelentősen függ a sejt, a szervezet fiziológiai állapotától, melyet KUZIN (1973, 1976) „strukturális-anyagcsere” elméletében fogalmazott meg, s melyben szintén jelentős szerepet tulajdonít a sejt membránrendszer állapotának. A regenerációs lehetőségek kihasználásán

túl fennmaradó elváltozások következményei érinthetik csak magát a sejtet, sejtgenerációkat, szervezetet, vagy a következő generációkat. A sugárzás biológiai hatásainak kiváltásánál, egy adott hatás megjelenésének dóziszfüggésénél tehát igen lényeges megjelölni azt, hogy az milyen hatásra, „vég-pont”-ra vonatkozik. Egy ilyen „végpont” lehet a membránok egyes funkcióinak kiesése, megváltozása, a szerkezet és kémiai összetétel átmeneti, vagy tartós átalakulása. Ma még nem lehet egyértelműen eldönteni, hogy a membránokban bekövetkező, s számos esetben gyorsan helyreálló változások milyen hatással lehetnek a sejt további sorsára. Mindenesetre, ez idő szerint a membránban kiváltott hatásokat tartják felelősnek olyan jelenségek létrejöttéért, mint a kis, mintegy 0,3–0,5 Gy (30–50 rad) dózistartományban bekövetkező „premitótikus”, vagy „interfázisú” sejthalál. Ezenkívül nyilvánvaló a membránok „target” volta a permeabilitás változásban, továbbá az óriássejt képződésben. A plazmamembrán szerkezetének megbomlása, a megváltozott receptor funkció befolyásolhatja az immunreakció korai szakaszát, a sejtek közötti kapcsolatot, idegen sejtek, vagy molekulák felismerését, a normál bioreguláció humorális, sejtfelszínen lejátszódó mechanizmusát. A prekursor felvétel változása a bioszintetikus folyamatokra hat. Nyilvánvaló, hogy a plazmamembránhoz elvileg hasonló szerkezetű egyéb intracelluláris membránok szerkezet és funkcióváltozása a sugárzás okozta változások széles körű változatait okozhatja, s e területeken még csak igen kevés ismeret gyűlt össze. Bár a membránok sugársérülést követő regenerációja csaknem teljesen feltáratlan terület, bizonyosra vehető, hogy a sejtben lejátszódó bármely helyreállító mechanizmus működésbe lépéséhez ez elsődleges fontosságú, s ezért jelentős jövőbeni kutatási irányt jelöl ki.

Következtetések

A sejt membránrendszerének és funkcióinak az utóbbi évtizedben bekövetkezett mélyebb megismerése jelentősen ösztönzi a vonatkozó sugárbiológiai kutatásokat. Várható, hogy ez megvilágít számos olyan jelenséget, melyek értelmezése még nem megoldott, hiszen a sejt szomatikus, az egyedet érintő sugársérüléseinek mechanizmusában, de a genetikai, az utódokat érintő sugársérülések kialakulásában is a sejt belső terét felosztó, a folyamatok rendezettségét biztosító, a külső felszínt kialakító, s a külvilággal való kapcsolatát meghatározó membránrendszernek nagy szerepe van. A membránoktól függő számos sejtbiológiai állapot és funkció ionizáló sugárzások hatására bekövetkező változása arra utal, hogy a sugárzás olyan dózissal, melyek még nem eredményeznek sejthalált, vagy a sejt durva destrukcióját, a membránok komplex és dinamikus szerkezetét, szupramolekuláris összerendezettségét változtatják meg. Jellemző, hogy a perturbáció okozta funkcionális változások a sugárzást követően rövid időn belül, néhány órán belül mutathatók ki és csak

néhány órán át maradnak fent. A membrán elváltozások tehát viszonylag gyorsan regenerálódnak. Figyelembe véve azonban, hogy a biokémiai összetételben még sokkal később is észleltek változásokat, kérdés, hogy a helyreállt viszonyok mennyire stabilak. A sugárzás membránhatásait ugyanis főleg a képződő, s a membránokban láncreakciószerűen újraképződő szeretlen és szerves szabad gyökök idézik elő. Ennek a folyamatnak az elhúzódása később megnyilvánuló membrán zavartságot is előidézhet, ezzel magyarázható egyes jelenségek „oszcilláló” jellege. A molekulafajták között a legérzékenyebbnek a telítetlen zsírsavak bizonyulnak.

Nyilvánvaló, hogy a sugárzás okozta korai, bár átmeneti membrán változások (permeabilitás, reakcióképesség, anyagsere) fontos szerepet játszanak a sugárhatás akut fázisa tüneteinek kialakításában, de az is, hogy ezek hozzájárulhatnak a sugárzás késői következményeinek létrejöttéhez. A sugárbiológia elmélete és gyakorlata, valamint a sugárvédelem szempontjából is fontos lehet a jövőben az az ismeret, miszerint a szupramolekuláris struktúra átmeneti megbontása kivédhető a membránhoz kötődő, azt mintegy kifesztítő, vagy abba beépülő gyökfogó és antioxidáns anyagokkal, gyógyszerekkel, fehérjékkel, vitaminokkal, hormonokkal. További, egyben gyakorlati jelentőségűvé is válható felismerés az, hogy a sugárzás okozta membránjelenségek alapján a membránok állapota, a sugárhatás mértéke megbecsülhető. Mindezek a már felismert jelenségek általános biológiai és sugárbiológiai jelentőségükön kívül gyakorlati jelentőségűek is.

A jövőben igen sokrétű kutatást kíván azonban még számos olyan általános biológiai és sugárbiológiai mechanizmus megismerése, mint a membránok képződése, újraképződése, fizikai, kémiai tényezők okozta sérülésének helyreállítása. Úgyszintén a jövő feladata, hogy mikrodozimetriai módszerekkel felmérje a különböző típusú és kvalitású sugárzások, beleértve a sejt környezetében, vagy a sejtben lévő radioizotópok membránokra jutó energia abszorpciójának mértékét, illetve azokat a legkisebb dóziszokat, melyek kimutatható funkcionális elváltozásokat okoznak. A sejt különböző membránjainak biofizikai és biokémiai módszerekkel való kutatása, az általános és speciális jellemzők megismerése jelentősen hozzá fog járulni a sejt és környezete viszonyának további megismeréséhez és szabályozásához. Sugárbiológiai szempontból olyan igen fontos gyakorlati feladatok megoldása várható ezektől a kutatásoktól, mint pl. az egészséges sejtek sugárvédelme, vagy a tumorsejtek sugárzással szembeni érzékenyítése, a sejtben lerakódott radioizotópok dekorporálása, hatóanyagok sejtbe juttatása. Az említett példák azt mutatják, hogy a membránok sugárbiológiájának tanulmányozása fellendülőben van, s ez általános biológiai ismereteink gyarapításán kívül az egészségügy megelőző és gyógyító céljait is szolgálja.

IRODALOM

- ADAMS, G. E. és JAMESON, D. G.: Time effects in molecular radiation biology *Radiat. Environ. Biophys.* **17**, 95 (1980).
- ALPER, T.: Cell death and its modification in *Biophysical Aspects of Radiation Quality*, IAEA, Vienna (1971).
- ALPER, T. Observations relevant to the mechanism of RBE effects in the killing of cells in Biological effects of neutron radiation, IAEA, Vienna (1974).
- ALPER, T.: *Cellular radiobiology* Cambridge University Press, Cambridge (1979).
- BACQ, Z. M. és ALEXANDER, P.: *Fundamentals of radiobiology* Pergamon Press, Oxford (1961).
- BARTOSZ, G., TANNERT, CH., FRIED, R. és LEYKO, W.: Is superoxyd dysmutase a physiological radioprotector? *Experientia* **34**, 1464, *Experientia* **35**, 1194 (1978).
- CHELACK, W. S., FORSYTH, M. P. és PETKAU, A.: Radiobiological properties of *Acholeplasma Laidlawii* *Can. J. Microbiol.* **20**, 307 (1974).
- ELKIND, M. M. és CHANG-LIU, C. M.: Repair of a DNA complex from x-irradiated chinese hamster cells *Int. J. Radiat. Biol.* **22**, 75 (1972).
- ELKIND, M. M. és BEN-HUR, E.: DNA lesions and mammalian cell killing: cause and effect? *Israel J. Chem.* **10**, 1255 (1972).
- EL-MOFTY, S. K. és KAHN, A. J.: Early membrane injury in lethally irradiated salivary gland cells *Int. J. Radiat. Biol.* **39**, 55 (1981).
- EWING, D.: Long-lived oxygen-dependent damage in bacteriophage spores irradiated at conventional dose rates *Int. J. Radiat. Biol.* **38**, 685 (1980).
- FACCHINI, A., MARALDI, N. M., BARTOLI, S., FARULLA, A. és MANZOLI, F. A.: Changes in membrane receptors of B and T human lymphocytes *Radiat. Res.* **68**, 339 (1976).
- FRIDOVICH, J.: Superoxide dismutases *Ann. Rev. Biochem.* **44**, 147 (1975).
- FRIDOVICH, J.: The biology of oxygen radicals *Science* **201**, 875 (1978).
- GERSTEN, D. M. és BOSMANN, H. B.: Surface properties of plasma membranes following ionizing radiation exposure *Exp. Cell Res.* **96**, 215 (1975).
- GROMOV, A. E.: Changes in the electric charge of the blood under acute radiation injury *Radio-biologiya* **14**, 140 (1974).
- GRZELINSKA, E., BARTOSZ, G., GWOZDZINSKI, K. és LEYKO, W.: A spin-label study of the effect of gamma radiation on erythrocyte membrane structure *Int. J. Radiat. Biol.* **36**, 325 (1979).
- HRYCAY, E. G. és O'BRIEN, P. J.: Cytochrome P-450 as a microsomal peroxide utilizing a lipid peroxide substrate *Arch. Biochem. Biophys.* **147**, 14 (1971).
- ISRAELACHVILI, J. N.: Refinement of the fluid-mosaic model of membrane structure *Biochim. Biophys. Acta* **469**, 221 (1977).
- KAGAN, V. E., PRILIPKO, L. L., SAVOV, V. M., PISAREV, V. A., ELUASHVILI, I. E. és KOZLOV, YU. P.: Participation of oxygen activated species in enzymatic lipid peroxidation in biomembranes *Biohimiya* **44**, 482 (1979).
- KIMURA, A., FUJIMURA, K. és KURAMOTO, A.: Superoxide dismutase of human platelets *Ketsuchi To Myakhan*, **10**, 449 japánul ref. INIS No. 548 599 (1979).
- KONINGS, A. W. T., BRAUER, W. és STREFFER, C.: Radiosensitivity of NAD glycohydrolase in the nuclear membrane of fast growing mouse liver *Int. J. Radiat. Biol.* **28**, 589 (1975).
- KONINGS, A. W. T.: Radiation effects on membranes 14th Ann. Meet. Europ. Soc. Radiat. Biol., Jülich (1978).
- KONINGS, A. W. T.: Dose-rate effects in biomembranes *J. Radiat. Res.*, **20**, 259 (1979).
- KONINGS, A. W. T., DAMEN, J. és TRIELING, W. B.: Protection of liposomal lipids against radiation induced oxidative damage *Int. J. Radiat. Biol.* **35**, 343 (1979).
- KONINGS, A. W. T. és DRIJVER, E. B.: Radiation effects on membranes. I. Vitamin E deficiency and lipid peroxidation *Radiat. Res.* **80**, 494 (1979).
- KONINGS, A. W. T. és OOSTERLOO, S. K.: Radiation effects on membranes, II. A comparison of the effects of x-irradiation and ozone exposure with respect to the relation of antioxidant concentration and the capacity for lipid peroxidation *Radiat. Res.* **81**, 200 (1980).
- KOVÁCS, K.: Effect of x-rays on permeability of the cell membrane *Strahlenther.* **30**, 77 (1928).
- KÖTELES, G. J., KUBÁSOVA, T. és VARGA, L. P.: H-3-concanavalin A binding of x-irradiated human fibroblasts *Nature (Lond.)* **259**, 507 (1976).
- KÖTELES, GY. J. és KUBÁSOVA, T.: Ionizáló sugárzás hatása sejtek membránrendszerére *Izotóptechnika, Budapest* **20**, 230 (1977).
- KÖTELES, G. J.: New aspects of cell membrane radiobiology and their impact on radiation protection *At. Energy Rev.* **17**, 1 (1979).
- KRATOCHVILOVA, V., KRIZALA, J. és LEDVINA, M.: Activity of superoxide dismutase in erythrocytes of irradiated rats *Studia Biophys. (Berlin)* **82**, 121 (1981).

- KRIZALA, J. és LEDVINA, M.: The activity of superoxide dismutase in the liver and bone marrow of gamma-irradiated rats *Int. J. Radiat. Biol.* **37**, 459 (1980).
- KUBÁSZOVA, T. és KÖTELES, Gy. J.: Adatok a Golgi-komplex és a plazmamembrán anyagcseréje összefüggésének sugárbiológiájához *Izotóptechnika, Budapest* **20**, 450 (1977).
- KUBASOVA, T., CSÁKY, L., KÖTELES, G. J., VARGA, L. és SZTANYIK, L. B.: Early detection of radiation-induced cell membrane alterations by lectin-binding *Proc. 4th Int. Congr. IRPA, Paris* **4**, 1203 (1977).
- KUBASOVA, T., VARGA, L. P. and KÖTELES, G. J.: Alterations in lectin-binding capacity of mammalian cells upon ionizing radiation *Radiat. Environm. Biophys.* **17**, 271 (1980).
- KUBASOVA, T., VARGA, L. P. és KÖTELES, G. J.: Surface alterations of mammalian cells upon ionizing radiations as detected by lectin-binding technique. I. Binding of concanavalin A by blood cells of x-irradiated mice *Int. J. Radiat. Biol.* **40**, 175. (1981)
- KUBASOVA, T., KÖTELES, G. J. és VARGA, L. P.: Surface alterations of mammalian cells upon ionizing radiations as detected by lectin-binding technique. II. Binding of concanavalin A by human blood cells x-irradiated in vitro *Int. J. Radiat. Biol.* **40**, 187. (1981)
- KUBÁSZOVA, T. és KÖTELES, Gy. J.: Funkcionális változások a plazmamembránban ionizáló sugárzás hatására *MTA Biol. Oszt. Közl.* **25**, 59 (1982).
- KUO, T. M., MEINKE, W. és SAUNDERS, G. F.: Localization of cytoplasmic membrane associated DNA in human chromosomes *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **72**, 5004 (1975).
- KUZIN, A. M.: Radiobiological problems connected with the effect of ionizing radiation on the cellular membranes in *Effects of ionizing radiation on cellular membranes*, szerk. Kuzin, A. M. és Pavlovskij, T. E., Atomizdat, Moszkva (1973).
- KUZIN, A. M.: Basic principles of structural-metabolic theory in radiobiology *Radiobiologiya* **16**, 163 (1976).
- KUZIN, A. M., SLOZHENIKINA, L. V. és USHAKOVA, T. E.: The effect of gamma-irradiation on the adenylatecyclase activity of isolated biomembranes of embryonic liver cells *Dokl. Akad. Nauk, SSSR* **233**, 978 (1977).
- KWOCK, L. és WALLACH, D. F. H.: The effect of ionizing radiation on amino acid transport system in thymocytes *Biochim. Biophys. Acta* **352**, 135 (1974).
- KWOCK, L., WALLACH, D. F. H., HETER, K. és SCHNALL, S.: Effect of ionizing radiation on the transport of 2-amino-isobutyric acid in rat thymic and splenic lymphocytes in *Radiation and the lymphatic system, ERDASymp. No. 37.*, ERDA, USA (1976).
- LIPECKA, K., LIPINSKI, S. és KANSKI, M.: The influence of gamma irradiation and cysteamine on superoxide dismutase activity in rabbit liver *Studia Biophys (Berlin)* **68**, 25 (1978).
- LIPINSKI, S., LIPECKA, K., DONIEC, J. és KANSKI, M.: Action of ionizing radiation on the activity of superoxidisedismutase as measured by the chemiluminescent method *Radio-biologiya* **16**, 665 (1976).
- MATKOVICS, B.: Superoxide and superoxide dismutases szerk. Michelson, A. M. et al., Academic Press, USA (1977).
- MEAD, J. F.: The irradiation-induced autoxidation of linoleic acid *Science* **115**, 470 (1952).
- MEINKE, W., HALL, M. R., GOLDSTEIN, D. A., KOHNE, D. E. és LERNER, R. A.: Physical properties of cytoplasmic membrane-associated DNA *J. Mol. Biol.* **78**, 43 (1973).
- MEINKE, W. és GOLDSTEIN, D. A.: Reassociation and dissociation of cytoplasmic membrane-associated DNA *J. Mol. Biol.* **86**, 757 (1974).
- MIZAYAWA, T., SATO, C. és KOJIMA, K.: Thymic phagocytosis and reduction on the negative surface charge of thymocytes after x-irradiation *Radiat. Res.* **79**, 622 (1979).
- MOOIBROEK, J. és KONINGS, A. W. T.: Structural dependency of membrane lipids with regard to radiosensitivity *Radiat. Environ. Biophys.* **17**, 301 (1980).
- MYERS, D. K.: Some aspects of radiation effects on cell membranes *Adv. Biol. Med. Phys.* **13**, 219 (1970).
- NEU, L.: On the problem of membrane permeability *Strahlenther.* **82**, 257 (1950).
- NICOLSON, G. L.: Transmembrane control of the receptors on normal and tumor cells. I. Cytoplasmic influence over cell surface components *Biochim. Biophys. Acta* **457**, 57 (1976).
- PACKER, J. E., SLATER, T. F. és WILLSON, R. L.: Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C *Nature (Lond.)* **278**, 737 (1979).
- PATRICK, G.: The effects of radiation on cell membranes in *Mammalian cell membranes*, szerk. Jamieson, G. A. és Robinson, D. M., Butterworth, London vol. 5 (1977).
- PETKAU, A.: Effect of Na-22 on a phospholipid membrane *Health Phys.* **22**, 239 (1972).
- PETKAU, A. és CHELACK, W. S.: Radioprotection of *Acholeplasma Laidlawii* by cysteine *Int. J. Radiat. Biol.* **25**, 321 (1974a).
- PETKAU, A. és CHELACK, W. S.: Protection of *Acholeplasma Laidlawii* B by superoxide dismutase *Int. J. Radiat. Biol.* **26**, 421 (1974b).
- PETKAU, A.: Photochem. *Photobiol.* **28**, 765 (1978).

- RADTKE, H. E. és COON, M. J.: Role of cytochrome P-450 in lipid peroxidation and peroxidation dependent drug hydroxylation *Fed. Proc.* **33**, 588 (1974).
- RISKULOVA, S. T. és IVASHCHENKO, A. T.: Action of x-radiation on the activity of ATPase of plasma membranes and other subcellular liver fractions *Radiobiologiya* **16**, 652 (1976).
- SAKSONOV, N. P.: Influence of estradiol and hydrocortisone on the peroxidation of lipids of mitochondrial membranes of irradiated rat liver *Radiobiologiya* **18**, 262 (1978).
- SATO, C. és KOJIMA, K.: Changes in electrophoretic mobility of cultured cells after x-irradiation and their modification by SH-blocking agents and hemagglutinin *Radiat. Res.* **60**, 506 (1974).
- SATO, C. és KOJIMA, K.: Phytohemagglutinin-induced change in the distribution of acidic sugars in surface membrane of lymphoid cells and blocking of the radiation effect *Exp. Cell Res.* **98**, 90 (1976).
- SATO, C., KOJIMA, K., NISHIZAWA, K., SHIMIZU, S. és INOUE, M.: Small amount of concanavalin A modifies radiation-induced alteration in cell surface charge depending on its binding condition *Biochim. Biophys. Acta* **448**, 379 (1976).
- SATO, C., KOJIMA, K., NISHIZAWA, K.: Translocation of hyaluronic acid in cell surface of cultured mammalian cells after x-irradiation and its recovery by added ATP *Biochim. Biophys. Acta* **470**, 446 (1977a).
- SATO, C., KOJIMA, K. és NISHIZAWA, K.: Target of x-irradiation and dislocation of sialic acids in decrease of cell surface charge of erythrocytes *Radiat. Res.* **69**, 367 (1977b).
- SAXE, E.: The change of biological activity of membrane under roentgen radiation *Strahlenther.* **40**, 125 (1931).
- SCHWEIZER, K. és BENKŐ GY.: Az ionizáló sugárzás során felszabaduló aktív gyökök elleni természetes és gyógyszeres védekezés I. Orsz. Gyógyszerkut. Konf. Budapest (1980).
- SCHUTTE, H. és KONINGS, A. W. T.: Protective mechanism against radiation damage of lipids in biomembranes 14th Ann. Meeting of Europ. Soc. Radiat. Biol. Jülich (1978).
- SINGER, S. J. és NICOLSON, G. L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes *Science* **175**, 720 (1972).
- SINGH, B. B. és GOPAL-AYENGAR, A. R.: Radiation damage and repair at the molecular and cellular levels IV. Peaceful Uses of Atomic Energy, UN. Conf., UN és IAEA, Vienna (1972).
- SINGH, B. B.: The role of membranes in radiation damage in Biomembranes, szerk. Packer. L., Academic Press (1974).
- SOMOSY, Z., KUBASOVA, T. és KÖTELES, G. J.: Scanning electronmicroscopic appearance of x-irradiated human fibroblasts *J. Radiat. Biol.* (1982) előkészületben.
- STEIN, G., SEAMAN, G. V. F. és HEARD, D. H.: Action of low doses of ionizing radiations on the electrophoretic mobility of Ehrlich ascites tumour cells *Nature (Lond.)* **193**, 238 (1962).
- STONE, D., LIN, P. S. és KWOCK, L.: Radiosensitization of human erythrocytes by diethyldithiocarbamate *Int. J. Radiat. Biol.* **33**, 393 (1978).
- STRATFORD, I. J., MAUGHAN, R. L., MICHAEL, B. D. és TALLANTIRE, A.: The decay of potentially lethal oxygen-dependent damage in fully hydrated *B. megaterium* spores exposed to pulsed electron irradiation *Int. J. Radiat. Biol.* **32**, 447 (1977).
- STRAZHEVSKAYA, N. B. és STRUCHKOV, V. A.: Organization of supramolecular DNA complexes of the eucaryote chromatin and their role in the radiation effect *Radiobiologiya* **17**, 163 (1977).
- SUBJECK, J. R., HUI, S. W. és JOHNSON, R. J. R.: A quantitative electron microscopic assay for radiation damage of the cell's plasma membrane *Br. J. Cancer* **41**, suppl. IV, 159 (1980).
- SUNDARAM, H., PHONDKE, G. P. és SADARANGANI, S. H.: Low dose effects of x-rays on electrophoretic mobility of human erythrocytes in Biological Aspects of Radiation Protection, szerk. Sugahara, T. és Hug, O., Igaku Shoin, Tokyo (1971).
- WALLACH, D. F. H.: Radiation effects on biomembranes *Biomembranes* **5**, 213 (1974).
- WALTER, H., TUNG, R., KROB, E. J. és SWINGLE, K. F.: Membrane surface properties of red blood cells x-irradiated rats as measured by partition in two-polymer aqueous phase system *Radiat. Res.* **59**, 614 (1974).
- YONEI, S., TODO, T. és KATO, M.: Evidence for a change in the fluidity of erythrocyte membranes following x-irradiation by measurement of pyrene excimer fluorescence *Radiat. Res.* **80**, 484 (1979).
- ZAMBOGLOU, N., PORSCHEN, W., MÜHLENSIEPEN, H., BOOZ, J. és FEINENDEGEN, L. E.: Low dose effect of ionizing radiation on incorporation of iododeoxyuridine into bone marrow cells *Int. J. Radiat. Biol.* **39**, 83 (1981).
- ZERMENO, A. és COLE, A.: Radiosensitive structure of metaphase and interphase hamster cells as studied by low-voltage electron beam irradiation *Radiat. Res.* **39**, 669 (1969).